



Universidade de Cuiabá

**Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas
Área de Concentração Biociências**

DÉBORA PRADO MARTINS

**EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO ASSOCIADO AO ANTICONCEPCIONAL NA
PROGRESSÃO DA PERIODONTITE INDUZIDA EM RATAS LEWIS**

Cuiabá, 2013

DÉBORA PRADO MARTINS

**EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO ASSOCIADO AO ANTICONCEPCIONAL NA
PROGRESSÃO DA PERIODONTITE INDUZIDA EM RATAS LEWIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas Integradas, da Universidade de Cuiabá – UNIC, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Odontológicas Integradas, Área de Concentração Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo.

Cuiabá, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA
Catálogo na Fonte

M386a Martins, Débora Prado.
Efeito do estresse crônico associado ao anticoncepcional na progressão da periodontite induzida em ratas Lewis / Débora Prado Martins – Cuiabá: Universidade de Cuiabá - UNIC, 2013.
62 f. : il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas Integradas - área de concentração Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr^o Alex Semenov Segundo.

1. Odontologia. 2. Periodontite – doença inflamatória. 3. Ratas – Linhagem Lewis. 4. Inflamação das Gengivas. 5. Estresse - Destruição Periodontal. 6. Doença Periodontal. 7. Métodos Contraceptivos. I. Título. II. Martins, Débora Prado. III. Universidade de Cuiabá - UNIC.

CDU: 616.311.2-002

Bibliotecárias
Patrícia Jaeger / CRB1-1736
Valéria Oliveira dos Anjos / CRB1-1713

DÉBORA PRADO MARTINS

**EFEITO DO ESTRESSE CRÔNICO ASSOCIADO AO ANTICONCEPCIONAL NA
PROGRESSÃO DA PERIODONTITE INDUZIDA POR LIGADURA EM RATAS
LEWIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Odontológicas Integradas, da Universidade de Cuiabá – UNIC como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Odontológicas Integradas – Área de Concentração Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Alex Semenoff Segundo

Membro Titular: Prof. Dr. Carlos Heitor Moreira

Membro Titular: Prof^a. Dr^a. Tereza Aparecida Delle Vedove Semenoff

Cuiabá, 26 de março de 2013.

Conceito Final: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu maior professor, doutor, protetor e confessor... Sem Ele nada seria possível.

Jesus Cristo.

A minha mãe por ter sido um exemplo a ser seguido. Minha eterna admiração, a mulher mais forte que já conheci, a conduta sempre impecável, a honestidade acima de tudo, a beleza que deixou de herança para sua neta.

Ana Luiza Prado.
(in memoriam)

Ao homem amoroso, companheiro, sempre pronto para me ajudar em todos os momentos. Agradeço pelo estímulo de dizer para sempre ir em frente e realizar meus sonhos, pela compreensão, por estar comigo nos momentos bons e ruins de toda a nossa história, obrigada pela dedicação a mim por todos estes longos anos.

André Gonçalves

A minha linda bailarina que mesmo sem entender a ausência da mãe continua me amando, me transmitindo força e alegria. Agradeço a Deus todos os dias por você ser minha filha:

Rebeca Prado

Ao meu sonho mais lindo, personificado em um menino amoroso e esperto com o qual pretendo estar de mãos dadas por toda vida e responsável por eu ser a mãe mais feliz do mundo:

Luiz Otávio

A mulher encantadora, paciente e amável que desde sempre ofertou o seu conforto

em benefício ao meu, tornando-se a definição da mãe que um dia pretendo ser:

Irene Prado Gonçalves

A pessoa que cuidou de mim e dos meus amores durante minha ausência, com carinho e dedicação e sempre torceu pela minha conquista, que tenho como sogra:

Maria da Boa Nova Trigo Gonçalves

A amiga especial que faz parte da minha vida, que está sempre presente com incentivos e palavras sábias nos momentos de maiores dificuldades e pela nossa amizade incondicional, agradeço pelo companheirismo, confidências e pela parceria nesta conquista do nosso mestrado, meu carinho a:

Rafaelle Quevedo.

A todos que me apoiaram sempre e estiveram presente na minha vida:

Familiares, Amigos, Colegas e Professores.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Professor **Dr. Alex Semenoff Segundo** por suas orientações pela paciência, dedicação e pelo exemplo de educador. Assim como pelas palavras de incentivo e ajuda, além dos ensinamentos que levarei para vida toda. Parabéns por ser um sucesso, você merece.

A professora **Tereza** por ser um anjo acolhedor.

A todos os meus amigos do **Villa Borghese** que nunca deixaram de festejar comigo todas as conquistas e também o apoio nos momentos difíceis, ao tio **Marcelo** e tia **Grazi**, por serem amigos leais e prestativos.

À **Patrícia, Daniela, Celma** por serem amigas inigualáveis, de valor inestimável sempre alimentando meus sonhos de ser melhor, que torcem por mim mesmo de longe.

As amigas e companheiras do mestrado **Rafaelle e Hedilza** e todos os colegas que incentivaram e auxiliaram muito com palavras de incentivo e orientações nos momentos de desorientação, em especial a **Maria Sônia** pela sua alegria sempre.

Aos meus colegas em especial a minha coordenadora **Alessandra** que providenciou e proporcionou condições para enfrentar essa jornada e por ajudar nesse momento de apreensão sempre com uma palavra acolhedora.

A UNIC através do corpo gerencial da instituição, à Pró-Reitora Acadêmica **Simone Cristina de Castro Wojcicki e do Reitor Rui Fava**.

Ao coordenador do mestrado **Álvaro Henrique Borges** e ao Diretor de Pesquisa e Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade de Cuiabá - UNIC **Carlo Ralph De Musis**. E ao carinho e paciência das secretárias Auxiliadora e Cátia.

A **Adriane Rita Broto M. Santana** que incentivou e oportunizou acesso a esta pesquisa.

A **Fernandinha** pela determinação e a ajuda no laboratório.

A **Francisca** por ajudar na gramática, na elaboração das idéias com meu português ruim.

Uma visão sem ação é apenas um sonho
Uma ação sem visão é apenas um
passatempo
Mas uma visão com ação...
Pode mudar o mundo.
Joel Barker

RESUMO



RESUMO

DÉBORA, D. P. **Efeito do estresse crônico associado ao anticoncepcional na progressão da periodontite induzida por ligadura em ratas Lewis.** 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas, Universidade de Cuiabá-UNIC, Cuiabá, 2013.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do estresse crônico associado ou não ao anticoncepcional na progressão da periodontite induzida por ligadura em ratas da linhagem Lewis. Utilizaram-se 40 ratas divididas aleatoriamente em 5 grupos de 8 animais: anticoncepcional e periodontite (GA), estresse e periodontite (GS), grupo anticoncepcional, estresse e periodontite (GAS), grupo periodontite (GL) e grupo controle (GC). Iniciou-se o experimento com aferição do peso corpóreo de todos os grupos, em seguida os grupos GA e GAS realizou-se a administração do anticoncepcional Perlutan. No segundo dia todos os grupos com exceção o GC passaram pelo processo de indução de periodontite no segundo molar direito, o lado esquerdo serviu como controle. Os grupos GS e GAS foram induzidos ao estresse crônico por contenção física e frio no terceiro dia. O grupo controle não recebeu nenhum tipo de intervenção. Decorridos 60 dias, realizou-se a coleta de sangue dos hormônios cortisol e progesterona e depois da pesagem os animais procedeu-se a eutanásia por excesso de anestésico, sendo as peças removidas e após processamento laboratorial, realizaram-se a mensuração histométrica das imagens usando-se dois parâmetros: perda de inserção histológica (JCE-LP) e perda óssea (JCE-CO). Os resultados demonstraram em relação à JCE-LP que o GC obteve os menores resultados e com diferenças estatísticas comparado com os demais grupos. O GL diferenciou-se dos demais em uma posição intermediária de perda. Os demais grupos não se diferenciaram entre si. Para a variável JCE-CO, o GC teve as menores perdas com diferenças estatísticas comparadas aos demais grupos. O grupo que teve a maior destruição JCE-CO foi o GA, entretanto sem diferenças estatísticas comparadas GS e GAS. Com relação ao peso GC obteve o maior ganho de peso com diferença estatística entre os demais grupos com exceção do GL. Conclui-se que o efeito do estresse associado ao uso do anticoncepcional foi capaz de modificar o padrão de destruição do periodonto.

Palavras-chave: Anticoncepcionais. Estresse. Periodontite. Ratos.

ABSTRACT



ABSTRACT

DÉBORA, D. P. **Effect of chronic stress associated with a contraceptive agent on the progression of ligature-induced periodontitis in *Lewis* rats.** 2013. 62 p. Dissertation (Master's degree) – Post-graduation in Dental Sciences, University of Cuiabá – UNIC, Cuiabá, 2013.

The aim of the study was to evaluate the effect of chronic stress associated or not with a contraceptive agent on the progression of ligature-induced periodontitis in *Lewis* female rats. A total of 40 rats were randomly divided into five groups of eight, as follows: contraceptive and periodontitis (AG); stress and periodontitis (SG); stress, contraceptive and periodontitis (ASG); periodontitis (LG) and control (CG). Initially, the measurement of body weight was carried out in all groups, and then AG and ASG received the contraceptive agent Perlutan. On the second day, all groups excepting CG underwent induction of periodontitis in the second right molar, and the left side was used as control. On the third day, the groups SG and ASG were subjected to chronic stress by physical restraint and cold. The control group did not receive any intervention. After 60 days, the animals were weighted and euthanasia was carried out by an excess of anesthetic; the pieces were removed and underwent laboratory processing. Histometric measurement of the images was accomplished using the two following parameters: loss of histological attachment (CEJ-CJ) and bone loss (CEJ-BC). The results demonstrated that CG had the lowest values regarding CEJ-CJ with statistical differences when compared to the other groups. The LG group differed from the others in an intermediate loss position. The other groups did not differ among themselves. For the variable CEJ-BC, GC had the lowest loss values with statistical differences compared to the other groups. The group that had the greatest CEJ-BC destruction was AG, however with no statistical differences comparing to SG and ASG. With regard to the weight, CG had the highest weight gain with statistical differences in relation to the other groups, excepting LG. It is concluded that the effect of stress associated with the use of a contraceptive agent was able to modify the pattern of periodontal destruction.

Key-words: Contraceptive Agents. Stress. Periodontitis.Rats

UNIVERSIDADE DE CUIABÁ



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Avaliação da perda de inserção histológica (JCE-LP) e perda óssea histológica (JCE-CO) e os respectivos desvios padrões..... 455
- Tabela 2** - Refere-se às comparações do peso final em gramas entre os grupos envolvidos no estudo..... 466
- Tabela 3** - Refere-se ao hormônio progesterona coletado por ng/ml no sangue entre os grupos envolvidos no estudo..... 466
- Tabela 4** - Refere-se ao cortisol em µg/dl no sangue entre os grupos envolvidos no estudo..... 477



LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Delineamento do estudo.37
- Figura 2** - Figura ilustrativa do grupo controle (GC). 444
- Figura 3** - Distância entre a junção cimento esmalte no lado mesial do 2º molar e as fibras do ligamento periodontal (JCE-LP) e distância entre a junção cimento esmalte e a crista do osso alveolar (JCE-CO) 455



LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
AHO	Anticoncepcional Hormonal Oral
ANOVA	Análise de variância
CO	Crista Óssea
COC	Contraceptivo Oral Combinado
CRH	Corticotropina
DHPA	Acetato Diidroxiprogesterona
D	Direito
E	Esquerdo
EDTA	Ácido etileno diaminotretacético
E2EN	Enantato de Estradiol
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônios Gonodotróficos
GA	Grupo anticoncepcional e indução de periodontite
GS	Grupo estresse e indução de periodontite
GAS	Grupo anticoncepcional, estresse e indução de periodontite
GL	Grupo de indução de periodontite
GC	Grupo controle
HIF	Fator de Hipóxia Induzido
HPA	Hipotálamo-pituitário-adrenal
IL	Interleucina
IM	Intramuscular
JCE	Junção cimento esmalte
JCE LP	Perda de inserção histológica
JCE CO	Perda óssea histológica.
LH	Hormônio Luteinizante
LP	Ligamento Periodontal
MAC	Métodos Anticoncepcionais
mm	Milímetros
mg/dl	Miligramas por decilitro
ng/ml	Nanograma por mililitro
PI	Perda de Inserção
PMNL	Leucócitos Polimorfonucleares
PNDS	Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde
PVC	Policloreto de Polivinila
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
Th1	Células T Helper1
TH2	Células T Helper2
UBS	Unidades Básicas de Saúde
UNIC	Universidade de Cuiabá
µg/ml	Micrograma por mililitro
µm	Micrometro

SUMÁRIO



SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 MÉTODOS CONTRACEPTIVOS	24
2.2 AÇÕES DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS SOBRE OS TECIDOS PERIODONTAIS.....	24
2.3 AÇÃO DOS ANTICONCEPCIONAIS	27
2.4 AÇÃO DO PERLUTAN.....	28
2.5 AÇÃO DO ESTRESSE NA PERIODONTITE	30
3 OBJETIVO	35
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL.....	38
4.2 INDUÇÃO DE ESTRESSE	38
4.3 PROCEDIMENTOS HISTOLÓGICOS E ANÁLISE HISTOMÉTRICA	39
4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS	41
5 RESULTADOS	44
6 DISCUSSÃO	49
7 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	56
ANEXO	61



1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Esperava-se neste estudo que a associação entre estresse e anticoncepcional poder se ia agravar o quadro inflamatório obtido pela indução da periodontite.

As periodontites são doenças infectoinflamatórias causadas principalmente bactérias Gram-negativas anaeróbias ou microaerófilas, que colonizam a área subgengival e podem levar à destruição dos tecidos que suportam os dentes, ou seja, o tecido ósseo, o cemento e o ligamento periodontal ao longo do tempo. (BORRELL; TALIH, 2012).

Esses microrganismos organizados na forma de um biofilme ficam protegidos dos mecanismos de defesa do hospedeiro, além de serem de difícil erradicação através de antimicrobianos locais ou sistêmicos. Embora sejam responsáveis pelo início do processo, estes são insuficientes para determinar a progressão doença, sendo essencial a presença de um hospedeiro susceptível. (PAGE; KORNMAN, 1997; KORNMAN, 2008).

Os fatores frequentemente associados às periodontites são: idade (MINAYA-SÁNCHEZ, 2007), tabagismo (HO; CHANG, 2006; MINAYA-SÁNCHEZ et al., 2007; SHOJI et al., 2007; MAKINO et al., 2008, WANG et al., 2010) e diabetes. (BALKARAN, 2011; AWUTI et al., 2012). Outros fatores como estresse, depressão e ansiedade não foram confirmados como condições de riscos absolutos, mas identificados em uma relação de risco epidemiológico. (PERUZZO et al., 2008; HUANG et al., 2011, SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012).

O estresse está associado à destruição periodontal através de mecanismos comportamentais e fisiológicos que são capazes de modificar a resposta imunoinflamatória e susceptibilidade à infecção. O estresse psicológico aumenta a patologia periodontal por diminuir o metabolismo do oxigênio nos tecidos periodontais. Assim, existe evidência direta que a hipóxia do tecido periodontal pode contribuir para a patogênese da periodontite, fazendo com que tenha um aumento do crescimento de bactérias anaeróbicas associadas com a severidade da patologia periodontal, parecendo primário o papel das bactérias na iniciação da periodontite. (HUANG et al., 2011).

Um número razoável de estudos sugere que os hormônios sexuais tem um papel importante em doenças periodontais crônicas. Observa-se que a inflamação gengival e hiperplasia são frequentes durante a puberdade, gravidez e menstruação (ARMITAGE, 1999). A inflamação gengival também é comumente observada em mulheres que tomam contraceptivos orais. (McDONALD et al., 1997; MULLALLY et al., 2007; ROSSA JÚNIOR et al., 2009; BRUSCA et al., 2010; DOMINGUES et al., 2012). Os hormônios podem agir como um fator importante na resposta do tecido periodontal, modificando frente aos estímulos inflamatórios (LAPP et al., 2003; TILAKARATNE; SOORY, 2002) devido as alterações hormonais relacionadas as diferentes fases do ciclo reprodutivo da mulher. Os hormônios estrogênio e especialmente a progesterona possuem efeito modulador sobre a resposta inflamatória frente às agressões microbianas sofridas pelo hospedeiro, exercendo alguma influência sobre os tecidos gengivais clinicamente saudáveis, com um aumento dos sinais inflamatórios locais (ZUZA et al., 2010).

Os anticoncepcionais utilizam a associação de dois princípios ativos, a progesterona e o estrogênio, hormônios gestacionais sintéticos para estimular um estado de gravidez e prevenir a ovulação. Nos dias atuais, os anticoncepcionais consistem em baixas doses de estrógeno (0,05mg/dia) e progesterona (1,5mg/dia). (MARIOTTI, 1994). A presença de receptores do estrogênio e da progesterona na gengiva foi demonstrada em estudos sugerindo que este tecido é um órgão alvo para os mesmos. (HOSSEINI; TIRGARI; SHAIGAN, 2006).

Muitas pesquisas em humanos são impossíveis de se realizarem, nesse sentido existem evidências que animais podem ser utilizados como uma ferramenta para supor o futuro dos comportamentos de estresse, ansiedade e depressão em humanos (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012). Diferenças estruturais no córtex pré-frontal medial em linhagem de ratos Lewis consanguíneos são mais semelhantes na forma como modula a ansiedade e traça o comportamento humano. Esse modelo de roedor pode traduzir-se em um método para melhor prever a vulnerabilidade à ansiedade humana e transtornos de humor, sendo capaz de permitir o reconhecimento e tratamento dos indivíduos mais susceptível a doenças. (MILLER; MORRISON; McEWEN, 2012).

Sabe-se que ratos da linhagem Lewis têm um padrão neuroendócrinoimunológico específico em relação à periodontite (BREIVIK et al.,

2006). Neste estudo fez-se necessário a escolha de um animal que tenha um padrão não suscetível a periodontite para observar a hipótese do estudo, ou seja, o efeito do estresse associado ao uso do anticoncepcional e indução de periodontite por ligadura, como sendo capaz de interferir na progressão da periodontite, mesmo em um animal não suscetível. (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012).

Portanto, este estudo avaliou histometricamente o efeito do estresse crônico em ratas Lewis com ou sem o uso de anticoncepcional sobre a progressão da periodontite induzida por ligadura.



2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MÉTODOS CONTRACEPTIVOS

O Brasil, nas últimas décadas, passou por importantes transformações na estrutura e dinâmica da sua população, com a diminuição progressiva da mortalidade em geral e uma queda abrupta da taxa de fecundidade, que passou de 5,8 filhos por mulher em 1970, para 2,3 em 2000, trazendo a taxa de crescimento populacional para 1,4% ao ano, indicando um aumento do uso de Métodos Anticoncepcionais (MAC)(BRASIL, 2011).

Desde 1996, foi aprovada a Lei N° 9.263, que democratizou o acesso da população aos Métodos Anticoncepcionais nos serviços públicos de saúde. Vem se estabelecendo que a escolha do método seja realizada de forma livre e consciente por parte do homem, mulher e/ou casal, assim como regulamenta essa prática na rede privada, sob controle do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2002), que até então era realizada por agências internacionais interessadas em reduzir o crescimento populacional no país e no mundo (MANDÚ, 2002). Em 2006, a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS) identificou que 81,6% das mulheres fazem uso de algum MAC, entre elas 27,4% usavam Anticoncepcional Hormonal Oral (AHO), 25,9% Laqueadura Tubária, 13% fazem uso de Condom, 7% fazem uso de outros métodos, 5,1% esterilização masculina, 2,1% coito interrompido e 1% abstinência periódica (BRASIL, 2009). O predomínio do Anticoncepcional Hormonal Oral corresponde a sua oferta ser mais regular nas Unidades Básicas de Saúde (UBS), além de ter eficácia elevada, aceitabilidade e a facilidade de uso. (LEMOS et al., 2011).

2.2 AÇÕES DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS SOBRE OS TECIDOS PERIODONTAIS

Durante os diferentes estágios da vida, os hormônios sexuais, especialmente os femininos, exercem influência significativa nos tecidos periodontais, tanto sob as condições fisiológicas como não fisiológicas. Mudanças

nas condições periodontais estão associadas com variações dos níveis dos hormônios sexuais (ARMITAGE, 1999). Essa associação se torna evidente na descrição da classificação atual das doenças periodontais propostas pela Academia Americana de Periodontia, que inclui uma categoria de doenças associadas às condições hormonais; gengivite associada à puberdade, gengivite associada ao ciclo menstrual e gengivite gestacional, considerando a influência das desordens endócrinas na gengivite pelo biofilme dental e agravada por condições sistêmicas (PAGE; KORNMAN, 1997). Dentre as desordens endócrinas, destacam-se aquelas ocorridas não só durante a puberdade, gravidez e ciclo menstrual (ARMITAGE, 1999), como também o uso de contraceptivos orais, (DOMINGUES et al., 2012), pois estes utilizam hormônios gestacionais sintéticos, progesterona e estrógeno, para estimular um estado de gravidez e prevenir a ovulação (MARIOTTI, 1994). Receptores de estrógeno e progesterona foram localizados no tecido gengival; conseqüentemente, esses receptores permitem um maior acúmulo de hormônios no interior desse tecido. (HOSSEINI; TIRGARI; SHAIGAN, 2006).

Os efeitos do estrógeno sobre os tecidos periodontais fazem com que se tenha uma diminuição da queratinização e um aumento do glicogênio epitelial, que resulta na redução da efetividade da barreira epitelial. Alguns sintomas como sangramento, alterações de textura e cor gengivais podem ocorrer durante o ciclo menstrual, além de irritabilidade (71,9%), tensão pré-menstrual (50%), dificuldade de concentração (12,5%), depressão (15,6%), dentre outros, e podem ser explicados devido à possibilidade de redução nos neurotransmissores. (ZUZA et al., 2010).

A agressão causada por bactérias gram-negativas anaeróbias presentes no biofilme dental, na região do sulco gengival, leva a uma resposta inflamatória e imunológica nos tecidos periodontais, que pode influenciar e ser influenciada por condições sistêmicas dos pacientes. Pacientes com alterações hormonais foram avaliados em relação aos seus hábitos de higiene, os tipos bacterianos presentes no biofilme subgengival e a condição clínica inflamatória dos tecidos periodontais. Os pacientes avaliados não apresentaram diferenças quantitativas em relação ao biofilme dental. Porém, houve diferenças em relação à presença de sangramento gengival, e este foi associado tanto à presença com maior frequência do microrganismo *Prevotella intermédia*, como também a uma variação na resposta inflamatória tecidual influenciada pela condição hormonal presente. (NAKAGAWA et

al., 1994).

Outras bactérias específicas como o *Porphyromonas gingivalis* estão relacionadas às doenças periodontais. Um aumento desses tipos bacterianos Gram-negativos anaeróbios tem sido associado à pacientes com alterações hormonais (NAKAGAWA et al., 1994; BORCH et al., 2010). Essa condição está associada ao fato de esses tipos bacterianos terem a capacidade de utilizar como nutrientes o estrógeno e a progesterona, acumulados no tecido gengival e presentes no fluido gengival, de modo que os hormônios acabam por consistir em um fator de crescimento para eles. (NAKAGAWA et al., 1994).

A ação hormonal não favorece apenas o desenvolvimento de bactérias específicas para o início da doença periodontal, mas também, modifica o metabolismo tecidual em relação à resposta inflamatória e imunológica. Sua influência na microvascularização aumenta a permeabilidade vascular e a síntese de prostaglandinas, como também influencia a resposta de anticorpos a determinados microrganismos periodontais (NAKAGAWA et al., 1994). Os efeitos do estrogênio segundo estudos de Guncu, Tozum e Caglayan (2005) são:

- Diminui a queratinização, enquanto aumenta o glicogênio epitelial, resultando na diminuição da eficiência da barreira epitelial;
- Aumenta a proliferação celular nos vasos sanguíneos;
- Estimula a fagocitose de leucócitos polimorfonucleares;
- Inibe a quimiotaxia dos PMNL;
- Suprime a produção de leucócitos a partir da medula;
- Inibe a citocinas pró-inflamatórias liberadas pelas células da medula humana;
- Reduz as células T;
- Estimula a proliferação do fibroblasto gengival;
- Estimula a síntese e maturação do tecido conjuntivo gengival;
- Aumenta a quantidade de inflamação gengival, sem qualquer aumento de plaquetas.

E os efeitos da progesterona no tecido periodontal são:

- Aumenta a dilatação vascular, portanto, aumenta permeabilidade;
- Aumenta a produção de prostaglandinas;
- Aumenta E2 PMNL e prostaglandina no fluido gengival;
- Inibe a proliferação de fibroblastos gengivais humanos;
- Altera a taxa e o padrão de produção de colágeno na gengiva resultante na reparação e manutenção potencial reduzida;
- Aumenta a degradação metabólica do ácido fólico que é necessário para a manutenção e reparação do tecido.

Entretanto, mais pesquisas são necessárias para aumentar o entendimento da influência hormonal nos tecidos periodontais (GÜNCÜ; TÖZÜM; CAGLAYAN, 2005).

2.3 AÇÃO DOS ANTICONCEPCIONAIS

Métodos contraceptivos utilizam hormônios gestacionais sintéticos, progesterona e estrógeno, para estimular um estado de gravidez e prevenir a ovulação (MARIOTTI, 1994). Portanto, os efeitos desses hormônios nos tecidos periodontais são semelhantes aos apresentados durante a gestação (TILAKARATNE; SOORY, 1999), através de um processo de retroação negativa ou *feedback* negativo da progesterona, onde se tem a diminuição da liberação de hormônios gonadotróficos (GnRH) pelo hipotálamo, causando a liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e uma brusca redução na liberação de hormônio luteinizante (LH) pela glândula pituitária anterior. Níveis reduzidos de FSH inibem o desenvolvimento folicular, prevenindo um aumento nos níveis de estradiol. Sendo assim, será observado um *feedback* negativo da progesterona e a falta do *feedback* positivo do estrogênio interferindo na liberação de LH, impedindo que o hormônio atinja o pico de concentração necessária para ocorrer a ovulação.

Em um ciclo menstrual normal a menstruação ocorre quando os níveis de estrogênio e progesterona sofrem uma queda brusca e rápida. Ocorrido o período de

interrupção do anticoncepcional, se tem a menstruação, pois esse efeito causa a descamação parcial do endométrio (ERKKOLA, 2007). Os contraceptivos orais atuais consistem em baixas doses de estrogênio (MARIOTTI, 1994), nesse sentido as mulheres que fazem uso de anticoncepcionais tem maior profundidade de sondagem e perda de inserção, com maior tendência de apresentar maior índice de biofilme dental e sangramento gengival (MULLALLY et al., 2007).

Usuárias de contraceptivos apresentaram um nível significativamente maior de inflamação gengival, comparadas com não usuárias, apesar de apresentarem condições de higiene similares. Usuárias de contraceptivos (injeções com 150 mg de progesterona a cada 3 meses, resultam em uma dose diária de progesterona de 1,6 mg), por 2 a 4 anos apresentam uma Perda de Inserção (PI) significativamente maior quando comparadas ao grupo de não usuárias. Essa PI significativa pode ser atribuída ao catabolismo tecidual produzido por esse hormônio (TILAKARATNE; SOORY, 1999).

Contraceptivos orais combinados, disponíveis atualmente no mercado, podem influenciar a condição periodontal das pacientes após o uso contínuo por mais de 12 meses, independentemente do controle de biofilme dental e da idade, resultando em aumento da profundidade de sondagem e do sangramento gengival e ligeiro aumento da PI (DOMINGUES et al., 2012). É importante notar que o aumento nos níveis hormonais como na gravidez, puberdade e ciclo menstrual ocorrem em períodos de tempo relativamente curtos, e, embora isso possa resultar em gengivite apenas, um aumento no risco para periodontite não pode ser ignorado (KINANE, 1999), ainda mais que as manifestações bucais mais comuns devido ao uso de contraceptivos orais têm sido relacionadas ao tempo de uso da medicação. Essas manifestações estão relacionadas ao aumento do exsudato inflamatório, edema, sangramento e hiperplasia gengival. (OTOMO-CORGEL; STEINBERG, 2002).

2.4 AÇÃO DO PERLUTAN

Perlutan é um contraceptivo hormonal injetável, sendo sua solução oleosa para uso em dose única mensal, administrada por via intramuscular. É distribuído no tecido adiposo, ocorrendo lenta liberação, assegurando seu efeito por todo o mês, e

está indicado como anticoncepcional, podendo ser utilizado também no controle das irregularidades menstruais e como medicação supletiva de estrogênio e progesterona. Esse contraceptivo tem a associação de dois princípios ativos: um gestágeno (acetofenido de diidroxiprogesterona, DHPA) e um estrogênio (enantato de estradiol, E2EN).

Perlutan provém de um estrogênio natural (estradiol), ao contrário dos estrogênios sintéticos utilizados em contraceptivos orais combinados (COCs). Por ser fisiológico, tem curto tempo de ação e é menos potente que os estrogênios sintéticos (COCs).

A dose do gestágeno (DHPA 150 mg) confere ao Perlutan o seu principal mecanismo de ação anticoncepcional: o efeito anovulatório por supressão da secreção de gonadotrofinas hipofisárias. Os efeitos gestágenos acessórios (modificação do muco cervical, alterações endometriais e da motilidade tubária desfavoráveis à passagem e à capacidade do espermatozóide em promover a fecundação e a nidação) reasseguram a sua eficácia anticoncepcional.

A dose do estrógeno (E2EN 10 mg) assegura padrões de sangramento e desenvolvimento endometrial cíclico e previsível, de características semelhantes às de uma menstruação normal. A presença de um estrógeno no produto corresponde às tendências mais modernas em anticoncepção injetável, tendo aceitação significativamente maior que os preparados que contêm exclusivamente gestágenos.

A proporção posológica entre DHPA e E2EN (150 mg : 10 mg) foi selecionada em estudos comparativos por seu adequado balanço entre eficácia e tolerabilidade. Ao comparar essa posologia com a dos anticoncepcionais orais, deve-se ter em mente que os componentes de Perlutan não são derivados sintéticos tão potentes como os utilizados por via oral em microgramas, mas sim derivados diretos dos hormônios naturais do organismo que, para produzir efeitos similares, são aplicados por via parenteral, em miligramas.

O pico sérico de estradiol ocorre depois de 3 dias da aplicação e tem uma meia-vida de 5,57 dias. Os metabólitos, ácido glucurônico e conjugados metabólicos de ácido sulfúrico, são eliminados primariamente na urina.

A meia-vida da diidroxiprogesterona e dos seus metabólitos é de 24 dias. Após a administração, o efeito hormonal persiste durante todo o ciclo menstrual. A

excreção se dá basicamente pelas fezes.

Estudos de toxicidade de dose única, realizados em diferentes espécies de animais, falharam ao demonstrar a DL50 por via intramuscular, devido à ausência de óbitos, mesmo usando-se a dose máxima provável em cada espécie.

Soluções oleosas de DHPA e E2EN foram aplicadas via intramuscular (i.m.) na proporção de 15:1.

Os valores de DL50 obtidos foram:

150 mg + 10 mg / 1 ml/kg em ratos,

375 mg + 25 mg / 2,5 ml/kg em camundongos,

750 mg + 50 mg / 5 ml/kg em coelhos.

O único sinal tóxico foi uma discreta sedação ocorrida logo após a administração e que desapareceu em 1 a 2 dias. Nenhuma intolerância local foi descrita. Depois de 14 dias pode-se observar hipotrofia ovariana e testicular, bem como dilatação e congestão uterina, considerados efeitos farmacológicos e não toxicológicos do produto.

Estudos de toxicidade repetidos mostraram que o ciclo menstrual é abolido nas fêmeas e a espermatogênese nos machos. Em ratas, doses maiores que DHPA 30 mg + E2EN 2 mg por kg de peso corpóreo, correlacionam-se com atrofia ovariana e dilatação severa e, às vezes, com infecção uterina.

Pacientes com antecedentes de depressão psíquica devem ser cuidadosamente observadas e o uso do medicamento ser descontinuado se a depressão reaparecer em grau importante (PERLUTAN, 2012). Procurar mais referências.

2.5 AÇÃO DO ESTRESSE NA PERIODONTITE

Na doença periodontal, o estresse entra como um fator ambiental, conduzindo a modificação do padrão de resposta aos microrganismos (PAGE; KORMAN, 1997). Acredita-se que o mecanismo que conduz a essa progressão da periodontite está associada às mudanças e estímulos no eixo hipotálamo-pituitário-

adrenal (HPA) que o estresse é capaz de conduzir, interferindo e modificando o sistema de defesa, sendo capaz de gerar maior estímulo da glândula adrenal e, por consequência, maior quantidade de cortisol e adrenalina, que modificaria o padrão de resposta imunológica no periodonto, conduzindo à progressão de doença periodontal (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007).

Essa resposta imunológica pode seguir dois padrões, sendo o primeiro que diminui a perda de inserção, onde se observa uma tendência protetora gerada por estresse de baixa intensidade (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007; BREIVIK et al., 2006), o segundo padrão de resposta é o estresse que conduz a uma maior progressão de periodontite (GASPERSIC; STIBLAR-MARTINCIC; SKALERIC, 2002).

Esse mecanismo pode ocorrer pela contribuição do cortisol que ajuda a regular a resposta inflamatória e a atividade linfocitária. Ocorrida a elevação do mesmo, por um curto período de tempo, há uma redução da inflamação através da imunoestimulação. Entretanto, persistindo os altos níveis por maiores períodos de tempo, o cortisol perde a habilidade de inibir a resposta inflamatória, influenciando diretamente na progressão da periodontite (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007).

O Cortisol é um hormônio corticosteróide da família dos esteróides, sendo o principal hormônio produzido pelo córtex supra-renal, cuja produção de cortisol se dá a partir de um estímulo estressante (estímulo físico ou emocional) no Sistema Nervoso Central (SNC), desencadeando impulsos elétricos e químicos que transmite impulsos nervosos ao hipotálamo. Este, por sua vez, libera o fator liberador de corticotropina (CRH), que chega a hipófise, cujas células secretam hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e adrenalina que flui pelo sangue até o córtex supra-renal, estimulando a síntese de cortisol, capaz de interagir em órgãos endócrinos, como as glândulas adrenais, e em células imuno-inflamatórias específicas; estas desregulam a função imunológica e direcionam as respostas de defesa tecidual, como células T-auxiliares importantes na etiopatogenia da doença periodontal. Os glicocorticoides estimulam e excitam as células T Helper 1 (Th1) e células T helper 2 (Th2). As células Th1 são produtoras da resposta celular e estimulam macrófagos e as células Th2 são produtoras da resposta humoral através dos plasmócitos, que posteriormente estimulam os neutrófilos (BREIVIK et al., 2006). Ambas, em desequilíbrio, determinam respectivamente, maior e menor progressão de

periodontite. Quando os estímulos são das células Th 1, há menor destruição do periodonto, e quando as células Th2 são estimuladas, ativam vários componentes, dentre eles, as metaloproteinases, capazes de destruírem o periodonto (GASPERSIC; STIBLAR-MARTINCIC; SKALERIC, 2002; BREIVIK et al., 2006; SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007), promovendo aumento na produção de interleucinas-4 (IL-4) e diminuição de interleucinas-2 (IL-2), parecendo haver um domínio da resposta mediada por anticorpos Th2 em determinados momentos, acarretando maior dano tecidual pela sua especificidade, efetividade e tempo de atuação dessa resposta (AYUB et al., 2010).

Outra hipótese é que a periodontite se agrava porque ocorre hipóxia nos tecidos periodontais o que pode aumentar o crescimento de bactérias anaeróbicas presentes no biofilme, bactérias frequentemente associadas com patologia periodontal, afetando as estruturas de suporte do dente, conduzindo à sua destruição progressiva.

Os Fatores de Hipóxia Induzido (HIFs), constituídos por subunidades HIF-a e HIF-b que regulam os processos biológicos facilitando tanto o fornecimento de oxigênio ou a adaptação celular à privação do oxigênio, através da regulação de produtos e de genes envolvidos no metabolismo celular energético e transporte de glicose, a angiogênese, eritropoiese o metabolismo do ferro, a regulação do pH, a apoptose e a proliferação celular. Assim, o estresse psicológico aumenta a severidade da patologia periodontal por interferir no metabolismo do oxigênio nos tecidos periodontais, indicando que a hipóxia tecidual ocorre não somente sob as condições patológicas, mas é também um importante fator ambiental para o desenvolvimento embrionário (HUANG et al., 2011).

Ainda que existam várias hipóteses e divergências nos estudos sobre a interpretação da resposta periodontal ao estresse, uma questão está bem definida: que o estresse por si só não resulta em doença periodontal, mas pode modular os processos fisiopatológicos da inflamação periodontal já presente, resultando em degradação acelerada dos tecidos periodontais (GASPERSIC; STIBLAR-MARTINCIC; SKALERIC, 2002).

Compreender o efeito desses diferentes modelos de estresse no periodonto, usando ratos para os estudos, pode, não somente auxiliar na

compreensão dos eventos biológicos, mas também gerar informações para futuros estudos em seres humanos (BREIVIK et al., 2006).

ESTADO DE CUIABÁ



3 OBJETIVO

3 OBJETIVO

Avaliar histométicamente o efeito do estresse crônico associado ou não ao anticoncepcional na progressão da periodontite induzida por ligadura em ratas da linhagem Lewis.



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi aprovado e registrado pelo comitê de ética em pesquisa animal, com Registro: n° 011, CEP/UNIC/2009, protocolo: n°0307-319.

Para o presente experimento foram selecionadas 40 ratas adultas da espécie *Rattus Novergicus* da linhagem Lewis, com peso inicial médio de $196,622 \pm 19,98$ gramas. As mesmas passaram por uma adaptação ao novo ambiente durante quatro semanas. Os animais mantiveram-se em caixas moradia (polietileno 16x40x30) em número de cinco, com ração padronizada e água *ad libitum*, sob ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura controlada a 23° C e umidade $\pm 40\%$.

Inicialmente os animais foram divididos de forma aleatória (por auxiliar técnico) em cinco grupos experimentais, descritos a seguir:

- 1- Grupo GA: anticoncepcional + indução de periodontite (n=8).
- 2- Grupo GS: estresse + indução de periodontite (n=8).
- 3- Grupo GAS: anticoncepcional + estresse + indução de periodontite (n=8).
- 4- Grupo GL: indução de periodontite (n=8).
- 5- Grupo GC: controle (n=8).

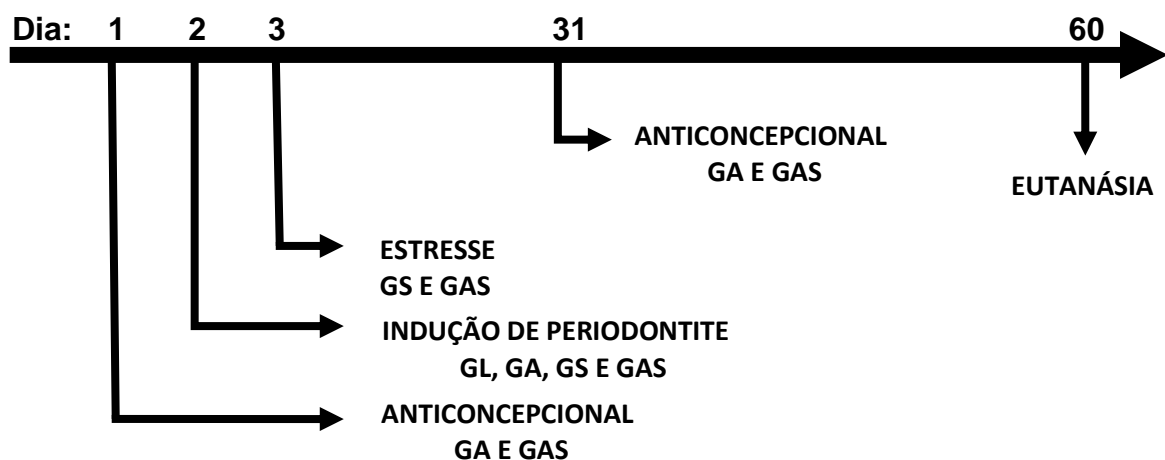


Figura 1 - Delineamento do estudo.

No dia 1 do experimento os animais GA e GAS foram submetidos à administração intramuscular de 0,1ml de Perlutan (acetofenido de algestona e enantato de estradiol, 150/10mg, Boehringer Ingelheim, Itapeverica da Serra, SP, Brasil), repetindo-se o procedimento no 31º dia do ensaio.

No dia seguinte da administração do medicamento anticoncepcional, os animais do grupo GA, GS, GL e GAS passaram pelo processo de indução de doença periodontal experimental (descrito no item 4.1 deste trabalho). Em relação ao estresse crônico, submeteram-se os animais GS e GAS, a contenção física por 4 horas diárias, seis vezes por semana, durante 60 dias, iniciado no dia seguinte da indução da periodontite.

Finalmente, o GC não recebeu nenhum tipo de intervenção, porém foi mantido no mesmo ambiente dos demais grupos.

4.1 DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL

Para o procedimento de indução da doença periodontal, todos os animais, exceto o grupo controle (GC), receberam anestesia, através da administração intramuscular de 0,1 ml de cloridrato de quetamina 50mg/ml (DOPALEN, Agribrands. Saúde Animal, Paulínea, SP, Brasil, 2011), associado a 0,05 ml de cloridrato de xylazina – 2 gramas por cada 100ml - (ROPUM, Bayer. Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil, 1970), para cada 100 gramas de peso corporal.

Após anestesia, foi acondicionado um fio de sutura de seda estéril número 4 (ETHICON, Johnson e Johnson, São Paulo, Brasil) em volta do segundo molar superior direito, sendo que no maxilar esquerdo nada foi realizado sendo usado como controle sem indução de doença (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007).

4.2 INDUÇÃO DE ESTRESSE

O modelo de submissão ao estresse crônico físico (GS e GAS) foi imobilização e imobilização associada à exposição ao frio. Os animais foram

aconicionados em tubos de policloreto de polivinila (PVC), compatíveis com seu tamanho e, posteriormente, interrompeu-se a passagem de ambos os lados com fio metálico, de forma a possibilitar a respiração dos animais que permaneceram imobilizados por 4 horas, alternando-se as temperaturas de 7°C e 25°C durante 60 dias.

4.3 AMOSTRAGEM DE SANGUE

Após 60 dias de experimento, os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de 0,1 ml de cloridrato de cetamina (Dopalen, Agribrands. Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil), associado com 0,05 ml de cloridrato de cetamina (Rompun, Bayer. Saúde Animal, São Paulo, SP. Brasil) por 100 g de peso corporal. após a administração da anestesia, a pele da parede abdominal foram seccionadas na base do abdômen, na diagonal, formando um "V". Após o deslocamento da pele, o acesso à cavidade abdominal foi obtida. Os órgãos internos foram deslocados para permitir a visualização da veia cava posterior. O sangue foi colhido por punção da veia cava com agulha 25x7 (Vacutainer - Becton Dickinson, Plymouth, UK) num tubo de 5 mL com o anticoagulante EDTA. A amostra foi homogeneizada cuidadosamente.

4.4 PROCESSAMENTO HEMATOLÓGICO

Os parâmetros hematológicos analisados foram dos hormônios cortisol e progesterona. Os equipamentos utilizados : Analisador automatico de Hormônios modelo Cobas E 411 de marca Roche. Equipamento fechado onde foi utilizado reagentes da marca Roche. Todos os reagentes de marca roche tem um código de barras o qual o equipamento faz a leitura através de leitor de códigos de barras e se o reagente estiver fora do prazo de validade o equipamento invalida na hora o kit e as dosagens não são realizadas.

Metodologia: Eletroquimioluminescencia consiste num processo de reações químicas que geram luminescência a partir de um estímulo elétrico em soluções. Considerada padrão ouro em dosagens hormonais.

Os dados foram coletados por dois examinadores treinados que eram cegos em relação aos grupos experimentais.

É importante resaltar que durante o procedimento dos hormônios cortisol e progesterona houve descaracterização de algumas das amostras devido ao transporte. Desta forma algumas tiveram os resultados alterados, as mesmas foram desconsideradas diminuindo o Power do estudo.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Estatística descritiva, ANOVA one-way e teste post-hoc de Bonferroni foram utilizados para a análise estatística dos dados. O erro alfa foi estabelecido em 5% para todas as análises.

4.4 PROCEDIMENTOS HISTOLÓGICOS E ANÁLISE HISTOMÉTRICA

Após a coleta de sangue procedeu-se a eutanásia dos animais por excesso de anestésico, sendo as peças removidas, contendo as hemimaxilas direitas e esquerdas, as quais foram fixadas em formol a 10% por 48 horas. Em seguida, os espécimes foram descalcificados em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) por um período aproximado de cinco semanas (totalizando seis trocas), sendo lavadas, desidratadas, diafanizadas e incluídas em parafina. Os blocos foram incluídos em parafina permitiram cortes histológicos seguindo o longo eixo dos dentes no sentido mesio-distal. Os cortes, com espessura de 6 μ m, foram corados com hematoxilina de Haris e eosina alcoólica e montados.

Para análise, foram selecionadas dez lâminas seriadas, nas quais

necessariamente deveriam ser observados o 1° e 2° molares superiores direito D e esquerdo E, e as seguintes estruturas (SEMENOFF et al., 2009):

- a) polpa coronária,
- b) polpa radicular,
- c) junção cimento esmalte na face mesial do segundo molar,
- d) crista óssea interproximal,
- e) inserção conjuntiva.

A histometria foi realizada através da captação das imagens, e mensurada em mm, utilizando-se o software ImageLab 2000 (Dracon Bio Informática Ltda., Vargem Grande do Sul, SP, Brasil).

O pesquisador estava calibrado em relação às análises realizadas e desconhecia os grupos analisados (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012). Para isso, a pedido dos pesquisadores, um profissional de fora da pesquisa codificou as lâminas a serem analisadas.

4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

O parâmetro da análise histométrica foi a distância em milímetros (mm) entre a junção cimento esmalte na face mesial do segundo molar superior direito (D) e esquerdo (E) e a porção mais coronária do epitélio juncional. Esse parâmetro foi estabelecido como perda de inserção histológica (JCE-LP). Analisou-se, também, a distância em mm entre a junção cimento esmalte e a crista óssea alveolar a qual foi considerada como indicador de perda óssea histológica (JCE-CO).

Compararam-se o parâmetro peso corporal através das médias do peso final entre os grupos.

Foram utilizados os testes estatísticos ANOVA (análise de variância) de uma via com análise Pós-Hoc o teste de Tuckey. O erro alfa estabelecido para essa análise foi de 5%.

O cálculo da amostra foi realizado a partir de estudos sobre periodontite induzida por ligadura e estresse crônico, o qual, de forma geral a estimativa para

diferença escolhida foi de 0,3mm e um desvio padrão de 0,2mm. Para o cálculo optou-se por um poder de 0,8 (80%), e um nível de significância de 5%. A partir da utilização de um monograma com os dados da estimativa de poder, desvio padrão e média de perda histológica significativa chegaram-se a amostra aproximada utilizada no trabalho (ALTMAN, 1982). Importante faz-se esclarecer que durante a submissão do projeto de pesquisa sobre o tema o Comitê de Ética e Pesquisa exigiu que a amostra fosse com o mínimo de animais possíveis, o qual neste sentido foi escolhido a força do estudo em 80% de Power para ser aceito.



5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Com relação a perda de inserção histológica (JCE-LP) diferenças estatisticamente significantes foram observadas entre os grupos. No grupo controle foi observado ausência de perda de inserção. O grupo ligadura a perda de inserção observada foi estatisticamente significante de todos os demais grupos. Os grupos GAS, GS e GA apresentam as maiores perdas de inserção sem diferenças estatisticamente significantes entre eles ($p < 0,05$) (tabela1).

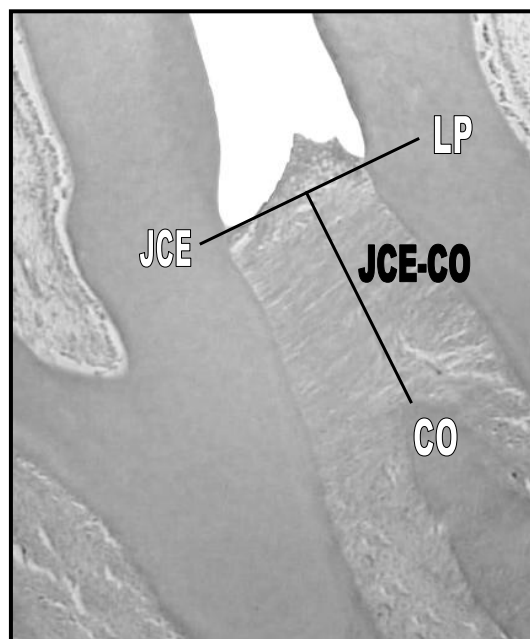


Figura 2 - Figura ilustrativa do grupo controle (GC).

Para a variável perda óssea (JCE-CO), o grupo controle demonstrou a semelhança da perda de inserção histológica, que teve as menores perdas de tecido ósseo com diferenças estatisticamente significantes comparadas aos demais grupos ($p < 0,05$). O grupo ligadura (GL) e o grupo anticoncepcional associado ao estresse (GAS) tiveram uma maior destruição de tecido comparado com o grupo controle ($p < 0,05$); contudo, estes grupos não tiveram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$). O grupo que teve a maior destruição de tecido ósseo foi o grupo anticoncepcional (GA), entretanto sem diferenças estatísticas comparadas aos grupos estresse (GS) e anticoncepcional associado ao estresse (GAS) ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Avaliação histológica (média e desvio padrão) Perda de inserção histológica (JCE-LP) e perda óssea histológica (JCE-CO) (n=8)

GRUPO	JCE-LP	JCE-CO
GAS	0,64 ± 0,20A	0,98 ± 0,10AB
GS	0,76 ± 0,17A	1,06 ± 0,30 A
GA	0,65 ± 0,22A	1,10 ± 0,24A
GL	0,26 ± 0,10B	0,68 ± 0,25B
GC	0,0 ± 0,0C	0,27 ± 0,01C

GAS - Anticoncepcional+Stress+Periodontite; GS - Estresse+Periodontite; GA- Grupo Anticoncepcional+Periodontite; GL - Grupo Ligadura (Periodontite); GC - Grupo Controle. Letras diferentes em linha demonstram diferenças estatísticas entre os grupos, Anova e Tuckey ($p < 0,05$).

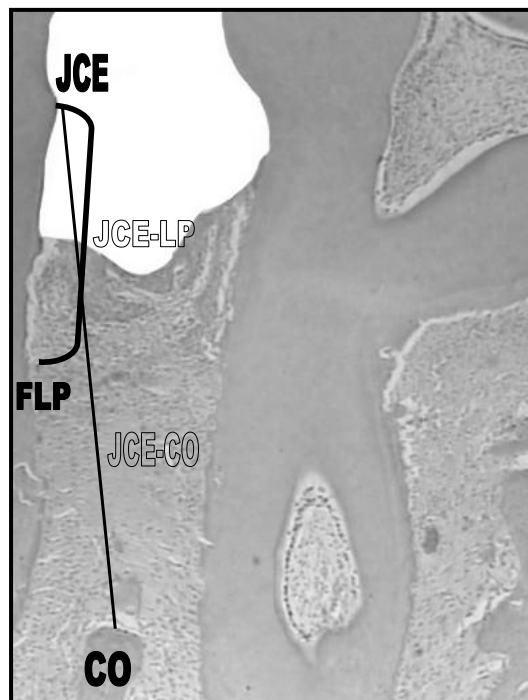


Figura 3 – Distância entre a junção cimento esmalte no lado mesial do 2º molar e as fibras do ligamento periodontal (JCE-LP) e distância entre a junção cimento esmalte e a crista do osso alveolar (JCE-CO).

O peso dos animais demonstra que o GC obteve o maior ganho de massa corporal de todos os grupos ($p < 0,05$), exceção GL. O GL foi o segundo grupo com maior peso, entretanto, sem diferenças estatísticas comparado com o GAS ($p > 0,05$). O GAS, GA e o GS não tiveram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Refere-se às comparações do peso final em gramas entre os grupos envolvidos no estudo.

Grupos	N	Média	DP
GAS	8	259,62 AB	74,27
GS	8	257,01 A	93,06
GA	8	251,37 A	78,74
GL	8	278,25 BC	75,80
GC	8	289,12 C	87,83

GAS - Anticoncepcional+Stress+Periodontite; GS – Estresse+Periodontite; GA- Grupo Anticoncepcional+Periodontite; GL – Grupo Ligadura (Periodontite); GC – Grupo Controle. Letras diferentes em linha demonstram diferenças estatísticas entre os grupos, Anova e Tuckey ($p < 0,05$).

Os achados do hormônio progesterona no sangue demonstrou diferenças estatísticas do GC e GL em relação ao GAS ($p < 0,05$), comparado aos demais grupos não houve diferenças ($p > 0,05$). Os grupos GAS, GS e GA não tiveram diferenças estatísticas entre si, assim como os grupos GS, GA, GL e GC ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Refere-se ao hormônio progesterona coletado por ng/ml no sangue entre os grupos envolvidos no estudo.

Grupos	N	Média	DP
GAS	5	27,02 B	18,56
GS	6	13,86 AB	6,63
GA	6	25,55 AB	17,53
GL	5	6,49 A	2,91
GC	7	5,42 A	3,76

GAS - Anticoncepcional+Stress+Periodontite; GS – Estresse+Periodontite; GA- Grupo Anticoncepcional+Periodontite; GL – Grupo Ligadura (Periodontite); GC – Grupo Controle. Letras diferentes em linha demonstram diferenças estatísticas entre os grupos, Anova e Tuckey ($p < 0,05$).

Referente ao cortisol plasmático o GS demonstrou o maior resultado, tendo diferença estatísticas comparado aos demais ($p < 0,05$). O grupo GAS tem a segunda maior quantidade de cortisol, porém sem diferença estatística comparado com o GA, mas com diferença estatística com os demais grupos. Os grupos GL e GC tiveram a menor quantidade de cortisona no sangue, mas sem diferenças estatísticas entre eles, porém com diferenças comparados aos grupos GAS, GS e GA ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Refere-se ao cortisol em $\mu\text{g/dl}$ no sangue entre os grupos envolvidos no estudo.

Grupos	N	Média	DP
GAS	7	3,05 B	1,61
GS	6	4,11 C	1,57
GA	6	2,61 B	0,70
GL	6	1,83 A	1,25
GC	5	1,00 A	0,54

GAS - Anticoncepcional+Stress+Periodontite; GS - Estresse+Periodontite; GA- Grupo Anticoncepcional+Periodontite; GL - Grupo Ligadura (Periodontite); GC - Grupo Controle. Letras diferentes em linha demonstram diferenças estatísticas entre os grupos, Anova e Tuckey ($p < 0,05$).

ESTADO DE CUIABÁ



6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar histometricamente o uso de anticoncepcional associado ou não ao estresse crônico sobre a progressão da periodontite induzida por ligadura em ratas da linhagem Lewis. Os resultados obtidos sugerem que o efeito do estresse associado ao uso do anticoncepcional foi capaz de modificar o padrão de destruição do periodonto em ratas. O grupo que teve a maior destruição de tecido ósseo foi o grupo anticoncepcional, entretanto sem diferenças estatisticamente significantes quando comparadas aos grupos estresse e anticoncepcional associado ao estresse.

Alguns estudos demonstram que medicamentos exacerbam a resposta inflamatória dos tecidos periodontais diante do biofilme dental, incluindo os anticoncepcionais à base de hormônios como o utilizado neste estudo. (MULLALLY et al., 2007; BRUSCA et al., 2010; DOMINGUES et al., 2012).

Os resultados deste trabalho assemelham-se a resultados de diversas evidências clínicas que se apresentam na literatura com estudos em humanos. Dentre elas três se destacam. Em estudo, avaliando a saúde periodontal de cinquenta mulheres com idade entre 20 a 35 anos foi observado piores indicadores de saúde periodontal no grupo que faziam uso de anticoncepcionais hormonais (MULLALLY et al., 2007); na mesma linha de pesquisa, entretanto com uma amostra de noventa e duas mulheres, com idade entre 19 a 40 anos foi percebido condições severas de periodontite nas que utilizavam o hormônio, além disso, o estudo realizou análises microbiológicas com achados da presença dos microrganismos periodontopatógenos, *Prevotella intermédia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e diversos tipos de *Candida Albicans* nas usuárias do anticoncepcional (BRUSCA et al., 2010). Outro trabalho recente (DOMINGUES et al., 2012) com amostra de 50 mulheres que usaram anticoncepcional, apresentaram piora nos indicadores de saúde periodontal. Assim, parece que os resultados encontrados em relação ao uso da medicação e destruição periodontal estão relacionados.

A ação dos hormônios estrogênio e progesterona que compõem esses anticoncepcionais podem ser tanto auxiliar na reparação tecidual como retardar a

mesma. Observa-se que o estradiol, uma variação do estrogênio, pode contribuir para melhorar as atividades sintéticas na reparação tecidual, enquanto a progesterona pode ser antagônica e anular estes efeitos, de acordo com as suas funções catabólicas. Considera-se esta lógica a partir da concentração destes hormônios (TILAKARATNE; SOORY, 2002).

A ação da progesterona no processo inflamatório pode inibir a produção de algumas das matrizes metaloproteinases (MMPs) produzidas em resposta a IL-1, que são colaboradoras na destruição periodontal (LAPP et al., 2003). Em uma pesquisa em humanos foi observado mulheres nos diferentes ciclos ovulatórios que se relaciona a ação da progesterona. Na análise da saúde periodontal destes ciclos foi observado piora ou melhora conforme o tempo de ovulação (ZUZA et al., 2010). Observado os resultados deste trabalho, tanto histométrico, como da progesterona no sangue, parece que contribuiu para uma piora da periodontite induzida. Apesar disto existem evidências que demonstram ausências de diferenças nos resultados apesar do uso destes anticoncepcionais (EKLUND, 2005; SANTOS et al., 2008).

Neste estudo usando análise histométrica foi constatado que o estresse crônico físico associado com a periodontite demonstrou maior perda óssea em relação aos grupos ligadura e controle. Os mesmos resultados, também em ratos, foram encontrados em outros trabalhos com análise radiográfica e histológica, mesmo por um período menor de tempo (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2010; SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012).

Acredita-se que a associação do estresse e a da periodontite induzida por ligadura ocorra pela ausência de oxigênio nos tecidos periodontais (HUANG, 2011). Nos humanos parece que o processo de destruição periodontal ainda tem um agravo maior pelas dificuldades de higiene do paciente diante dos problemas emocionais que ocorra nesta condição patológica (GENCO et al., 1998).

O papel do estresse na doença periodontal tem uma base fisiopatológica plausível. Evidências têm sugerido que o estresse está associado a uma maior severidade da doença periodontal (GENCO et al., 1999; PERUZZO et al., 2008).

Estas respostas em geral são piores nos tecidos de todo corpo humano. (GLASER et al., 1999). Além disso, o estresse contribui com modificações nos padrões de comportamento como o uso do tabaco, o uso de álcool, e a piora nos

autocuidados com a saúde (SKORUPKA et al., 2012). Sistemicamente diante do estresse ocorre imunossupressão pela diminuição da função dos leucócitos polimorfonucleares, que alteram algumas vias como as células Th1 / Th2 (BREIVIK et al. 2006b, 2011), inclusive alterando a própria comunicação das interleucinas (MATTUELLA; XAVIER, 2010). Na prática este padrão de resposta resulta em maior gravidade da doença periodontal (BREIVIK et al., 2006b), bem como, o retardo de cicatrização de feridas (BOYAPATI; WANG, 2007, SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2009).

Nestas evidências citadas tem sido relacionado a quantidade de cortisol no organismo e uma piora nas respostas inflamatória periodontal (BREIVIK et al., 2006a). Neste trabalho foi observada uma maior quantidade de cortisol nos grupos submetidos ao estresse, inclusive com uma maior destruição das estruturas do periodonto dos animais conforme os resultados apresentados. Logo, o cortisol encontrado neste estudo confirma o efeito do estresse sobre os animais. Outros trabalhos coadunam destes resultados (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2007).

No lado esquerdo sem indução da doença foi observado ausência de perda de inserção histológica, como para a perda óssea. Outros trabalhos na mesma linha de pesquisa demonstram os mesmos achados (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012; GASPERSIC; STIBLAR-MARTINCIC; SKALERIC, 2002). Podemos aferir pelos resultados que no lado controle não apresentou progressão de periodontite devido ausência de biofilme dental organizado.

Os métodos de pesquisa em animais são importantes mesmo com tecnologias avançadas e atuais. Um bom exemplo são as culturas de células *in-vitro* (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007). Especificamente os ratos são modelos com semelhanças de respostas imunológicas, além da anatomo-fisiologia próximo aos tecidos periodontais de humanos (MILLERA; MORRISON; McEWEN, 2012). Outro aspecto são as facilidades relacionadas a reprodução, manutenção, manipulação e indução de doenças bucais de baixo custo e a linhagem de ratos Lewis, não é susceptível a periodontite induzida, de forma geral é resistente a progressão da periodontite, principalmente comparadas a outras linhagens (OZ; PULEO, 2011; BREIVIK et al. 2006a). Neste estudo foi escolhida esta linhagem de animais devido a hipótese levantada no estudo, considerando que os hormônios, juntamente com o estresse podem ativar uma maior progressão de doença.

Utilizando esta linhagem torna-se ainda mais difícil obter resultados de maior progressão.

Nos resultados do presente estudo referente ao peso dos animais demonstra que o GC obteve o maior ganho de peso de todos os grupos. O grupo GA apresentou o menor ganho de peso, contradizendo a literatura que percebe que o ganho de peso com o uso de anticoncepcionais hormonais é predominante (GIGANTE et al., 1997; CAMPFIELD; SMITH, 1999; WORLD..., 1997; BAHAMONDES et al., 2001; GALLO et al., 2003; BAHAMONDES et al., 1998; PAUL; SKEGG; WILLIAMS, 1997, ROSENBERG; WAUGH, 1998). Outros estudos semelhantes também foram encontrados diferenças estatísticas, porém demonstrando menor peso nos animais estressados. (TAKADA et al., 2004; NAKAJIMA et al., 2006). Em outro não houve nenhuma diferença estatística (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2012). Neste sentido parece que o período experimental longo pode ter influenciado nos resultados (DOMINGUES et al., 2012). Optou-se por este longo período pela periodontite demonstrar ser uma patologia crônica (BORRELL; TALIH, 2012); além disso, modificações hormonais juntas do estresse e do anticoncepcional poderiam ter efeitos sinérgicos em curto prazo. (SEMENOFF-SEGUNDO et al., 2010).

Estudos demonstram que aos 15 dias, já se teriam efeitos de progressão de doença, entretanto a partir de 30 dias as respostas começam a diferenciar-se conforme a modulação do estresse (SEGUNDO et al., 2007). Algumas vezes os ratos submetidos a um longo período de estresse podem apresentar resistência de progressão de periodontite, apesar disto nosso grupo é ciente que aos 15 dias poder-se-ia ter obtidos resultados estatísticos.

7 CONCLUSÃO



7 CONCLUSÃO

Conclui-se que o efeito do anticoncepcional associado ao estresse modificou o padrão de destruição do periodonto em ratas não-susceptíveis a periodontite induzida.

ESTADO DE CUIABÁ



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALTMAN, D. G. How large sample. In. GORE, S. M.; ALTMAN, D. G. **Statistics in practice**. London: British Medical Association, 1982. p. 6-8.
- ARMITAGE, G. C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Ann Periodontol.**, v. 4, n. 1, p. 1-6, Dec. 1999.
- AWUTI, G. et al. Epidemiological Survey on the Prevalence of Periodontitis and Diabetes Mellitus in Uyghur Adults from Rural Hotan Area in Xinjiang. **Exp Diabetes Res.**, v. 2012, p. 758921, 2012.
- AYUB, L. G. et al. Estresse como possível fator de risco para a doença periodontal: revisão de literatura. **R Periodontia**, Belo Horizonte, v. 20, n. 3, p. 28-36, set. 2010.
- BAHAMONDES, L. et al. Comparison of weight increase in users of depot medroxyprogesterone acetate and copper IUD up to five years. **Contraception**, v. 64, p. 223-5, 2001.
- BAHAMONDES, L. et al. Weight variation in users of once-a-month injectable contraceptive Cyclofem®. **Adv Contracept**, v. 14, p. 185-92, 1998.
- BALKARAN, R. et al. A preliminary investigation of periodontal disease and diabetes in Trinidad. **West Indian Med J.**, v. 60, n. 1, p. 86-90, Jan. 2011.
- BORCH, T. S. et al. In Vitro Cytokine responses to periodontal pathogens: generalized aggressive periodontitis is associated with increased IL-6 response to porphyromonas gingivalis. **Scand J Immunol.**, v. 71, n. 6, p. 440-6, Jun. 2010.
- BORRELL, L. N.; TALIH, M. Examining periodontal disease disparities among U.S. adults 20 years of age and older: NHANES III (1988-1994) and NHANES 1999-2004. **Public Health Rep.**, v. 127, n. 5, p. 497-506, Sep./Oct. 2012.
- BOYAPATI, L.; WANG, H. L. The role of stress in periodontal disease and wound healing. **Periodontol.**, v. 44, p. 195-210, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher - PNDS 2006**: dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília, DF: MS, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Planejamento familiar**: manual para o gestor. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher**: princípios e diretrizes. 1. ed. Brasília, DF: MS, 2011. 82 p. (Série C. Projetos, Programas e Relatórios).
- BREIVIK, T. et al. Effects of hypothalamic-pituitary-adrenal axis reactivity on periodontal tissue destruction in rats. **Eur J Oral Sci.**, v. 108, n. 2, p. 115-22, Apr. 2000.

BREIVIK, T. et al. Enhanced susceptibility to periodontitis in an animal model of depression: reversed by chronic treatment with the anti-depressant tianeptine. **J Clin Periodontol.**, v. 33, n. 7, p. 469-77, Jul. 2006a.

BREIVIK, T. et al. Neonatal dexamethasone and chronic tianeptine treatment inhibit ligature-induced periodontitis in adult rats. **J Periodontal Res.**, v. 41, n. 1, p. 23-32, Feb. 2006b.

BREIVIK, T. et al. Oral treatment with complement factor C5a receptor (CD88) antagonists inhibits experimental periodontitis in rats. **J Periodontal Research**, v. 46, n. 6, p. 643-7, Dec. 2011.

BRUSCA, M. I. et al. The impact of oral contraceptives on women's periodontal health and the subgingival occurrence of aggressive periodontopathogens and Candida Species. **J Periodontol.**, v. 81, n. 7, p. 1010-8, Jul. 2010.

CAMPFIELD, L. A.; SMITH, F. J. The pathogenesis of obesity. **Baillière`s Clin Endocrinol Metabol.**, v. 13, p. 13-30, 1999.

DOMINGUES, R. S. et al. Influence of combined oral contraceptives on the periodontal condition. **J Appl Oral Sci.**, v. 20, n. 2, p. 253-9, Mar. 2012.

DOPALEN: solução intravenosa. Responsável técnico Mauricio Del Bigio. Paulínia. Agribands, 2011. Bula de remédio.

EKLUND, L. S. T. S. A. Oral Contraceptives and Periodontal Disease: Rethinking the Association Based Upon Analysis of National Health and Nutrition Examination Survey Data. **J Periodontol.**, v. 76, n. 8, p. 1374-385, 2005

ERKKOLA, R. Recent advances in hormonal contraception. **Curr Opin Obstet Gynecol.**, v. 16, n. 6, p. 547-53, Dec. 2007.

ETHICON: fio de sutura cirúrgica. São Paulo: Johnson & Johnson, [19-?]. Bula de remédio.

GALLO, M. F. et al. Combination contraceptives: effects on weight. **Cochrane Database Syst. Rev.**, v. 2, CD003987, 2003.

GASPERIC, R.; STIBLAR-MARTINCIC, D.; SKALERIC, U. Influence of restraint stress on ligature-induced periodontitis in rats. **Eur J Oral Sci.**, v. 110, n. 2, p. 125-9, Apr. 2002.

GENCO, R. J. et al. Models to Evaluate the Role of Stress in Periodontal Disease. **Ann Periodontol.**, v. 3, n. 1, p. 288-302, Jul. 1998.

GENCO, R. J. et al. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease. **J Periodontol.**, v. 70, n. 7, p. 711-23, Jul. 1999.

GIGANTE, D. P. et al. Prevalência de obesidade em adultos e seus fatores de risco. **Rev Saúde Pública**, v. 31, p. 236-46, 1997.

GLASER, R. et al. Stress-related changes in proinflammatory cytokine production in

wounds. **Arch Gen Psychiatry**, v. 56, n. 5, p. 450-6, 1999.

GÜNCÜ, G. N.; TÖZÜM, T. F.; CAGLAYAN, F. Effects of endogenous sex hormones on the periodontium: review of literature. **Aust Dent J.**, v. 50, n. 3, p. 138-145, Sep. 2005.

HO, Y. C.; CHANG, Y. C. Regulation of nicotine-induced cyclooxygenase-2 protein expression in human gingival fibroblasts. **Acta Pharmacol Sin.**, v. 27, n. 4, p. 409-413, Apr. 2006.

HOSSEINI, F. A.; TIRGARI, F.; SHAIGAN, S. Immunohistochemical analysis of estrogen and progesterone receptor expression in gingival lesions. **J Publ Health.**, Iranian, v. 35, n. 2, p. 38-41, 2006.

HUANG, S. et al. The Role of Psychologic Stress-Induced Hypoxia-Inducible Factor-1a in Rat Experimental Periodontitis. **J Periodontol.**, v. 82, n. 6, p. 934-41, Jun. 2011.

KINANE, D. F. Periodontitis modified by systemic factors. **Annals Periodontol.**, v. 4, n. 1, p. 54-63, Dec. 1999.

KORNMAN, K. S. Mapping the Pathogenesis of Periodontitis: a new look. **J Periodontol.**, v. 79, n. 8 (supl.), p. 1560-1568, Aug. 2008.

LAPP, C. A. et al. The Effects of Progesterone on Matrix Metalloproteinases in Cultured Human Gingival Fibroblasts. **J Periodontol.**, v. 74, n. 3, p. 277-288, Mar. 2003.

LEMOS, E. R. et al. Uso de métodos anticoncepcionais por mulheres assistidas em área distrital e fatores determinantes. **Rev APS**, v. 14, n. 4, p. 417-423, out./dez. 2011.

MAKINO, A. et al. Nicotine involved in periodontal disease through influence on cytokine levels. **FEMS Immunol Med Microbiol.**, v. 52, n. 2, p. 282-286, Mar. 2008.

MANDÚ, E. N. T. Trajetória assistencial no âmbito da saúde reprodutiva e sexual: Brasil, século XX. **Rev Latinoam Enferm.**, v. 10, n. 3, p. 358-71, maio/jun. 2002.

MARIOTTI, A. Sex steroid hormones and cell dynamics in de periodontium. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 5, n. 1, p. 27-53, 1994.

MATTUELLA, L. G.; XAVIER, L. L. **Baixos níveis de IL-5 e IL-10 contribuem para o desenvolvimento da periodontite agressiva.** PURS, 2010. (Mostra de Pesquisa da Pós-Graduação, 5).

McDONALD, J. S. et al. Prostaglandin H synthase isoenzyme distribution in the gingival tissue of patients with periodontitis: pronounced expression adjacent to gram-positive bacteria. **Inflammopharmacology**, v. 5, n. 2, p. 109-18, 1997.

MILLER, M. M.; MORRISON, J. H.; McEWEN, B. S. Basal anxiety-like behavior predicts differences in dendritic morphology in the medial prefrontal cortex in two strains of rats. **Behav Brain Res.**, v. 229, n. 1, p. 280-8, Apr. 2012.

- MINAYA-SÁNCHEZ, M. et al. Prevalence of and risk indicators for chronic periodontitis in males from Campeche, Mexico. **Rev Salud Publica**, Bogota, v. 9, n. 3, p. 388-98, Jul./Sep. 2007.
- MULLALLY, B. H. et al. Current oral contraceptive status and periodontitis in young adults. **J Periodontol.**, v. 78, n. 6, p. 1031-1036, Jun. 2007.
- NAKAGAWA, S. et al. A longitudinal study from prepuberty to puberty of gingivitis: correlation between the occurrence of *Prevotella intermedia* and sex hormones. **J Clin Periodontol.**, v. 21, n. 10, p. 658-65, 1994.
- NAKAJIMA, K. et al. Restraint stress enhances alveolar bone loss in an experimental rat model. **J Periodontol Res.**, v. 41, n. 6, p. 527-34, 2006.
- OTOMO-CORGEL, J.; STEINBERG, B. J. Medicina periodontal e a mulher como paciente. In: ROSE, L. F. et al. **Medicina periodontal**. São Paulo: Santos, 2002. p. 83-98.
- OZ, H. S.; PULEO, D. A. Animal models for periodontal disease. **J Biomed Biotechnol.**, v. 2011, p. 754857, 2011.
- PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol 2000**, v. 14, p. 9-11, jun. 1997.
- PAUL, C.; SKEGG, D.C.G.; WILLIAMS, S. Depot medroxyprogesterone acetate. Patterns of use and reasons for discontinuation. **Contraception**, v. 56, p. 209-14, 1997.
- PERLUTAN: solução injetável. Responsável Técnico Laura M. S. Ramos. São Paulo: Boehringer Ingelheim do Brasil Química e Farmacêutica Ltda, 2012. Bula de remédio.
- PERUZZO, D. C. et al. Chronic Stress May Modulate Periodontal Disease: a study in Rats. **J Periodontol.**, v. 79, n. 4, p. 697-704, Apr. 2008.
- ROPUM: solução injetável. Responsável técnico Mário Eduardo Pulga. São Paulo: Bayer, 1970. Bula de remédio.
- ROSENBERG, M. J.; WAUGH, M. S. Oral contraceptive discontinuation: a prospective evaluation of frequency and reasons. **Am J Obstet Gynecol.**, v. 179, p. 577-82, 1998.
- ROSSA JÚNIOR, C. et al. Associação entre nível de estresse psicológico e as condições clínicas do periodonto. **Clínica e Pesquisa em Odontologia - UNITAU**, v. 1, n. 1, p. 43-47, 2009.
- SANTOS, P. A. T. et al. Influência dos hormônios sexuais sobre os tecidos periodontais em usuárias de contraceptivos hormonais. **Periodontia**, v. 18, n. 1, p. 55-63, 2008.
- SEGUNDO, A. S. et al. The role of psychoneuroimmune interactions in the pathogenesis of ligature-induced periodontal disease in Wistar rats. **J Int Acad**

Periodontol., v. 9, n. 1, p. 26-31, 2007.

SEMENOFF SEGUNDO, A. et al. Methodological model of chronic stress associated with ligature-induced periodontitis in rats: a radiographic study. **Braz Oral Res.**, v. 24, n. 4, p. 455-9, Oct./Dec. 2010.

SEMENOFF-SEGUNDO, A. et al. Efeito do estresse crônico na progressão de periodontite induzida por ligadura em ratos. **Periodontia**, Belo Horizonte, v. 17, n. 3, p. 62-66, set. 2007.

SEMENOFF-SEGUNDO, A. et al. Effect of chronic stress on the repair of cutaneous wounds in rats. **Rev Odonto Ciênc.**, v. 24, n. 2, p. 140-4, 2009.

SEMENOFF-SEGUNDO, A. et al. Effects of two chronic stress models on ligature-induced periodontitis in Wistar rats. **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 1, p. 66-72, Jan. 2012.

SHOJI, M. et al. Lipopolysaccharide Enhances the Production of Nicotine-Induced Prostaglandin E2 by an Increase in Cyclooxygenase-2 Expression in Osteoblasts. **Acta Biochim Biophys Sin.**, v. 39, n. 3, p. 163-72, Mar. 2007.

SKORUPKA, W. et al. Assessment of oral hygiene in adults. **Cent Eur J Public Health.**, v. 20, n. 3, p. 233-6, Sep. 2012.

SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 43, n. 4, p. 515-27, 2007.

TAKADA, T. et al. Effect of restraint stress on the progression of experimental periodontitis in rats. **J Periodontol.**, v. 75, n. 2, p. 306-15, Feb. 2004.

TILAKARATNE, A.; SOORY, M. Androgen metabolism in response to oestradiol and progesterone in human gingival fibroblasts in culture. **J Clin Periodontol.**, v. 26, n. 11, p. 723-31, 1999.

TILAKARATNE, A.; SOORY, M. The modulation of androgen metabolism by estradiol, minocycline and indomethacin in a cell culture model. **J Periodontol.**, v. 73, n. 6, p. 585-90, Jun. 2002.

TILAKARATNE, A.; SOORY, M. The modulation of androgen metabolism by estradiol, minocycline, and indomethacin in a cell culture model. **J Periodontol.**, V. 73, n. 6, p. 585-90, Jun. 2002.

WANG, X. J. et al. Functional expression of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors in human periodontal ligament fibroblasts and rat periodontal tissues. **Cell Tissue Res.**, v. 340, n. 2, p. 347-55, May 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity**: obesity epidemic puts millions at risk from related diseases. Geneva: World Health Organization, 1997.

ZUZA, E. P. et al. Avaliação da condição gengival em resposta aos picos hormonais do ciclo reprodutivo da mulher: estudo clínico controlado. **Periodontia**, Belo Horizonte, v. 20, n. 3, p. 60-66, set. 2010.

ANEXO



Anexo 1. Comitê de Ética em Pesquisa



HOSPITAL GERAL UNIVERSITÁRIO

ASSOCIAÇÃO DE PROTEÇÃO À MATERNIDADE
E À INFÂNCIA DE CUIABÁ

Entidade Mantenedora

Registro: nº 011 CEP/UNIC/2009 – protocolo nº 0307-319

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP/UNIC

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa: **“Efeito do Estresse Crônico Associado ou Não ao Uso de Anticoncepcional Sobre a Progressão de Periodontite Induzida em Ratas Lewis”** do (a) pesquisador (a) **Alex Semenoff Segundo** foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá - UNIC.

Cuiabá-MT, 27 de fevereiro de 2009.

Prof. Dra. Bianca Borsatto Galera
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
UNIC/HGU