

Rosana Leal do Prado

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA E TRANSDUÇÃO DO
SINAL INSULÍNICO EM RATOS ADULTOS, PROLES DE RATAS COM
DOENÇA PERIODONTAL

Araçatuba
- 2008 -

Rosana Leal do Prado

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA E TRANSDUÇÃO DO
SINAL INSULÍNICO EM RATOS ADULTOS, PROLES DE RATAS COM
DOENÇA PERIODONTAL

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do
“Campus de Araçatuba – UNESP”, para a obtenção do
grau de “MESTRE em Odontologia Preventiva e Social”.

Orientadora: Prof. Dra. Doris Hissako Sumida

Araçatuba – SP
- 2008 -

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

P896a Prado, Rosana Leal do
Avaliação da sensibilidade à insulina e transdução do sinal
insulínico em ratos adultos, proles de ratas com doença
periodontal / Rosana Leal do Prado. – Araçatuba : [s.n.], 2008
90 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2008
Orientador: Profa. Dra. Doris Hissako Sumida

1. Doenças periodontais 2. Recém-nascido de baixo peso
3. Diabetes mellitus

Black D5
CDD 617.601

DADOS CURRICULARES

Rosana Leal do Prado

NASCIMENTO 09 de fevereiro de 1983 – CAMPESTRE-MG

FILIAÇÃO Arivaldo Leal do Prado

Célia Silveira do Prado

2002-2005 Curso de Graduação em Odontologia na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba

2006-2008 Curso de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social, nível de Mestrado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba

Dedicatória

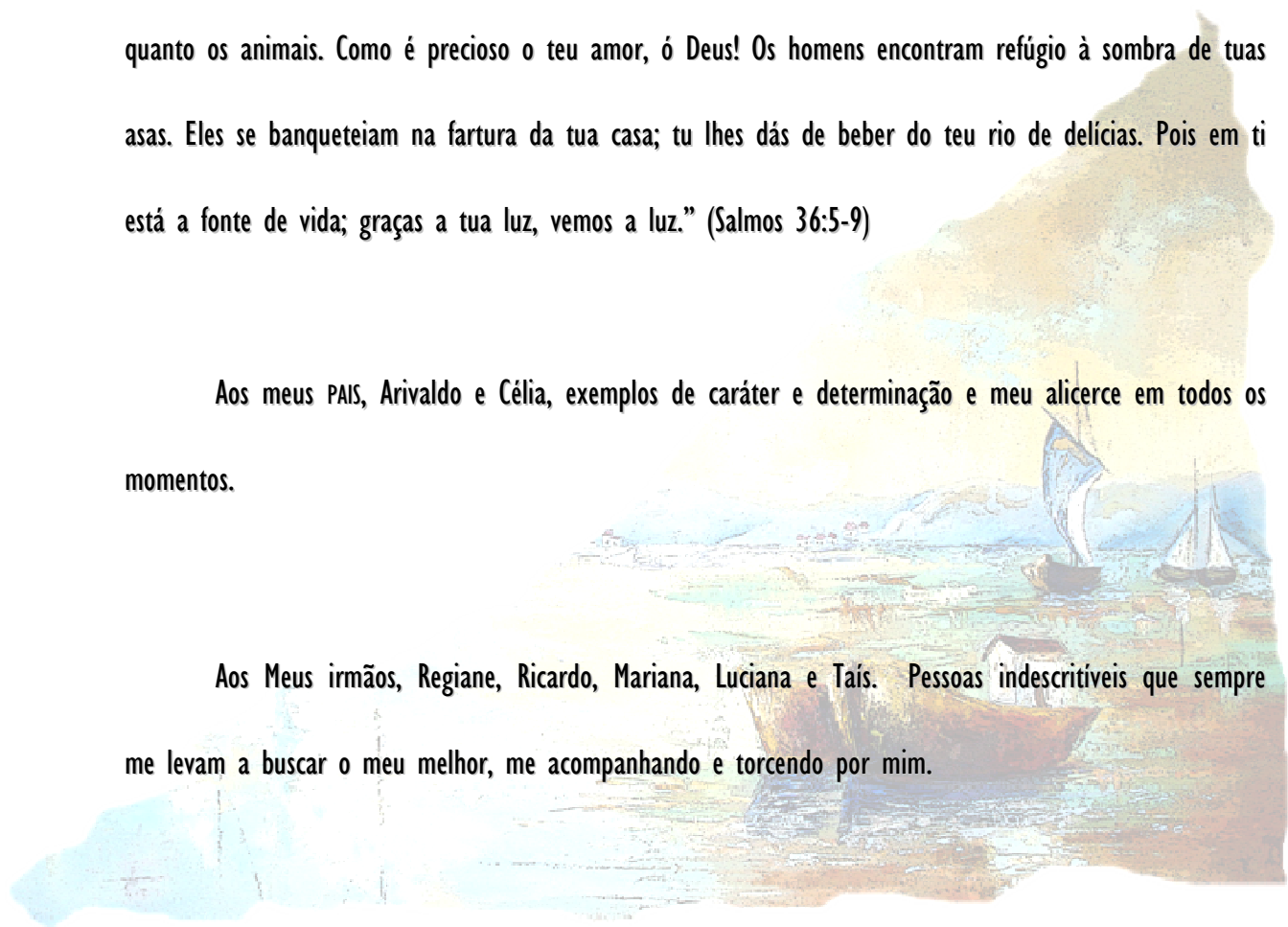
A Deus...

... por sua constante presença e infinito amor.

“O teu amor, Senhor, chega até os céus; à tua fidelidade até as nuvens. A tua justiça é firme como as altas montanhas; as tuas decisões insondáveis como o grande mar. Tu, Senhor, preserva tantos os homens quanto os animais. Como é precioso o teu amor, ó Deus! Os homens encontram refúgio à sombra de tuas asas. Eles se banqueteam na fartura da tua casa; tu lhes dás de beber do teu rio de delícias. Pois em ti está a fonte de vida; graças a tua luz, vemos a luz.” (Salmos 36:5-9)

Aos meus PAIS, Arivaldo e Célia, exemplos de caráter e determinação e meu alicerce em todos os momentos.

Aos Meus irmãos, Regiane, Ricardo, Mariana, Luciana e Taís. Pessoas indescritíveis que sempre me levam a buscar o meu melhor, me acompanhando e torcendo por mim.



Agradecimentos Especiais

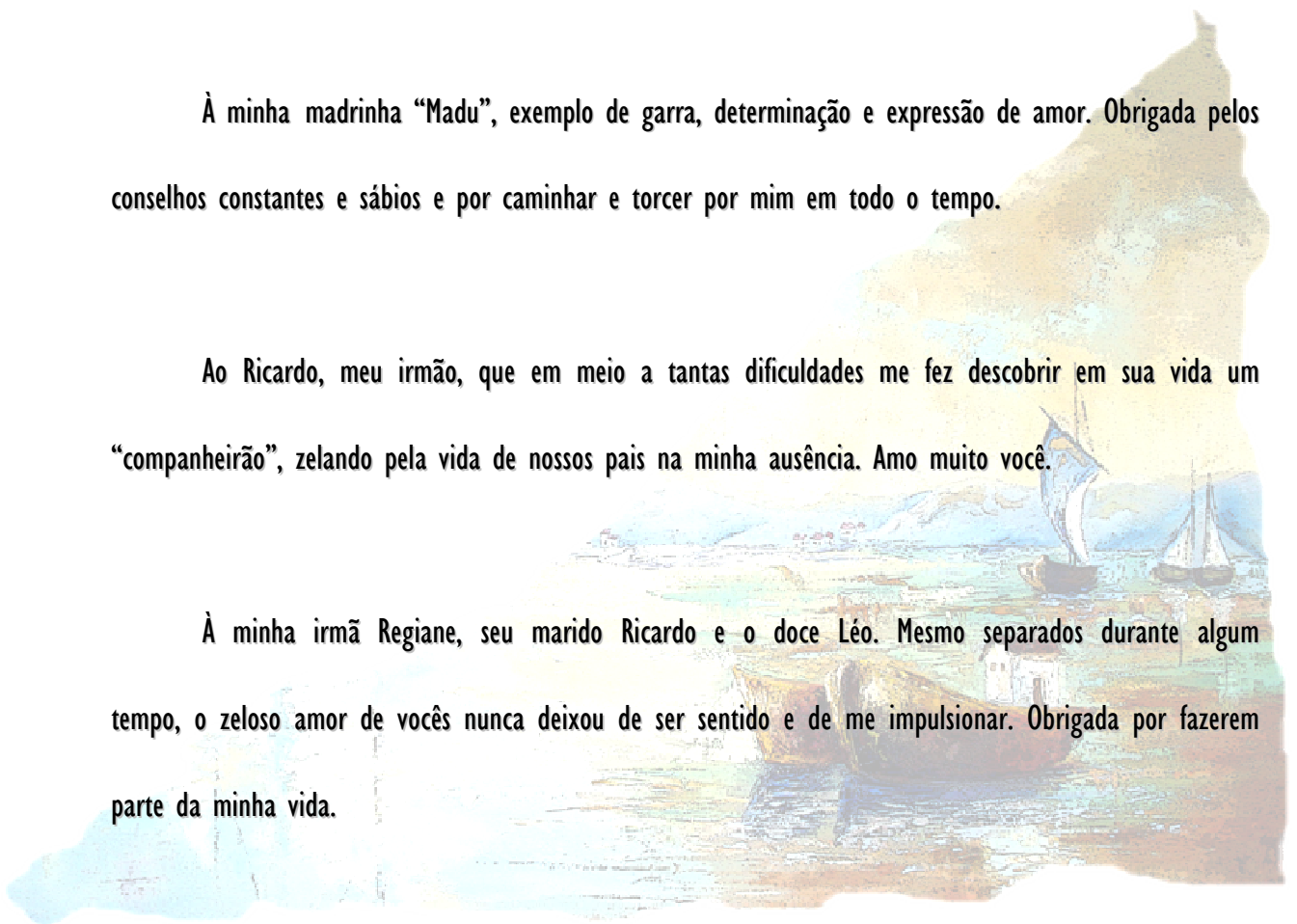
Aos meus pais, Arivaldo e Célia, meus torcedores incondicionais. Obrigada por seu amor e dedicação, me dando forças para continuar. Amo vocês demais e o orgulho que sinto por ser filha de pessoas tão especiais jamais poderá ser quantificado.

Aos “meus pais” Thaís e Araken, que me adotaram sem nenhuma restrição em Araçatuba. Sou grata a Deus pela vida de vocês. Nunca poderei ser suficientemente agradecida. E, tenho plena convicção de que não teria chegado ao fim deste ‘projeto’ sem o apoio de vocês. Obrigada por tudo!

À minha madrinha “Madu”, exemplo de garra, determinação e expressão de amor. Obrigada pelos conselhos constantes e sábios e por caminhar e torcer por mim em todo o tempo.

Ao Ricardo, meu irmão, que em meio a tantas dificuldades me fez descobrir em sua vida um “companheiro”, zelando pela vida de nossos pais na minha ausência. Amo muito você.

À minha irmã Regiane, seu marido Ricardo e o doce Léo. Mesmo separados durante algum tempo, o zeloso amor de vocês nunca deixou de ser sentido e de me impulsionar. Obrigada por fazerem parte da minha vida.



À Vó Deize e ao Marcinho, que sempre me apoiaram e me servem de exemplos na vida. Vocês são muito queridos.

À Rose, eterna incentivadora. Obrigada pela disposição e otimismo sempre presentes.

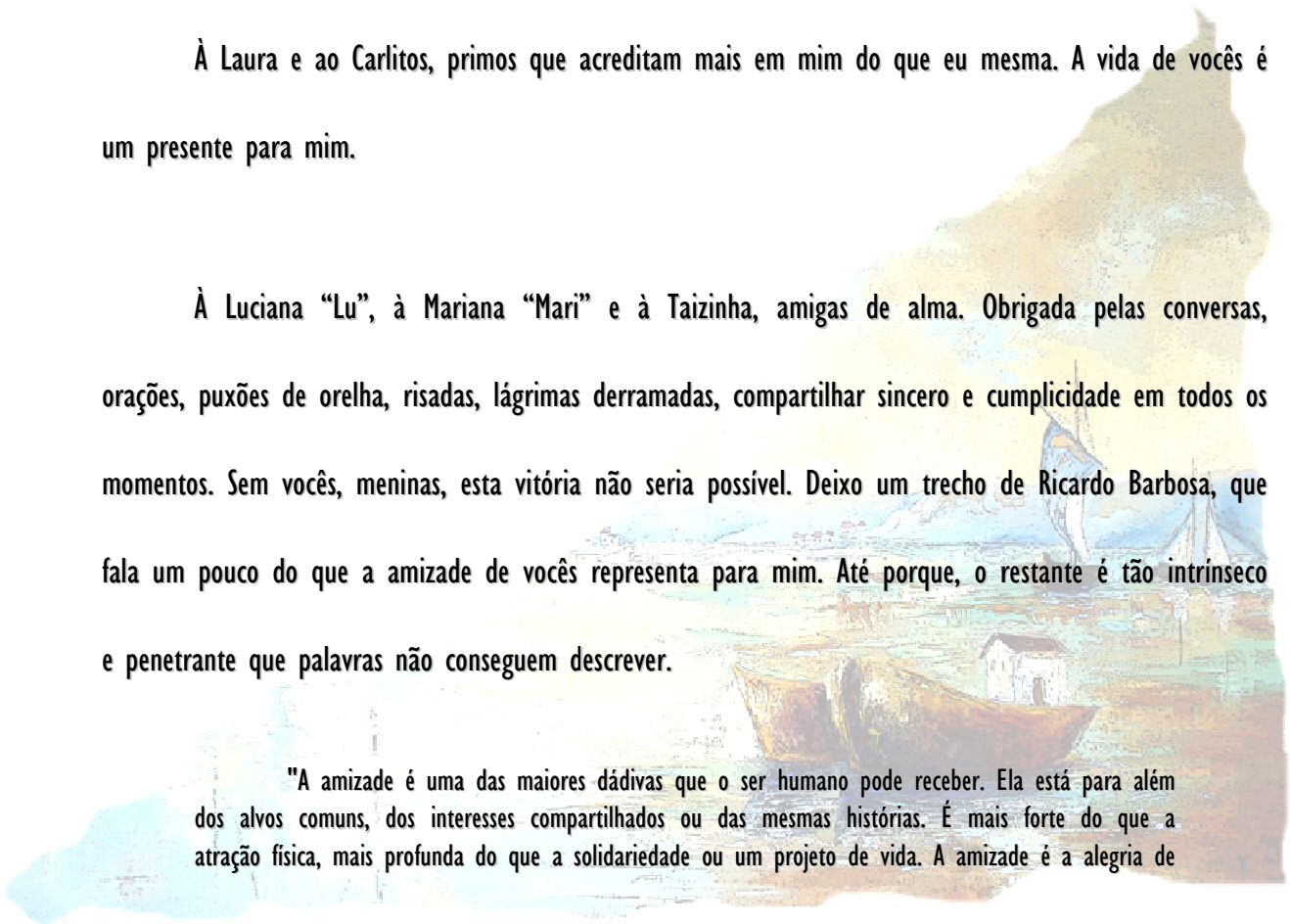
À Mônica, de quem a distância geográfica me faz sentir muita falta. Obrigada por sua amizade e apoio.

Ao Tio “Cuta” e à Tia “Landa”, exemplos em minha vida. Obrigada pelo carinho dispensado desde que eu era criança.

À Laura e ao Carlitos, primos que acreditam mais em mim do que eu mesma. A vida de vocês é um presente para mim.

À Luciana “Lu”, à Mariana “Mari” e à Taizinha, amigas de alma. Obrigada pelas conversas, orações, puxões de orelha, risadas, lágrimas derramadas, compartilhar sincero e cumplicidade em todos os momentos. Sem vocês, meninas, esta vitória não seria possível. Deixo um trecho de Ricardo Barbosa, que fala um pouco do que a amizade de vocês representa para mim. Até porque, o restante é tão intrínseco e penetrante que palavras não conseguem descrever.

"A amizade é uma das maiores dádivas que o ser humano pode receber. Ela está para além dos alvos comuns, dos interesses compartilhados ou das mesmas histórias. É mais forte do que a atração física, mais profunda do que a solidariedade ou um projeto de vida. A amizade é a alegria de



dar e receber, de amar e sofrer, de confiar e entregar sem reservas. É estar com o outro, mesmo quando não podemos nem aumentar a alegria, nem diminuir a tristeza. Amizade é o encontro de almas que promove a nobreza do amor.

O culto ao individualismo, a busca pela realização pessoal, o narcisismo, a satisfação imposta pelo consumismo, tudo isso tem criado em nós uma sensação falsa de preenchimento e uma percepção cínica da amizade...

...A amizade tem sua beleza nela mesma. Como disse Rubem Alves, um amigo é aquela pessoa que vive de sua inutilidade. Ele diz: "Pode até ser útil eventualmente, mas não é isso que o torna um amigo. Sua inútil e fiel presença silenciosa torna a nossa solidão uma experiência de comunhão. Diante do amigo sabemos que não estamos sós. E alegria maior não pode existir."

À Letícia "Lê" que tem caminhado comigo desde a graduação. Obrigada pela disposição em todos os momentos. Em qualquer lugar que eu estiver, estarei sempre pronta a te ajudar.

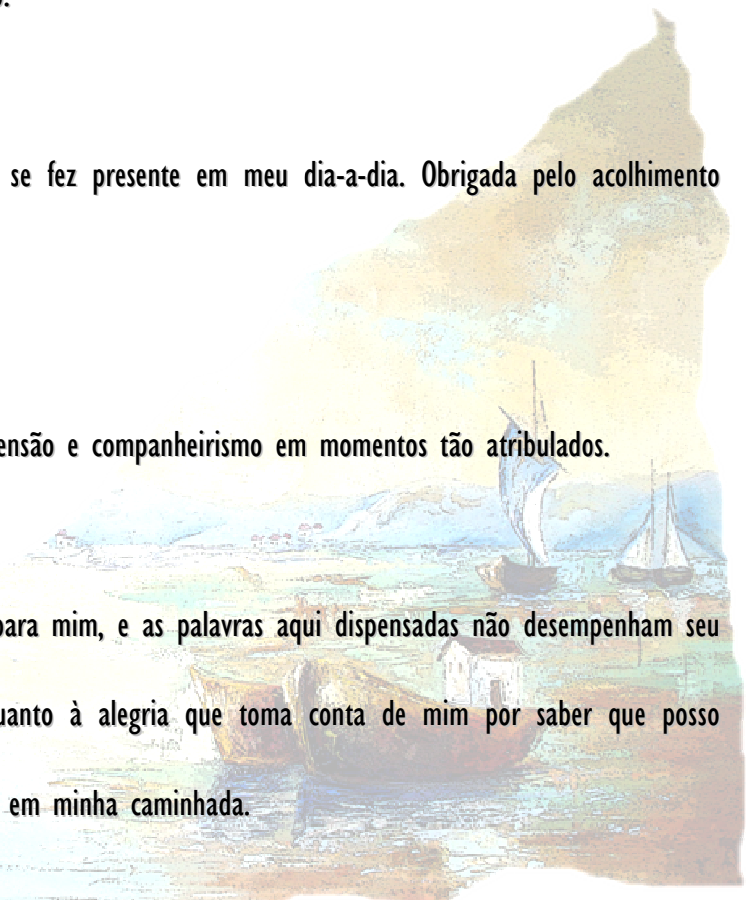
À Nilva, eterna companheira. Obrigada pela "hospedagem", pela demonstração de carinho, amor e "sinceridade de criança" em todo o tempo.

Ao Rodrigo, que mesmo distante se fez presente em meu dia-a-dia. Obrigada pelo acolhimento incondicional.

Ao Gustavo, pelo carinho, compreensão e companheirismo em momentos tão atribulados.

Todos vocês são muito especiais para mim, e as palavras aqui dispensadas não desempenham seu papel tão bem ao tentar agradecê-los quanto à alegria que toma conta de mim por saber que posso contar com pessoas tão nobres e queridas em minha caminhada.

A vocês todos, obrigada!



Agradecimentos

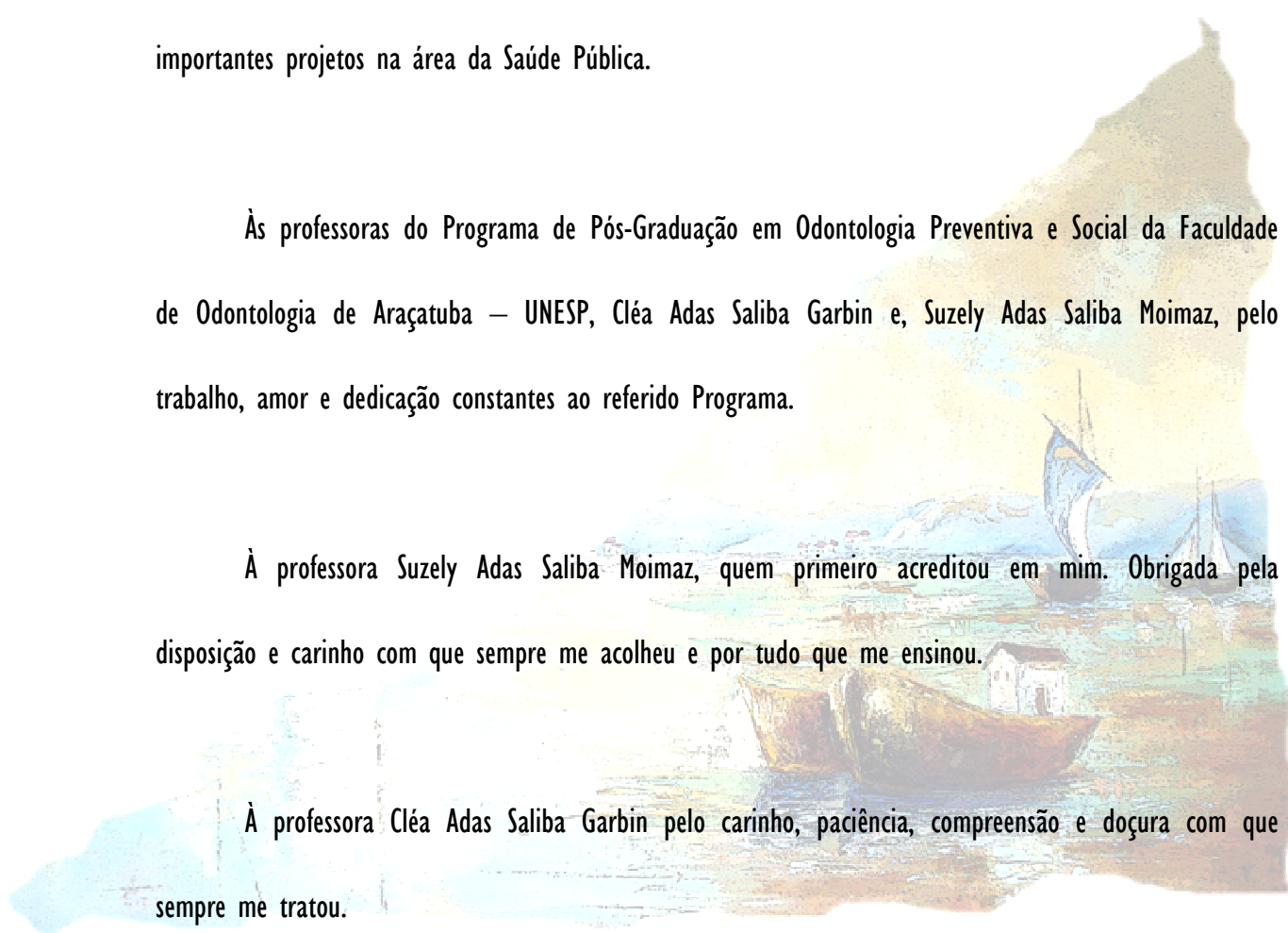
A minha Orientadora e amiga, Professora Doris Hissako Sumida, que carinhosamente me fez sentir segura e capaz. Agradeço ainda pelos ensinamentos e disposição sempre presentes. Celebrar a vida é somar amigos, experiências e conquistas, dando-lhes sempre algum significado. Muito obrigada, professora!

À Prof^a Nemre Adas Saliba e Prof. Orlando Saliba, pela iniciativa, coragem e pioneirismo demonstrados ao constituir o Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba — UNESP, possibilitando minha formação e participação em importantes projetos na área da Saúde Pública.

Às professoras do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba — UNESP, Cléa Adas Saliba Garbin e, Suzely Adas Saliba Moimaz, pelo trabalho, amor e dedicação constantes ao referido Programa.

À professora Suzely Adas Saliba Moimaz, quem primeiro acreditou em mim. Obrigada pela disposição e carinho com que sempre me acolheu e por tudo que me ensinou.

À professora Cléa Adas Saliba Garbin pelo carinho, paciência, compreensão e doçura com que sempre me tratou.



Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação: Prof. Renato Moreira Arcieri, Prof. Artênio José Iper Garbin, Prof. Eliel Soares Orenha, Prof^a Maria Lúcia Marçal Mazza Sundfeld, Prof. Renato Herman Sundfeld, Ricardo Coêlho Okida, Prof. Alício Rosalino Garcia, Prof. Silvio José Mauro.

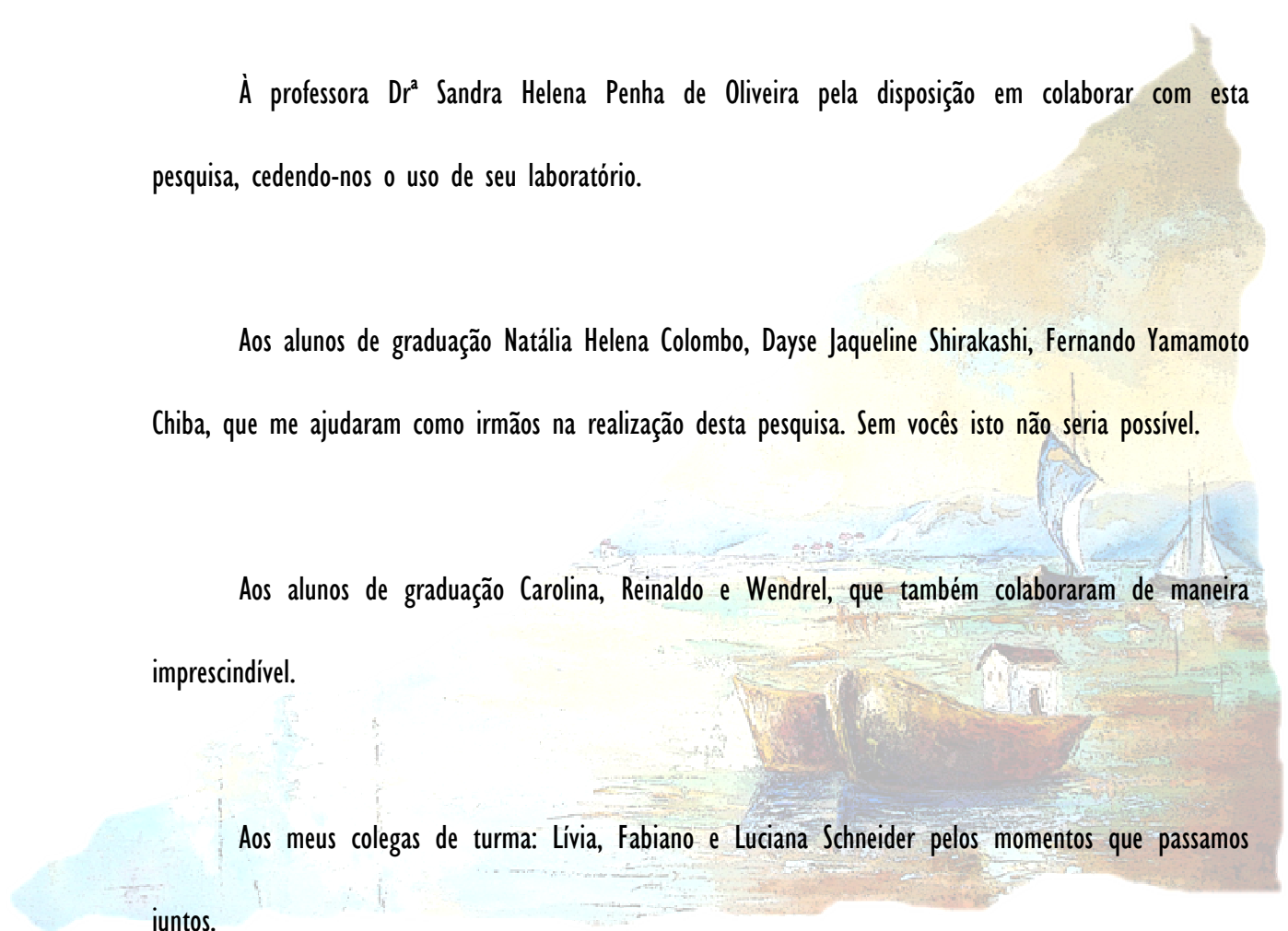
Aos professores Dr. João César Bedran de Castro que com sua generosidade imensurável revisou pacientemente este trabalho e ao Dr. João Carlos Callera pela gentileza e compreensão dispensadas.

À professora Dr^a Sandra Helena Penha de Oliveira pela disposição em colaborar com esta pesquisa, cedendo-nos o uso de seu laboratório.

Aos alunos de graduação Natália Helena Colombo, Dayse Jaqueline Shirakashi, Fernando Yamamoto Chiba, que me ajudaram como irmãos na realização desta pesquisa. Sem vocês isto não seria possível.

Aos alunos de graduação Carolina, Reinaldo e Wendrel, que também colaboraram de maneira imprescindível.

Aos meus colegas de turma: Livia, Fabiano e Luciana Schneider pelos momentos que passamos juntos.



Aos meus colegas de pós-graduação: Ana Paula, Jeidson, Patrícia, Livia Zina, Cristina, Nelly, Maria de Lourdes, Joildo, Ana Valéria, Daniela Coelho, Karina, Ricardo, Márcio, Kléryson, Diego, Daniela, Najara.

À cirurgiã-dentista Maria Angélica Lemos (Geo), pelas muitas conversas e pelo trabalho em equipe realizado durante o estágio na Creche Santa Clara de Assis.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Infantil e Social: Neusa Martins Rovina Antunes, Nilton César Souza e Valderez Freitas Rosa, sempre dispostos a ajudar.

Aos Funcionários do Departamento de Ciências Básicas, em especial a Lourdes e a Janaína, sempre prontas a ajudar e ceder um ombro amigo nos momentos difíceis.

Aos funcionários da Biblioteca: Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudio Hideo Matsumoto, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Jéssica Durbergr, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez, Fernando Sukunishi e Cláudio Maciel Júnior, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

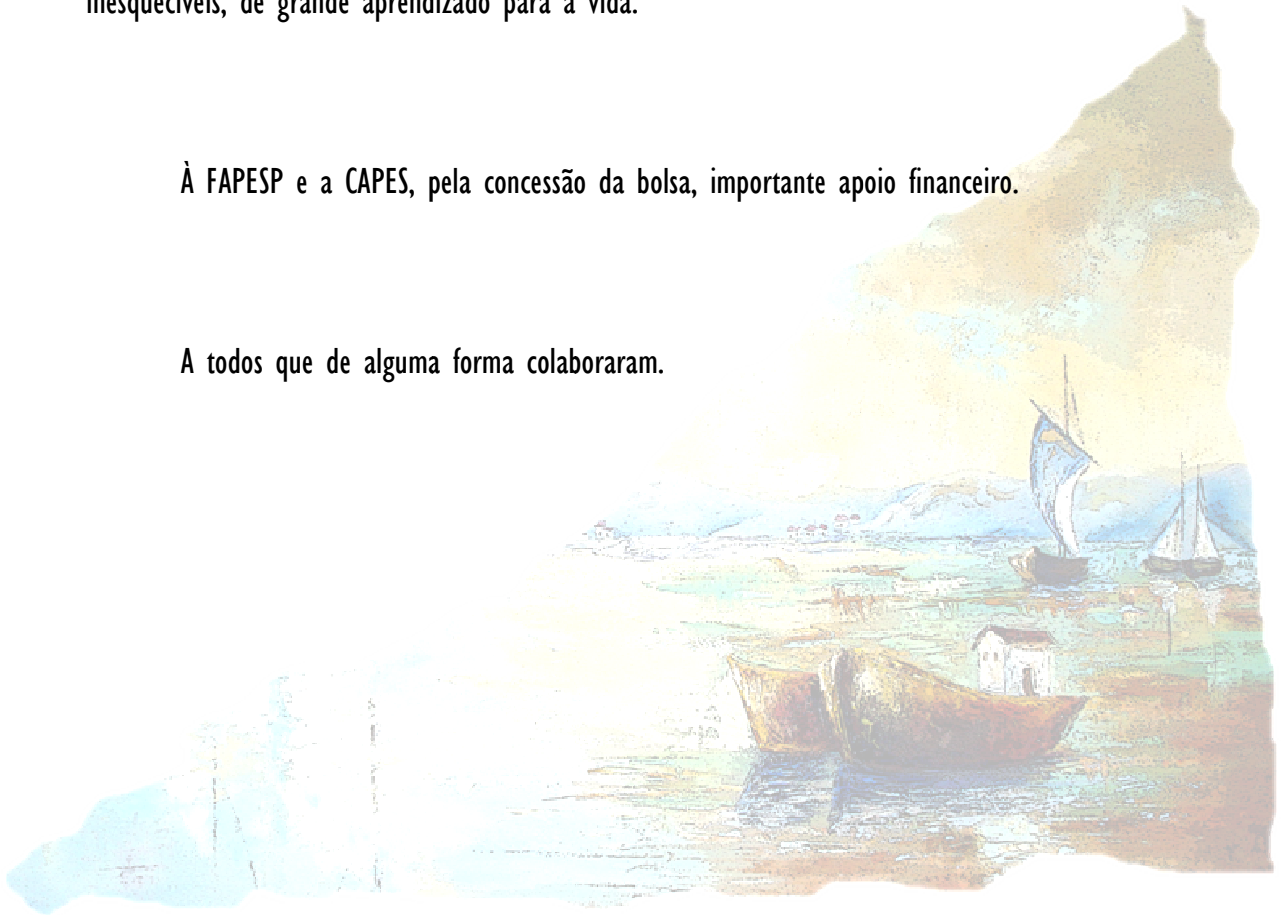
Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação: Diogo Reatto, Marina Midori Sakamoto Hawagoe e Valéria Queiroz Marcondes Zagatto, pelo excelente trabalho, atenção dispensada, grande disposição em atender e ótimo relacionamento.

À Universidade Estadual Paulista, na pessoa do Diretor do campus de Araçatuba, Prof. Pedro Felício Estrada Bernabé, pela oportunidade de realizar este curso.

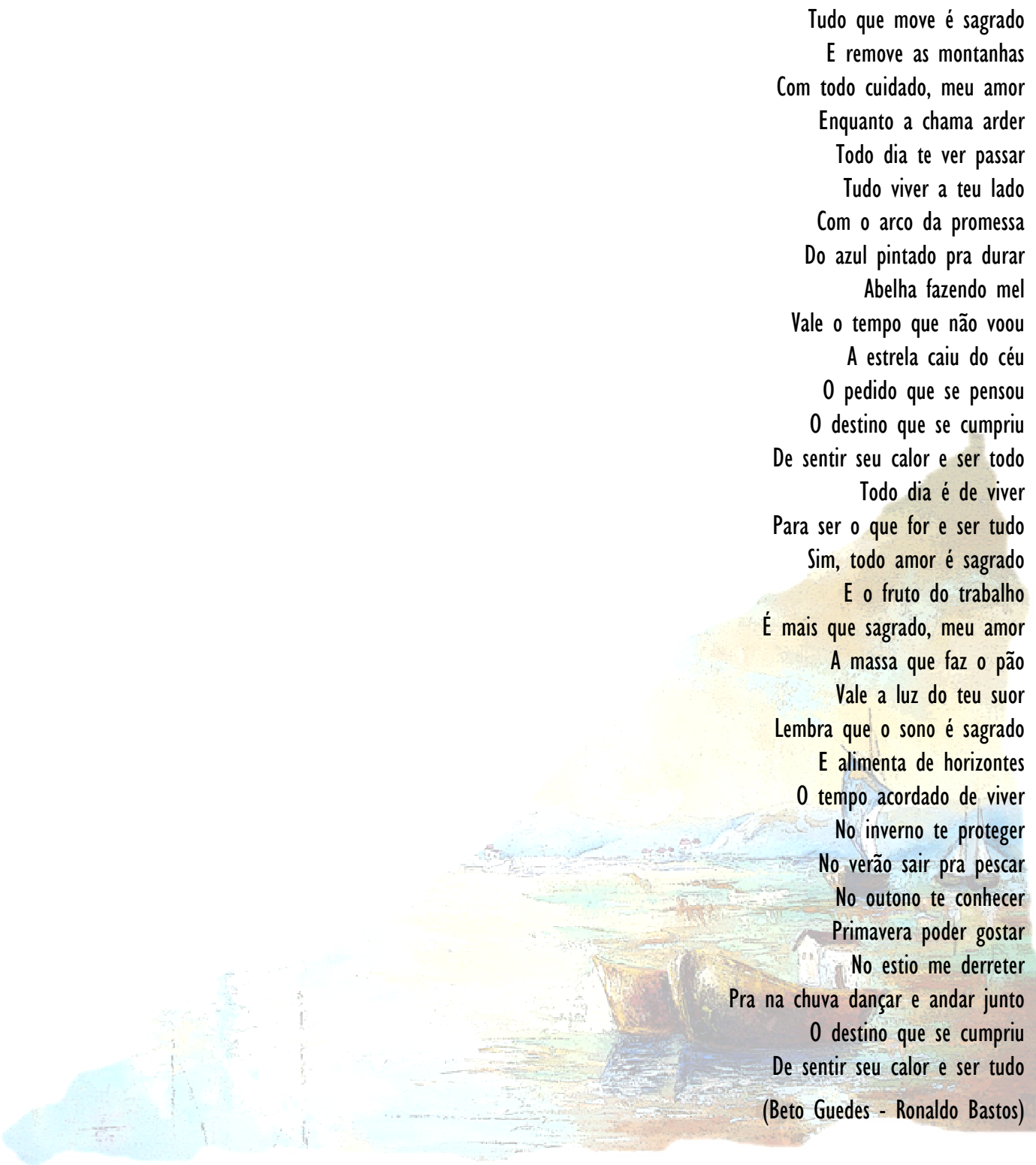
Aos Idosos e funcionários dos asilos da cidade de Araçatuba, onde contemplei momentos inesquecíveis, de grande aprendizado para a vida.

À FAPESP e a CAPES, pela concessão da bolsa, importante apoio financeiro.

A todos que de alguma forma colaboraram.



Amor de Índio



Tudo que move é sagrado
E remove as montanhas
Com todo cuidado, meu amor
Enquanto a chama arder
Todo dia te ver passar
Tudo viver a teu lado
Com o arco da promessa
Do azul pintado pra durar
Abelha fazendo mel
Vale o tempo que não voou
A estrela caiu do céu
O pedido que se pensou
O destino que se cumpriu
De sentir seu calor e ser todo
Todo dia é de viver
Para ser o que for e ser tudo
Sim, todo amor é sagrado
E o fruto do trabalho
É mais que sagrado, meu amor
A massa que faz o pão
Vale a luz do teu suor
Lembra que o sono é sagrado
E alimenta de horizontes
O tempo acordado de viver
No inverno te proteger
No verão sair pra pescar
No outono te conhecer
Primavera poder gostar
No estio me derreter
Pra na chuva dançar e andar junto
O destino que se cumpriu
De sentir seu calor e ser todo
(Beto Guedes - Ronaldo Bastos)

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1** Peso corpóreo semanal de ratos adultos proles de ratas controle (Prole SHAM) e de ratas com doença periodontal (Prole DP) desde o nascimento até 75 dias de idade. Os valores são apresentados como média \pm EPM de 24 (Prole SHAM) e 24 (Prole DP) animais. 54
- Figura 2** Velocidade de desaparecimento da glicose (Kitt) em ratos adultos, proles de ratas controle (Prole SHAM) e ratas com doença periodontal (DP). Os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina, i.v. (0,75U / kg p.c.) e as amostras foram coletadas nos tempos 0 (basal), 4, 8, 12, 16 minutos após a injeção de insulina. Os valores são expressos como média \pm EPM de 5 experimentos. 56
- *P<0,05 vs. Prole SHAM.
- Figura 3** Avaliação do grau de fosforilação em tirosina da pp185 (IRS- 57

1/IRS-2) antes (-) e após (+) o estímulo insulínico no tecido adiposo branco periepididimal de ratos adultos proles de ratas controle (Prole SHAM) e de ratas com doença periodontal (Prole DP). Em A auto-radiografia típica: quantidades iguais de proteína foram submetidas a SDS-PAGE (185 µg). Em B, valores do grau de fosforilação em tirosina, expressos em unidades arbitrárias, são apresentados como média ± EPM de 8 experimentos.

* p<0,05 vs. Insulina (+)

p<0,02 vs. Prole SHAM (+)

Figura 4 Avaliação do grau de fosforilação em tirosina da pp185 (IRS-

58

1/IRS-2) antes (-) e após (+) o estímulo insulínico no tecido muscular gastrocnêmio de ratos adultos, proles de ratas controle (Prole SHAM) e ratas com doença periodontal (Prole DP). Em A, auto-radiografia típica: quantidades iguais de proteína foram submetidas a SDS-PAGE (185 µg). Em B, valores do grau de fosforilação em tirosina, expressos em unidades arbitrárias, são apresentados como média + EPM de 5 experimentos.

* p<0,05 vs. Insulina (+)

p<0,02 vs. Prole SHAM (+)

ANEXOS

Figura I	Animais antes do experimento	72
Figura II	Anestesia	72
Figura III	Mesa cirúrgica	72
Figura IV	Antissepsia do animal	72
Figura V	Cavidade abdominal exposta	72
Figura VI	Coleta de sangue	72
Figura VII	Balança utilizada para pesar os animais	73
Figura VIII	Anestésico Utilizado	73
Figura IX	Kit utilizado para medir a glicemia	73
Figura X	Insulina e cânula utilizados	73
Figura XI	Kit utilizado para radioimunoensaio	73

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Características dos ratos adultos Prole SHAM e Prole DP.

Valores

55

são média \pm EPM de 7 ratos. O índice de HOMA-IR foi calculado utilizando-se glicemia (mmol/L) e insulinemia (μ U/mL) de jejum.

*P<0,05 vs. Prole SHAM

SUMÁRIO

Capítulo 1

Doença periodontal, Baixo peso ao nascimento e Diabetes Mellitus.....	23
Resumo	24
Abstract	25
Introdução.....	26
Doença Periodontal influenciando o nascimento prematuro de bebês com baixo peso.....	28
Diabetes como consequência do baixo peso ao nascimento	33
Conclusão.....	36
Referências.....	37

Capítulo 2

Avaliação da sensibilidade à insulina e transdução do sinal insulínico em ratos adultos, proles de ratas com doença periodontal.....	43
Resumo	44
Abstract	46
Introdução.....	48
Materiais e Métodos.....	50
Resultados	54
Discussão	59
Conclusão.....	66
Referências.....	67

Anexos

Figuras	72
Anexo A.....	74
Anexo B.....	75
Anexo C.....	81

CAPÍTULO 1

DOENÇA PERIODONTAL, BAIXO PESO AO NASCIMENTO E DIABETES MELLITUS

RESUMO

Prado RL. **Doença periodontal, Baixo peso ao nascimento e Diabetes Mellitus.** Araçatuba, 2008. 90p. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva e Social) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

Nos dias atuais, a crescente incidência de diabetes mellitus no mundo torna fundamental a idéia de se identificar fatores de risco que levam ao desenvolvimento da doença e proporcionar sua prevenção. Diversos estudos têm levado a considerar as condições bucais não mais de maneira isolada, mas em suas relações com o corpo humano. Este posicionamento também é válido para as periodontopatias, que têm sido apontadas por diversos estudos como fator de risco para o desenvolvimento de doenças, entre elas o parto prematuro de bebês com baixo peso e o diabetes mellitus. O nascimento prematuro sobressai-se como o maior problema peri-natal em muitos países, contribuindo substancialmente para a mortalidade infantil e para o desenvolvimento de uma infância repleta de problemas. Há ainda estudos que apontam que adultos que nasceram com baixo peso tem um maior risco de desenvolver diabetes mellitus na vida adulta. A revisão destes estudos demonstra a inter-relação entre estas doenças e alguns dos mecanismos biológicos envolvidos, buscando alertar quanto ao estilo de vida propício ao desenvolvimento de periodontopatias e a busca por hábitos preventivos, além da necessidade de mais estudos para elucidar os mecanismos envolvidos nesta inter-relação.

Descritores: Doença Periodontal; Baixo peso ao nascer; Diabetes Mellitus

ABSTRACT

Prado RL. **Periodontal disease, low birth weight and Diabetes mellitus.** Araçatuba, 2008. 90p. Thesis (Master Degree in Preventive and Public Health Dentistry) – Dental School, São Paulo State University.

Currently, the increasing incidence of diabetes mellitus in the world makes the idea of identifying risk factors which can lead to the development of the disease and ways to prevent it as an important matter. Several studies have considered oral conditions in an integrated approach with the general health conditions. This approach is also valid for periodontal diseases, which have been pointed as a risk factor for the development of some diseases, like preterm birth, low weight babies and diabetes mellitus. Premature birth has been pointed out as the major prenatal problem in several countries, contributing substantially with infant mortality and the development of other infant problems. There are also studies showing that adults with a preterm birth history have a higher risk of developing diabetes mellitus. The review of these researches demonstrate the inter-relation between these diseases and some of the involved biological mechanisms, aiming to alert population about life style conditions which can lead to periodontal diseases and also to promote preventive measures, as well as the need of more studies to elucidate the involved mechanisms of this inter-relation.

Keywords: Periodontal Disease; Low Birth Weight; Diabetes Mellitus

Introdução¹

Nos dias atuais, há consenso dentro da área odontológica no que diz respeito ao fato de que infecções crônicas nos dentes e em seus periodontos, mesmo que não tragam qualquer desconforto ao paciente, tem grande potencial de progredir para lesões insidiosas, eventualmente fatais. Diversas evidências têm levado a considerar as condições bucais não mais de maneira isolada, mas em suas relações com o corpo humano (1,2,3). Este posicionamento também é válido para as periodontopatias, que têm sido apontadas por diversos estudos como fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, acidentes vascular-cerebrais, pneumonias e diabetes mellitus (2,4).

Doença periodontal (DP) é um nome genérico que engloba uma série de alterações patológicas que ocorrem no periodonto, e embora existam inúmeras classificações, elas podem ser divididas em dois grandes grupos: gengivite e periodontite. Na gengivite apenas o tecido gengival está alterado. Na periodontite, além dos tecidos moles, os tecidos duros (ossos, ligamento e cimento) são alterados (5).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que varia de 10% a 15% a prevalência mundial de doença periodontal com bolsas periodontais de 6mm ou mais na população adulta (6).

A doença periodontal também tem sido indicada como um dos fatores responsáveis pelo nascimento prematuro de bebês com baixo peso (1,2,5,7,8,9).

¹ Formatado Segundo as normas da Revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia

Esta alteração é considerada o maior problema peri-natal em muitos países, contribuindo substancialmente com a mortalidade infantil e com o desenvolvimento de uma infância repleta de problemas (2).

Estudos recentes indicam a doença periodontal materna como um fator de risco 7 vezes maior que qualquer outro para o parto prematuro com bebês de baixo peso (2).

Há ainda indícios de que a periodontite durante a gravidez pode aumentar os níveis de mediadores inflamatórios, tais como Interleucina (IL) e Fator de necrose tumoral α (TNF- α), que penetram na corrente circulatória e causam ruptura precoce da membrana placentária e nascimento pré-termo, e como consequência, baixo peso do recém-nascido (10).

Kim et al (11) apontam que adultos que nasceram com baixo peso tem um maior risco de desenvolver diabetes mellitus (tipo 2), o que pode estar correlacionado com a hipótese de que a síndrome metabólica está associada ao estado nutricional, ou seja, má nutrição durante os períodos fetal e neonatal dificulta o desenvolvimento da função endócrina no pâncreas, resultando em disfunção da secreção de insulina pelas células β .

Diante desses fatos, esta revisão propõe-se a discorrer sobre dados relevantes na literatura que alicercem o envolvimento das periodontopatias, parto prematuro de bebês com baixo peso e suas inter-relações com o desenvolvimento de diabete mellitus na vida adulta.

DOENÇA PERIODONTAL INFLUENCIANDO O NASCIMENTO PREMATURO DE BEBÊS COM BAIXO PESO

O atual conceito de prematuridade considera como bebê prematuro com baixo peso ao nascimento todo recém-nascido com menos de 37 semanas de gestação e com peso inferior a 2.500 gramas. (7,12)

Moliterno et al (13), em estudo para verificar a associação entre ocorrência de doença periodontal materna e baixo peso do neonato, avaliaram 151 mulheres brasileiras, analisando o tempo de gestação, o peso ao nascimento dos bebês e a ocorrência de doença periodontal. Com base nessa amostra, os autores concluíram que a periodontite é um fator de risco para baixo peso ao nascimento, similar a outros fatores de risco já reconhecidos pelos obstetras, como infecção geniturinária, hipertensão arterial materna e hemorragia durante o parto.

O estudo de Louro et al (5) realizado em mulheres sugeriu a possibilidade de uma relação causal entre doença periodontal materna e baixo peso ao nascer, mas uma conclusão definitiva é prejudicada pelo pequeno número de pacientes em cada grupo.

Lopez et al (14,15) mostraram que a doença periodontal é um fator de risco para parto prematuro e baixo peso ao nascimento. Lopez et al(15,16) concluíram que o tratamento periodontal em mulheres grávidas reduziu significativamente a taxa de nascimentos prematuros com baixo peso ao nascimento.

Apoiando-se em estudos laboratoriais, Offenbacher e seus colaboradores desenvolveram uma série de estudos clínicos de caso-controle. O primeiro deles

em 1996 (7), com 93 mães de bebês prematuros com baixo peso ao nascimento (PLBW), utilizou níveis clínicos de inserção periodontal como medida de saúde do periodonto. Este trabalho mostra que mães com doença periodontal ativa apresentam risco até sete vezes maior de terem bebês prematuros com baixo peso. No estudo subsequente, os autores mediram os níveis de PGE2 e interleucina 1 (IL-1) no fluido crevicular gengival e os níveis de quatro patógenos periodontais em 48 mães de PLBW. Os níveis de PGE2 e dos quatro patógenos foram estatisticamente maiores em mães de PLBW e a associação inversa entre peso ao nascimento (assim como idade gestacional) e níveis de PGE2 nas mães primigestas demonstrou uma relação dose-resposta para o aumento de PGE2 como um marcador da atividade da doença periodontal e o decréscimo do peso ao nascimento (17). Em seguida, o grupo de Offenbacher (1999) (18) analisou amostras sanguíneas do cordão umbilical com o intuito de identificar a presença da imunoglobulina M (IgM) contra vários patógenos periodontais. No grupo PLBW, 33,3% tiveram teste positivo, enquanto somente 17,9% do grupo peso normal tiveram positivo. Esta resposta imune fetal sugeriu que a infecção periodontal materna pode induzir a uma mudança sistêmica no feto dentro do útero. Mais recentemente, em um estudo prospectivo de cinco anos, Offenbacher e colaboradores (2001) (19) avaliaram 812 pacientes e os resultados preliminares reafirmaram a hipótese da incidência e progressão da doença periodontal materna como um fator de risco para o PLBW e restrição do crescimento fetal.

Em contrapartida, alguns estudos não demonstram essa mesma correlação, ou seja, entre PLBW, restrição crescimento fetal e doença periodontal materna. A possível relação entre a infecção periodontal materna de severidade baixa à moderada e o nascimento de bebês prematuros de baixo peso foi investigada por

Cardoso (1999) (20), que não encontrou associação significativa entre estes parâmetros. Silva *et al*(2002) (21) examinaram 89 grávidas no terceiro trimestre do período gestacional, utilizando o Índice Periodontal Comunitário de Necessidade de Tratamento (CPITN); embora as puérperas com ocorrência de parto a pré-termo e nascimentos de baixo peso exibissem escores médios (CPITN) mais altos do que as puérperas com ocorrência de parto a termo, as diferenças não foram significativas. Davenport *et al* (2002) (22), em um estudo caso-controle realizado entre 236 mulheres com parto pré-termo e 507 controles, não encontraram nenhuma relação entre a doença periodontal materna, diagnosticada através de mensurações clínicas da profundidade de bolsa periodontal, nível de inflamação dos tecidos periodontais e do índice CPITN, e a ocorrência de PLBW.

Na doença periodontal pode-se verificar a presença de citocinas, que são proteínas de baixo peso molecular com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e resposta do sistema imune (23).

Lin *et al*(24) observaram que o aumento de TNF- α (citocina inflamatória) e redução de IL-10 (citocina antiinflamatória) no soro materno são diretamente relacionados com a restrição do crescimento fetal.

O TNF- α é apontado como um forte candidato a induzir resistência insulínica (25). Esta citocina também é produzida por adipócitos e está aumentada no tecido adiposo de roedores (26) e humanos obesos (27). Demonstrou-se que o tratamento com TNF- α leva à redução da autofosforilação do receptor da insulina estimulada pela própria insulina e inibição subsequente da fosforilação de IRS-1 (28,29,30,31). Além disso, o TNF- α induz a modificação do IRS-1 por fosforilação em serina (30,32), o que torna essa molécula inibitória para a sinalização do

receptor de insulina. Demonstrou-se também que a neutralização dos efeitos do TNF- α , em ratos obesos, provocou aumento da sensibilidade insulínica (26,33). Observou-se que camundongos deficientes em TNF- α permaneceram sensíveis à insulina quando colocados em dieta rica em gordura (34).

Já em relação ao parto prematuro, uma explicação plausível pode ser atribuída à presença de mediadores inflamatórios tais como prostaglandinas E2 (PGE2) que podem ser encontradas tanto no processo de inflamação periodontal quanto exercendo regulação no processo fisiológico do parto. Os níveis de PGE2 no fluido amniótico aumentam constantemente ao longo da gravidez até que um nível limiar crítico é alcançado induzindo o parto. (17). Com a presença da doença periodontal, esse nível pode ser alcançado mais rapidamente, provocando conseqüentemente nascimento pré-termo.

Damare et al(35) mostraram uma correlação positiva entre os níveis amnióticos de prostaglandina E2 e interleucina (IL)-1B e suas concentrações no fluido do sulco gengival.

Offenbacher et al, (17) avaliaram o biofilme e o fluido do sulco gengival de mães que tiveram partos prematuros com bebês com baixo peso ao nascimento e mães com tempo normal de gestação e bebês com peso normal, mostrando que em mães de PLBW havia uma elevação significativa nos níveis de PGE2 no fluido do sulco gengival e uma microbiota no biofilme consistente com periodontite progressiva.

Comparando as citocinas do fluido amniótico de mulheres que tiveram partos prematuros com mulheres que tiveram partos a termo foi observado um aumento dos níveis de IL-6, TNF- α (36,37) IL-1 alfa, IL-1 beta e PGE2 no fluido amniótico das mulheres que tiveram parto pré-termo (36).

Em trabalho feito por Dörbudak et al, (38), constatou-se que mulheres grávidas com níveis elevados no fluido amniótico de PGE2, IL-6 e IL-8 entre 15^a – 20^a semana de gravidez e com periodontite tem risco aumentado para parto prematuro.

DIABETES COMO CONSEQÜÊNCIA DO BAIXO PESO AO NASCIMENTO

Dabelea et al (39) ressaltam a associação entre aumento do risco de diabetes tipo 2 em pessoas que tiveram baixo peso ao nascimento, sugerindo como principais causas: privação alimentar impedindo o crescimento corporal durante a vida fetal e o correto desenvolvimento do pâncreas endócrino, efeitos de genes causando baixo peso e posteriormente anormalidades na secreção e sensibilidade à insulina. O autor reforça que ainda é desconhecido se a relação entre baixo peso ao nascimento é mediada através da redução da secreção de insulina ou da resistência à insulina

Estes fatos sugerem, dentre outras coisas, que uma nutrição deficiente durante o período fetal pode causar mudanças estruturais e funcionais no pâncreas, e conseqüentemente pode desencadear diabetes, hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina e outras desordens metabólicas. (11)

Na literatura há ainda diversos relatos da associação de baixo peso ao nascer e posterior desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) na vida adulta da prole (11,40,41).

No âmbito da saúde pública, o *diabetes mellitus* (DM) é considerado um problema em ascendência, oneroso do ponto de vista social e econômico e com potencial reconhecido para prevenção (42). É uma doença crônica causada por

uma deficiência do pâncreas na produção de insulina, ou por incapacidade da insulina exercer adequadamente suas funções (43).

Atualmente existe uma grande incidência e prevalência de diabetes. Em 1985, eram 30 milhões de pacientes no mundo todo. Uma década mais tarde, o número triplicou (135 milhões). No ano de 2000 existiam 177 milhões de pessoas portadoras de DM, e estimativas da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) apontam que este quadro deverá aumentar para 370 milhões até o ano de 2030. Aproximadamente quatro milhões de mortes ao ano são atribuídas a complicações do diabetes no mundo. Os custos de atenção ao diabetes variam de 2,5% a 15% dos orçamentos anuais da saúde, dependendo da prevalência local e do nível de complexidade dos tratamentos disponíveis (43).

King *et al* (44) apontaram o Brasil na sexta posição entre os dez países com maior número de indivíduos adultos diabéticos, com 4,9 milhões de pessoas portando esta patologia. Estimaram ainda, que este número tende a aumentar para 11,6 milhões entre os anos de 1995 e 2025, quando passará a ocupar a oitava posição.

Existem dois tipos principais de diabetes, que são o diabetes tipo 1 (DM1) e o diabetes tipo 2 (DM2). O DM1 é quando o pâncreas não produz a insulina essencial à sobrevivência. Esse tipo de diabetes ocorre mais freqüentemente nas crianças e nos adolescentes, mas também pode ocorrer em pessoas com mais idade (43). O DM1, segundo a Organização Mundial da Saúde, é uma das mais importantes doenças crônicas da infância (45). Nos Estados Unidos da América, dos 651 mil casos novos diagnosticados a cada ano, 11 mil são em crianças e

adolescentes (46). Os pais dessas crianças enfrentam vários tipos de problemas, sendo que os mais freqüentes estão relacionados à administração de insulina, dieta, dinâmica familiar e testes de glicose no sangue e na urina (47).

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) resulta da incapacidade do corpo de responder adequadamente à ação da insulina produzida pelo pâncreas. O DM2 ocorre com maior freqüência nos adultos, mas está sendo observado cada vez mais, nas crianças e nos adolescentes. A maioria dos diabéticos apresenta este tipo da doença (43). A resistência à insulina no tecido e os níveis elevados de insulina plasmática em jejum, alterações bastante freqüentes em indivíduos obesos, parecem ser os primeiros sinais para o desenvolvimento do DM2. Este tipo de diabetes tem contribuído com mais de 30% dos novos casos de diabetes, mostrando uma possível relação do aumento da prevalência de obesidade infantil com o desenvolvimento desta doença (48). Além disso, o diabetes mellitus (DM) pode ocasionar morbidade e mortalidade precoce (49).

O ambiente fetal tem sido apontado como possível fator causal de DM2, uma vez que há a sugestão de um fenômeno conhecido como “programming”, o qual alude que um estímulo ou agressão durante um período crítico da vida intra-uterina resulta em alterações na fisiologia e metabolismo também durante a vida adulta (50).

CONCLUSÃO

A existência da relação direta entre baixo peso ao nascimento e desenvolvimento de diabetes na vida adulta já foi observada por diversos autores. Quanto à inter-relação entre a doença periodontal materna e parto prematuro de bebês com baixo peso, não existe um consenso entre os resultados observados. Por este motivo, não se pode inferir que a doença periodontal ocasiona baixo peso ao nascimento e que isto poderia predispor ao desenvolvimento de diabetes mellitus na vida adulta. Desta forma, recomenda-se a realização de mais estudos para obter uma avaliação mais conclusiva.

REFERÊNCIAS

1. Collins JG et alii. Effects of a *Porphyromonas gingivalis* infection on inflammatory mediator response and pregnancy outcome in the hamster. **Infect. Immun.** 1994; 62: 4356-61.
2. Qureshi A. et al. Periodontal infection: A potential risk factor for Pre-term Delivery of Low Birth Weight (PBLW) Babies. **J. Pak. Med. Assoc.** 2005; **55** (10).
3. Lunardelli AN, Peres MA. Is there association between periodontal disease, prematurity and low birth weight? A population-based study. **J. Clin. Periodontol.** 2005; 32:938-946.
4. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological Relationships Between Periodontitis and Systemic Disease: Recent Concepts Involving Serum Lipids. **J. Periodontol.** 2000; 71 (8): 1375-1384.
5. Louro PM, Fiori HH, Louro Filho P, Steibel J, Fiori RM. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. **J. Pediatr. (Rio J).** 2001; 77 (1): 23-8.
6. Petersen PE. The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century – the approach of the WHO Global Oral Health Programme. **Community Dent. Oral Epidemiol.** 2003; 31 (Supl. 1): 3-24.
7. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et alii. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight **J. Periodontol.** 1996; 67: 1103-13.
8. Vettore MV, Sheiman A, Peres MA. Associação entre o baixo peso ao nascer e doença periodontal. **Rev. Saúde Pública.** 2006; 40 (1): 181-3.
9. Alves RT, Ribeiro RA. Relationship between maternal periodontal disease and birth of preterm low weight babies. **Braz. Oral Res.** 2006; 20(4) São Paulo.
10. Galvão MPA, Rosing CK, Ferreira MBC. Effects of ligature-induced periodontitis in pregnant Wistar rats. **Pesq. Odontol. Bras.** 2003; 17 (1): 51-5.

11. Kim CS et al. The Relation between Birth Weight and Insulin Resistance in Korean Adolescents. **Yonsei Medical Journal**. 2006; 47 (1): 85-92.
12. World Health Organization. The incidence of low birth weigh: A critical review of available information. *World Health Statis Quart* 1980; 33(3):197-224.
13. Moliterno LFM, Monteiro B, Da Silva Figueredo CM, Fischer RG. Association between periodontitis and low birth weight: a case-control study. **J. Clin. Peridontol**. 2005; 32:886-890.
14. Lopez NJ, Smith PC, Gutierrez J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. **J Dent Res**. 2002; 81: 58-63.
15. Lopez NJ, Smith PC, Gutierrez J. Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. **J Periodontol**. 2002; 73(8):911-24.
16. Lopez NJ. Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in women with pregnancy-associated gingivitis. **J Periodontol**. 2005; 76(11 Suppl):2144-53..
17. Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Wells SR, Saivi GE, Lawrence HP, et alii. Potencial pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. **Ann. Periodontol**. 1998; 3: 233-50.
18. Offenbacher S, Madianos PN, Suttle ML. Elevated human IgM suggests in utero exposure to periodontal pathogens. **J Dent Res** 1999;78:2191.
19. Offenbacher S, Leff S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CME, et alii. Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. **Ann Periodontol** 2001; 6(1):164-174.
20. Cardoso EOC. Estudo das doenças periodontais em gestantes e seu impacto no nascimento de crianças prematuras e/ou baixo peso [Mestrado]. Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1999. 74 p.
21. Silva APB et al. Periodontal Infections and pre-term Low Birth Weight. Disponível em: URL: <http://iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=3197> [2007 ago.7].

22. Davenport ES, Williams CECS, Sterne JAC, Murad S, Sivapathasundram V, Curtis MA. Maternal periodontal disease and preterm low birth weight: case-control study. **J. Dent Res** 2002; 81(5):313-318.
23. Carvalho MHC, Colaço AL, Fortes ZB. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2006; 50(2).
24. Lin D, Smith MA, Champagne C, Elter J, Beck J, Offenbacher S. *Porphyromonas gingivalis* infection during pregnancy increases maternal tumor necrosis alpha, suppresses maternal interleukin-10, and enhances fetal growth restriction and resorption in mice. **Infection and Immunity**, 2003; 71 (9): 5156-5162,
25. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triagle. **Int J Obesity** 2002; 26:S28-S38.
26. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science** 1993; 259: 87– 91.
27. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factoralpha in human obesity and insulin resistance. **J Clin Invest** 1995;95: 2409 – 2415.
28. Feinstein R, Kanety H, Papa MZ, Lunenfeld B, Karasik A. Tumor necrosis factor-alpha suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. **J Biol Chem** 1993; 268: 26055 – 26058.
29. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. **Proc Natl Acad Sci USA** 1994; 91: 4854 – 4858.
30. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-a. **Science** 1996; 271: 665 – 668.
31. Kroder G, Bossenmaier B, Kellerer M, Capp E, Stoyanov B, Muhlhofer A, Berti L, Horikoshi H, Ullrich A, Haring H. Tumor necrosis factor-alpha- and hyperglycemia-induced insulin resistance. Evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. **J Clin Invest** 1996; 97: 1471 – 1477.

32. Kanety H, Feinstein R, Papa MZ, Hemi R, Karasik A. Tumor necrosis factor alpha-induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1. *J Biol Chem* 1995; 270: 23780 – 23784.
33. Cheung AT, Ree D, Kolls JK, Fuselier J, Coy DH, Bryer-Ash M. An in vivo model for elucidation of the mechanism of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-induced insulin resistance: evidence for differential regulation of insulin signaling by TNF-alpha. *Endocrinology* 1998; 139: 4928 – 4935.
34. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-alpha function. *Nature* 1997; 389: 610– 614
35. Damare, SM, Wells S, Offenbacher S. Eicosanoids in periodontal diseases: potential for systemic involvement. **Adv Exp Med Biol.** 1997; 433: 23–35.
36. Hillier SL, Witkin SS, Krohon MA, Watts DH, Kiviat NB, Eschenbach DA. The relationship of amniotic fluid cytokines and preterm delivery, amniotic fluid infection, histologic chorioamnionitis, and chorioamnion infection. **Obstet Gynecol.** 1993; 81(6):941-8
37. Hitti J. Tarczy-Hornoch P, Murphy J, Hillier SL, Aura J, Eschenbach DA. Amniotic Fluid Infection, Cytokines, and Adverse Outcome Among Infants at 34 Weeks' Gestation or Less. **Obstet Gynecol.** 2001; 98: 1080–8.
38. Dörtbudak O, Eberhardt R, Ulm M, Persson GR. Periodontitis, a marker of risk in pregnancy for preterm birth. **J Clin Periodontal.** 2005; 32:45-52.
39. Dabelea D, Pettitt DJ, Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Birth Weight, type 2 Diabetes, and Children and Young Adults. **Diabetes Care.** 1999; 22(6).
40. Horáková D, Janoutová G, Janout V. Insulin resistance and birth weight. **Biomed. Papers.** 2005; 149 (1): 173-176.
41. Vaag A et al. Metabolic aspects of insulin resistance in individuals born small for gestational. **Horm. Res.** 2006; 65 (Supl. 3): 137-43.
42. Georg AE, Duncan BB, Toscano CM. Análise econômica de programa para rastreamento do diabetes mellitus no Brasil. **Rev. Saúde Pública.** 2005; 39 (3):452-60.

43. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde: Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde: Brasília, 2003 60p.
44. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabete, 1995-2005. Prevalence, numerical and projections. **Diabetes Care**. 1998; 21 (9): 1414-31.
45. Zanetti ML, Mendes IAC. Análise das dificuldades relacionadas às atividades diárias de crianças e adolescente com diabetes mellitus tipo1: Depoimento de mães. **Rev. Latino-Americana de Enfermagem**. 2001; 9(6): 25-30.
46. Pond JS, Peters ML, Pannell DL, Rogers CS. Psychosocial challenges for children with insulin-dependent diabetes mellitus. **Diabetes Educ**. 1995; 21(4): 297-9.
47. Warzak WJ, Majors CT, Ayllon T, Milan MA, Delcher HK. Parental versus professional perceptions of obstacles to pediatric diabetes care. **Diabetes Educ**. 1993; 19(2): 121-4.
48. Oliveira CL, Mello MT, Cintra IP, Fisberg M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. **Revista de Nutrição**. 2004; 17(2): 237-245.
49. Ferreira SRG. *et al*. Intervenção na Prevenção do Diabetes Mellitus tipo 2: É viável um programa Populacional em nosso Meio? **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**. 2005; 49 (4): 479-484.
50. Reynolds RM, Phillips DIW. Long term consequences of intrauterine growth retardation. **Horm. Res**. 1998; 49 (supl. 2): 28-31.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA E TRANSDUÇÃO DO SINAL INSULÍNICO EM RATOS ADULTOS, PROLES DE RATAS COM DOENÇA PERIODONTAL

RESUMO

Prado RL. **Avaliação da sensibilidade à insulina e transdução do sinal insulínico em ratos adultos, proles de ratas com doença periodontal.** Araçatuba, 2008. 90p. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva e Social) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

A doença periodontal durante a gravidez tem sido apontada como um dos fatores causais para o nascimento prematuro e o baixo peso ao nascer. Muitos estudos têm mostrado que bebês que nascem com baixo peso têm maior probabilidade de desenvolver resistência à insulina na vida adulta. Contudo, não encontramos na literatura nenhum estudo que correlacione diretamente ratas com doença periodontal, filhotes com baixo peso ao nascer e posterior desenvolvimento de diabetes nestes filhotes. O objetivo do presente estudo foi avaliar a sensibilidade à insulina (SI) e transdução do sinal insulínico (TSI), em ratos adultos, proles de ratas com doença periodontal. Nesta pesquisa, foram utilizados ratos Wistar (2 meses de idade). Previamente, as ratas foram divididas em dois grupos: 1) com doença periodontal (DP), no qual esta doença foi induzida por uma ligadura colocada no 1º molar inferior esquerdo; 2) ratas submetidas apenas a um afastamento dental (SHAM). Após 7 dias da colocação da ligadura, as ratas de ambos os grupos foram colocadas para acasalamento. Após o nascimento das proles, somente os filhotes machos foram divididos em dois grupos: 1) Filhotes de ratas DP (Prole DP); 2) Filhotes de ratas SHAM (Prole SHAM). O peso corpóreo das proles foi aferido desde o nascimento até completarem 75 dias. Após este período, realizou-se a avaliação da SI e TSI em tecidos sensíveis à insulina. A partir desses resultados podemos enfatizar a importância de evitar uma doença

localizada como a Doença Periodontal, no intuito de prevenir uma doença crônica como o Diabetes Mellitus.

Apoio: CAPES e FAPESP

Palavras-chave: Doença Periodontal; Baixo peso ao nascer; Diabetes Mellitus, Resistência à Insulina.

ABSTRACT

Prado RL. **Evaluation of insulin sensitivity and insulin signal transduction in adult rats offspring from female rats with periodontal disease.** Araçatuba, 2008. 90p. Thesis (Master Degree in Preventive and Public Health Dentistry) – Dental School, São Paulo State University.

The periodontal disease during pregnancy has been referred as one of the causal factors for preterm birth and low birth weight. Several studies have shown that low weight babies are more likely to develop insulin resistance in adult life. However, we found no study in the literature that correlates directly rats with periodontal disease, offspring with low birth weight and later development of diabetes in these offspring. This study aimed to investigate the insulin sensitivity (IS) and insulin signal transduction (IST) in adult rats and offspring of female rats with periodontal disease. Wistar rats (2 months of age) were used in this research. Previously, the female rats were divided into two groups: 1) with periodontal disease (PD), in which the disease was induced by a ligature placed around mandibular left first molar; 2) rats submitted to only one dental movement (SHAM). After 7 days of the placement of the ligature, the rats of both groups were placed for mating. After the birth of offspring, only male offspring were divided into two groups: 1) offspring of PD female rats (Offspring PD), 2) offspring of SHAM female rats (Offspring SHAM). The offspring body weight was assessed from birth until completed 75 days of age. After this period, the evaluations of the IS and IST, in insulin-sensitive tissues, were performed. From these results we can

emphasize the importance of preventing a disease located as Periodontal Disease, in order to prevent a chronic disease such as Diabetes Mellitus.

Support: CAPES and FAPESP.

Keywords: Periodontal Disease; Low Birth Weight; Diabetes Mellitus; Insulin Resistance.

Introdução²

Atualmente existe um consenso dentro da área odontológica de que infecções crônicas nos dentes e no periodonto, mesmo que não induzam qualquer desconforto ao paciente, potencialmente podem progredir para lesões insidiosas, eventualmente fatais. Assim, diversas evidências consideram as condições bucais não mais de maneira isolada, mas em suas relações com o corpo humano.¹⁻³ Esta afirmação também é válida para as periodontopatias, uma vez que estas têm sido apontadas por diversos estudos como fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, acidentes vasculares cerebrais, pneumonias e diabetes mellitus.^{2,4}

A Doença Periodontal (DP) ainda tem sido indicada como um dos fatores responsáveis pelo nascimento prematuro de bebês com baixo peso (NPBP),^{1,2,5-8} sendo considerado o maior problema peri-natal em muitos países, contribuindo substancialmente com a mortalidade infantil e com o desenvolvimento de uma infância repleta de problemas.²

Há indícios de que a DP durante a gravidez pode aumentar as bactérias ou mediadores inflamatórios (Interleucina, Fator de necrose tumoral α - TNF- α) que penetram na corrente circulatória e causam uma ruptura prematura da membrana e nascimento pré-termo, e como conseqüência, baixo peso do recém-nascido.⁹ Em adição, Lin et al (2003)¹⁰ observaram que o aumento de TNF- α e a redução de IL-

² Formatado segundo as normas da Revista Journal of Periodontology

10 no soro materno estão relacionados diretamente com a restrição do crescimento fetal.

Na literatura constantemente tem sido relatado a associação de baixo peso ao nascer e posterior desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) na vida adulta desta prole.¹¹⁻¹³

Uma epidemia de DM2 vem sendo observada, com tendência de crescimento na próxima década.^{14, 15} As complicações do DM2, tanto micro como macro-vasculares, são consideradas como uma das maiores ameaças à saúde em todo o mundo, com imensos custos econômicos e sociais, adquirindo uma grande visibilidade na saúde pública.¹⁶

Sabendo-se da possível inter-relação entre DP durante a gestação, parto prematuro e baixo peso ao nascer; e ainda que este baixo peso pode ocasionar o desenvolvimento do diabetes mellitus na vida adulta, tornou-se fundamental averiguar a existência da relação entre DP materna, baixo peso ao nascimento e desenvolvimento de DM2 na prole (vida adulta), avaliando: 1) peso ao nascimento 2) sensibilidade à insulina; 3) o grau de fosforilação em tirosina da pp185 (IRS-1/IRS-2), após o estímulo insulínico, em tecidos sensíveis à insulina; 4) glicemia e insulinemia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos realizados estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de ética na experimentação animal da Faculdade de Odontologia do “Campus” de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (protocolo nº 43/06).

Animais

Foram utilizados ratos Wistar, mantidos em ambiente de 12/12 horas de claro e escuro, temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$ e com livre acesso a dieta regular (Guabi) e água de torneira. Previamente, 20 ratas pesando ao redor de 200g foram divididas em dois grupos: 1) com doença periodontal (DP), no qual esta doença foi induzida por meio da ligadura com fio de seda ao redor do 1º molar inferior esquerdo; 2) ratas submetidas apenas a um afastamento dental (SHAM). Após 7 dias da colocação da ligadura, as ratas de ambos os grupos foram colocadas para acasalamento, verificando-se diariamente, por esfregaço vaginal, o dia da copulação. As ratas prenhas foram separadas em caixas individuais. Após o nascimento das proles, somente os filhotes machos foram divididos em dois grupos: 1) Filhotes de ratas DP (Prole DP); 2) Filhotes de ratas SHAM (Prole SHAM), e a seguir foi avaliado, uma vez por semana, o peso corporal das proles de ambos os grupos. Quando os filhotes completaram 75 dias, foram submetidos a jejum de 14h antes dos experimentos e anestesiados com Tiopental sódico (Thiopentax® 3%, 5mg/ 100g p.c., i.p.). Nestes animais realizou-se a laparotomia mediana, coletou-se sangue pela veia cava inferior, e as amostras de sangue foram transferidas para tubos de

plástico heparinizados e mantidas a 4^oC até a centrifugação a 800 g (4^oC, 15 minutos). O plasma obtido foi armazenado a -20^oC até o dia da quantificação de glicemia e da insulinemia. Outro grupo de animais também anestesiado e sob jejum foi utilizado para quantificar o grau de fosforilação do substrato do receptor de insulina (pp185- IRS-1/IRS-2), após estímulo insulínico em tecidos sensíveis à insulina. Um outro grupo de animais foi submetido ao teste endovenoso de tolerância à insulina.

Teste endovenoso de tolerância à insulina (ITT) curto

Os testes foram realizados pela manhã após jejum de 14 horas. Os animais foram anestesiados, e, sob esta anestesia, realizou-se a canulação da veia jugular direita (cânula de “Sylastic”), introduzindo-se a mesma até a proximidade do átrio (veia cava superior). Esta cânula serviu para a injeção de insulina que foi ministrada na dose de 0,75U / kg p.c.. Amostras de sangue foram colhidas (por secção da cauda) aos 0 (antes da injeção hormonal), 4, 8, 12 e 16 minutos após insulina e a glicemia foi medida utilizando um monitor de glicemia (Accu-Chek Advantage; Roche Diagnostic, Mannheim, Germany, USA). Os resultados foram analisados pela comparação da constante de desaparecimento da glicose (Kitt) de 0 a 16 min de teste conforme descrito anteriormente.¹⁷

Avaliação do grau de fosforilação do substrato do receptor de insulina (pp185 - IRS-1/IRS-2) de insulina

Neste experimento, os animais foram anestesiados, conforme descrito acima, realizando-se em seguida: laparotomia mediana, com retirada de amostras

dos tecidos antes e após a injeção de 1,5 U de insulina regular (i.v. veia porta) em tempos variáveis (90s para o gastrocnêmio, 120s para o tecido adiposo branco periepididimal). Imediatamente após a extração, os tecidos foram homogeneizados em Polytron (24000 rpm durante 10 s) em 2 mL de tampão de extração (Tris 100 mM pH 7,5; EDTA 10 mM; SDS 1%; NaF 100 mM, Pirofosfato de Na 10 mM, Ortovanadato de Na 10 mM), e mantidos em banho-maria (100 °C) durante 10 min, transferidos para gelo, e então centrifugados 16000 g durante 40 min (4 °C). Do sobrenadante foram retiradas alíquotas para determinação da concentração protéica pelo método de Bradford, e para estoque em tampão de Laemmli (azul de bromofenol 0,1%; SDS 10 %; fosfato de sódio 1M pH 7,0; glicerol 50%; DTT15%). Conhecidas as concentrações protéicas das diferentes amostras de tecidos, estas foram submetidas ao método de “Western blotting” para a quantificação do grau de fosforilação da pp185 utilizando anticorpo antifosfotirosina (Santa Cruz Technology, Santa Cruz, CA, USA), de acordo com descrito por Carvalho et al, 1995¹⁸ e Lima et al, 1998.¹⁹

Métodos de análise

Amostras de plasma foram utilizadas para dosagem da glicemia pelo método de glicose oxidase (Glicose Enzimática, ANALISA Diagnóstica, Belo Horizonte, MG, Brasil) e para insulinemia pelo método radioimunológico - RIA (Coat - A - Count, DPC Diagnostics Products, Los Angeles, CA). A resistência à insulina foi avaliada por dois índices: a) HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance-Modelo de Avaliação da Homeostase - Resistência à Insulina),¹⁷ calculado a partir da fórmula, como segue: $HOMA - IR = \text{glicemia de jejum (mmol/L)} \times \text{insulinemia de jejum } (\mu\text{UI/ml}) / 22,5$; b) velocidade de desaparecimento de glicose, Kitt,

calculada pela fórmula $0,693/t_{1/2}$. O $t_{1/2}$ da glicose foi calculado a partir da inclinação da curva de regressão mínima durante a fase linear de declínio da concentração plasmática de glicose²⁰. A concentração total de proteínas das amostras de membrana foi dosada pelo método de Bradford (Bio-Rad Protein Assay - Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA).

Análise estatística

Os valores dos resultados dos grupos, Prole SHAM (controle) e Prole DP (experimental) foram apresentados como média \pm EPM. A análise estatística foi feita pelo método do teste t de Student para amostras não pareadas, e as diferenças entre os dois grupos foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Avaliação do peso corporal (g):

Os resultados do peso corporal dos grupos Prole SHAM e Prole DP foram avaliados semanalmente, desde o nascimento até os 75 dias de idade, estão ilustrados na figura 1. Não houve diferença estatística entre os dois grupos desde o início até o final do experimento.

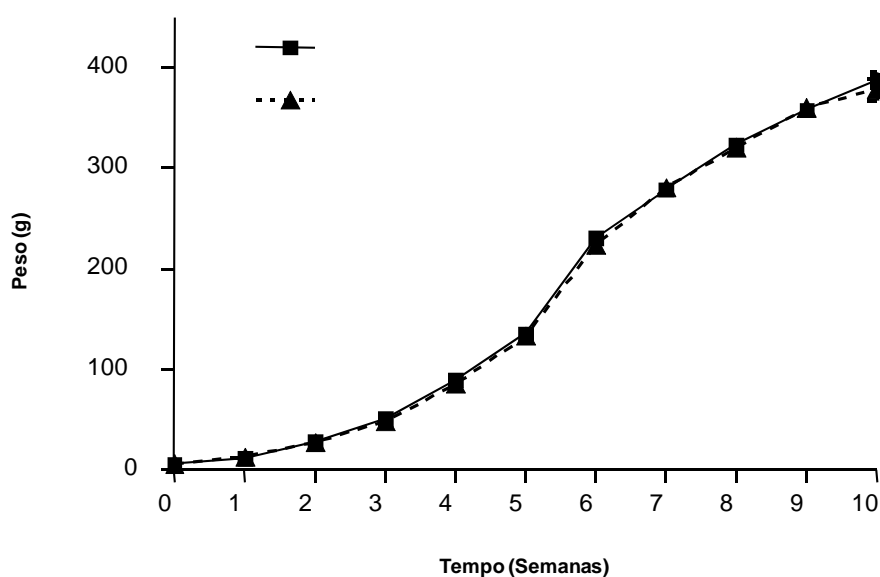


Figura 1 - Peso corpóreo semanal de ratos adultos proles de ratas controle (Prole SHAM) e de ratas com doença periodontal (Prole DP) desde o nascimento até 75 dias de idade. Os valores são apresentados como média \pm EPM de 24 (Prole SHAM) e 24 (Prole DP) animais.

Glicemia e insulinemia e HOMA-IR

A Tabela 1 mostra as características dos ratos. Observa-se que houve diferenças significativas tanto nas glicemias como nas insulinemias de jejum dos grupos Prole SHAM e Prole DP. A partir desses valores calculou-se o índice HOMA-IR para a verificação da presença de resistência à insulina. Por esta tabela constata-se que o valor do índice de HOMA-IR foi significativamente maior no grupo prole DP ($p < 0,05$).

Tabela 1. Características dos ratos adultos Prole SHAM e Prole DP.

Parâmetros	Prole SHAM	Prole DP
Glicemia (mmol/L)	5,34 ± 0,06	5,74 ± 0,17 *
Insulinemia (μU/ml)	8,06 ± 1,21	12,96 ± 1,34*
HOMA-IR	1,92 ± 0,30	3,32 ± 0,38*

Valores são média ± EPM de 7 ratos. O índice de HOMA-IR foi calculado utilizando-se glicemia (mmol/L) e insulinemia (μU/mL) de jejum.

* $P < 0,05$ vs. Prole SHAM

1. Teste endovenoso de Tolerância à Insulina (ITT)

A Figura 2 mostra, graficamente, a velocidade de desaparecimento da glicose (Kitt), durante o teste de tolerância à insulina, realizado nos primeiros 16 minutos após infusão do hormônio, nos animais Prole SHAM e Prole DP. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos estudados nos valores do Kitt.

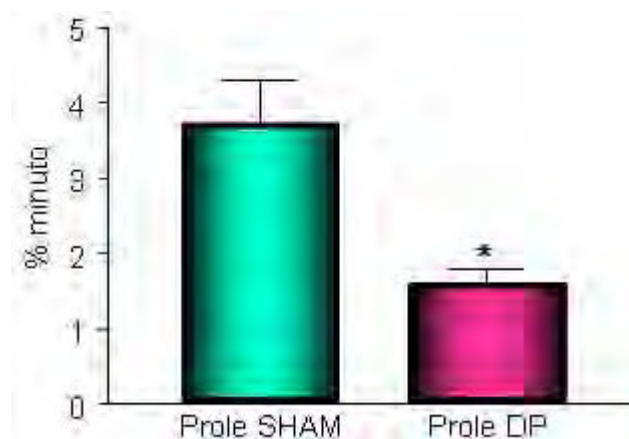


Figura 2 - Velocidade de desaparecimento da glicose (Kitt) em ratos adultos, proles de ratas controle (Prole SHAM) e ratas com doença periodontal (DP). Os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina, i.v. (0,75U / kg p.c.) e as amostras foram coletadas nos tempos 0 (basal), 4, 8, 12, 16 minutos após a injeção de insulina. Os valores são expressos como média \pm EPM de 5 experimentos. * $P < 0,05$ vs. Prole SHAM.

2. Avaliação do grau de fosforilação em tirosina da pp185:

As figuras 3 e 4 mostram as análises do grau de fosforilação em tirosina da pp185, antes (basal) e após estímulo insulínico, no tecido adiposo branco periepididimal (TAB) e tecido muscular gastrocnêmio (G), respectivamente. Nestes dois tecidos observou-se que após estímulo insulínico nota-se redução

significativa ($p < 0,02$) no grau de fosforilação da pp185 no grupo Prole DP em relação ao grupo Prole SHAM. Por outro lado, não se constatou diferenças significativas no estado basal entre os grupos.

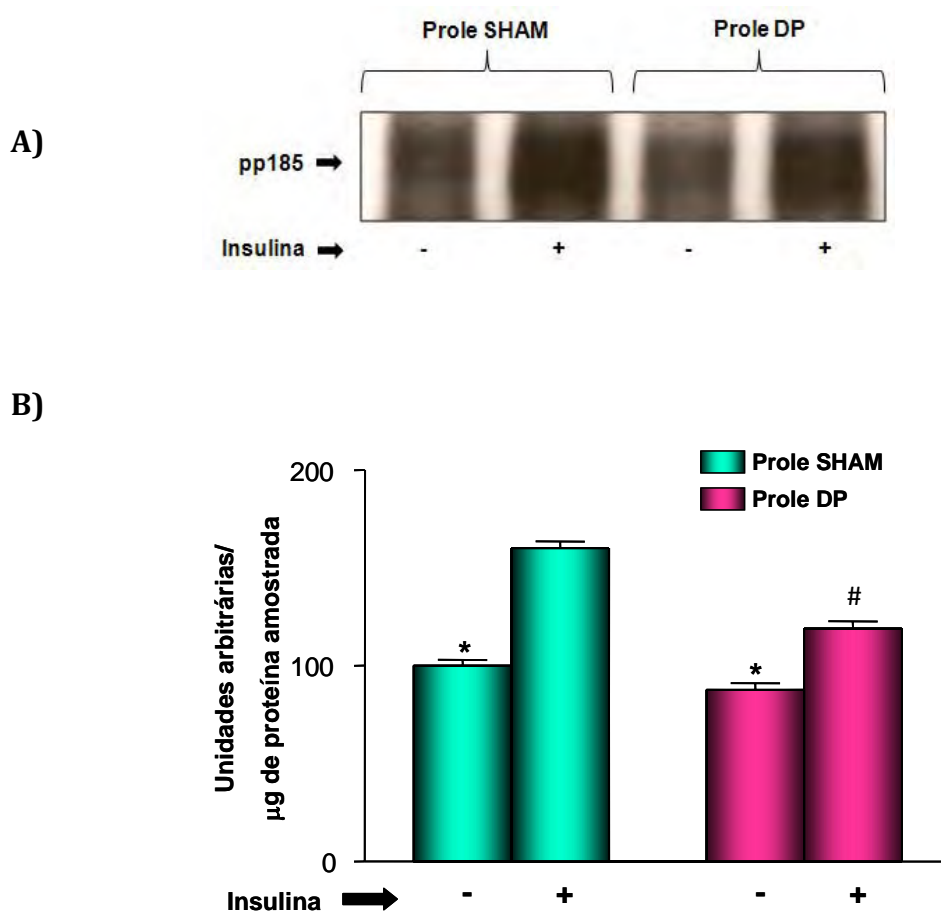


Figura 3 - Avaliação do grau de fosforilação em tirosina da pp185 (IRS-1/IRS-2) antes (-) e após (+) o estímulo insulínico no tecido adiposo branco periepídídimo de ratos adultos proles de ratas controle (Prole SHAM) e de ratas com doença periodontal (Prole DP). Em **A** auto-radiografia típica: quantidades iguais de proteína foram submetidas a SDS-PAGE (185 μg). Em **B**, valores do grau de fosforilação em tirosina, expressos em unidades arbitrárias, são apresentados como média ± EPM de 8 experimentos.

* $p < 0,05$ vs. Insulina (+)

$p < 0,02$ vs. Prole SHAM (+)

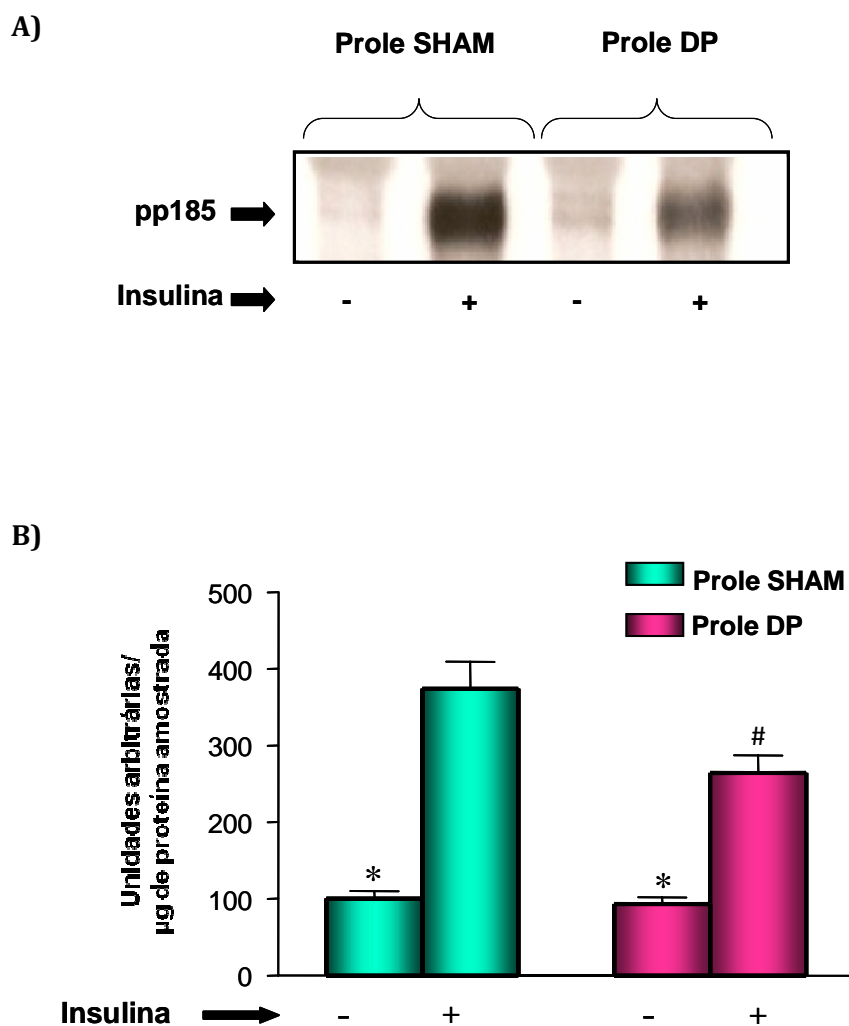


Figura 4 - Avaliação do grau de fosforilação em tirosina da pp185 (IRS-1/IRS-2) antes (-) e após (+) o estímulo insulínico no tecido muscular gastrocnêmio de ratos adultos, proles de ratas controle (Prole SHAM) e ratas com doença periodontal (Prole DP). Em A, auto-radiografia típica: quantidades iguais de proteína foram submetidas a SDS-PAGE (185 μg). Em B, valores do grau de fosforilação em tirosina, expressos em unidades arbitrárias, são apresentados como média + EPM de 5 experimentos.

* $p < 0,05$ vs. Insulina (+)

$p < 0,02$ vs. Prole SHAM (+)

DISCUSSÃO

O diabetes mellitus, no século XXI, é considerado um importante problema de saúde pública em muitos países, principalmente naqueles em desenvolvimento e/ou industrializados. Esse fato tem merecido uma atenção especial da comunidade médica, dos profissionais de saúde, dos governos, da indústria farmacêutica e dos portadores de diabetes.¹⁸

A Organização Mundial de Saúde estima que existam hoje 177 milhões de portadores de diabetes e prevê-se que esse número irá duplicar até o ano de 2030. O Brasil encontra-se entre os 10 países que apresentam maior prevalência de diabetes, juntamente com Índia, China, Estados Unidos, Indonésia, Rússia, Japão, Emirados Árabes Unidos, Paquistão e Itália.¹⁹ Essa verdadeira explosão de casos no mundo, particularmente de DM2, se deve principalmente a mudanças no estilo de vida, urbanização em industrialização, maior expectativa de vida, crescimento de populações mais propensas ao diabetes, alterações demográficas.¹⁸

Kim et alli (2006)¹² aponta que adultos que nasceram com baixo peso tem um maior risco de desenvolver diabetes *mellitus* (tipo 2), o que pode estar correlacionado com a hipótese de que a síndrome metabólica está associada ao estado nutricional – má nutrição durante o período fetal e neonatal dificultaria o desenvolvimento da função endócrina no pâncreas, resultando em disfunção da secreção de insulina pelas células β .

Em estudo epidemiológico realizado na cidade de Bauru, Tomita et al (2002)²⁰ examinaram 1.315 indivíduos nipo-brasileiros na faixa etária entre 30-92 anos. Para o diagnóstico da doença periodontal foi utilizado o Índice Periodontal Comunitário (IPC) e o índice de perda de inserção (PIP). O diagnóstico de diabetes

mellitus foi estabelecido através da glicemia em jejum e de duas horas após sobrecarga com 75 g de glicose. Como resultado, os indivíduos com diabetes foram detentores dos maiores percentuais de bolsas profundas e perdas de inserção maiores que 6mm que os indivíduos normoglicêmicos, quando testados pelo método do Qui-quadrado.

Dabelea et alli (1999)²¹ ressaltam a associação entre aumento do risco de diabetes tipo 2 em pessoas que tiveram baixo peso ao nascimento, sugerindo como principais causas: privação alimentar impedindo o crescimento corporal durante a vida fetal e o correto desenvolvimento do pâncreas endócrino, efeitos de genes causando baixo peso e posteriormente anormalidades na secreção e sensibilidade à insulina. O autor reforça que ainda é desconhecido se a relação entre baixo peso ao nascimento é mediada através da redução da secreção de insulina ou da resistência à insulina. Nossos resultados indicam que o aparecimento de diabetes mellitus na vida adulta da prole DP foi devido a resistência à insulina e não decorrente de redução da secreção insulínica, pois foi observado na nesta prole uma hiperinsulinemia.

Apoiando-se em estudos laboratoriais, Offenbacher e seus colaboradores desenvolveram uma série de estudos clínicos de caso-controle. O primeiro deles em 1996,⁵ com 93 mães de NPBP, utilizou níveis clínicos de inserção periodontal como medida de saúde do periodonto. Houve um aumento significativo NPBP em mães com doença periodontal e que mulheres com doença periodontal ativa poderiam apresentar risco até sete vezes maior de terem bebês prematuros com baixo peso. No estudo subsequente, os autores mediram os níveis de PGE2 e interleucina 1 (IL-1) no fluido cervical gengival e os níveis de quatro patógenos periodontais em 48 mães de filhos NPBP. Os níveis de PGE2 e dos quatro

patógenos foram estatisticamente maiores em mães de NPBP e a associação inversa entre peso ao nascimento (assim como idade gestacional) e níveis de PGE2 nas mães primigestas demonstrou uma relação dose-resposta para o aumento de PGE2 como um marcador da atividade da doença periodontal e o decréscimo do peso ao nascimento.²² Em seguida, o grupo de Offenbacher²³ analisou amostras sanguíneas do cordão umbilical com o intuito de identificar a presença da imunoglobulina M (IgM) contra vários patógenos periodontais. No grupo NPBP, 33,3% tiveram teste positivo, enquanto somente 17,9% do grupo peso normal tiveram positivo. Esta resposta imune fetal sugeriu que a infecção periodontal materna pode induzir a uma mudança sistêmica no feto dentro do útero. Mais recentemente, em um estudo prospectivo de cinco anos, Offenbacher e colaboradores (2001)²⁴ avaliaram 812 pacientes e os resultados preliminares reafirmaram a hipótese da incidência e progressão da doença periodontal materna como um fator de risco para o NPBP e restrição do crescimento fetal.

Em contrapartida, alguns estudos não demonstram essa mesma correlação, ou seja, entre NPBP, restrição crescimento fetal e doença periodontal materna. A possível relação entre a infecção periodontal materna de severidade baixa à moderada e o nascimento de bebês prematuros de baixo peso foi investigada por Cardoso (1999)²⁵, que não encontrou associação significativa entre estes parâmetros. Silva et al (2002)²⁶ examinaram 89 grávidas no terceiro trimestre do período gestacional, utilizando o Índice Periodontal Comunitário de Necessidade de Tratamento (CPITN); embora as puerperais com ocorrência de parto a pré-termo e nascimentos de baixo peso exibissem escores médios (CPITN) mais altos do que as puerperais com ocorrência de parto a termo, as diferenças não foram significativas. Davenport et alli (2002),²⁷ em um estudo caso-controle realizado

entre 236 mulheres com parto pré-termo e 507 controles, não encontraram nenhuma relação entre a doença periodontal materna, diagnosticada através de mensurações clínicas da profundidade de bolsa periodontal, nível de inflamação dos tecidos periodontais e do índice CPITN, e a ocorrência de NPBP. Estes resultados corroboram com nosso estudo, no qual também não foi observada diferença estatística significativa em relação ao peso ao nascimento dos grupos Prole DP e Prole SHAM. Portanto, em nossos estudos, o baixo peso ao nascimento não pode ser considerado como um dos fatores que poderia ocasionar o desenvolvimento de diabetes mellitus na vida adulta da prole DP.

A insulina é um hormônio anabólico com efeitos metabólicos potentes. Os eventos que ocorrem após a ligação da insulina são específicos e estritamente regulados. Definir as etapas que levam à especificidade deste sinal representa um desafio para as pesquisas bioquímicas, todavia podem resultar no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para pacientes que sofrem de resistência à insulina, inclusive o diabetes tipo 2.²⁸

Antes de relatar os resultados referentes ao grau de fosforilação dos grupos SHAM e DP, serão feitos alguns comentários a respeito do sinal insulínico. A ação insulínica inicia-se a partir da ligação do hormônio a um receptor específico que se autofosforila e fosforila substratos citoplasmáticos, dentre eles a pp185. Sabe-se que a pp185 é uma banda que migra entre 165 e 185 kDa. Rothemberg et al (1991)²⁹ descreveram esta banda como substrato 1 do receptor insulínico (IRS-1). Sun et al (1995)³⁰ descreveram outra proteína migrando na mesma altura, que possui cerca de 70% de homologia com o IRS-1 e foi denominada IRS-2. Estes substratos fosforilados podem se associar à PI 3-quinase, ativando-a. Esta ativação

é essencial para o transporte de glicose em tecido muscular³¹ e em tecido adiposo branco³².

O protocolo experimental utilizado neste trabalho (estimulação *in vivo* com insulina, extração e homogeneização do tecido adiposo branco e gastrocnêmio em condições desnaturantes e posterior “immunoblotting” com o anticorpo específico) permitiu uma avaliação das etapas iniciais da ação insulínica nestes dois tecidos importantes para a homeostase da glicose.³³

Nos estudos iniciais sobre a fisiologia molecular do receptor de insulina foram utilizados receptores parcialmente purificados e a atividade quinase foi determinada *in vitro*, em direção a substratos exógenos como histona.³⁴ Embora sejam ensaios informativos, estes procedimentos são suscetíveis a artefatos bioquímicos resultantes da homogeneização do tecido e purificação do receptor, como proteólise e desfosforilação do receptor por fosfatases contaminantes.³⁵ Também a remoção do receptor da membrana plasmática interfere em interações com outros componentes celulares e pode influenciar a atividade quinase do receptor.³⁶ Finalmente, há diferenças importantes na atividade quinase do receptor manifestas *in vitro*, dependendo do substrato exógeno utilizado.³⁴ O método utilizado aqui não está sujeito a estas implicações, permitindo uma determinação direta do grau de fosforilação da pp185, o que é também uma avaliação da atividade quinase *in vivo* do receptor, dirigida a este substrato.

Com esta metodologia, foi realizado o estudo das etapas iniciais da ação insulínica em tecido adiposo branco periepídimal de animais do grupo SHAM e DP. A doença periodontal induziu alteração no grau de fosforilação da pp185 após estímulo insulínico.

Nosso estudo observou que o grupo prole DP apresentou diminuição na sensibilidade à insulina em relação ao grupo controle, demonstrada tanto pelo aumento no índice HOMA-IR como pela diminuição da velocidade de decaimento da glicose (Kitt), durante o teste endovenoso de tolerância à insulina.

Tanto a redução no grau de fosforilação como a diminuição da sensibilidade à insulina verificadas no grupo prole DP, podem estar relacionadas à ação dos mediadores inflamatórios tais como TNF- α , interleucinas (IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) e prostaglandinas (PGE2), que encontram-se em níveis elevados no sangue materno devido à doença periodontal. Estes mediadores têm a capacidade de atravessar a placenta e agir no feto, podendo provocar alterações metabólicas com repercussão na vida adulta. Embora estes mediadores não tenham induzido o nascimento da prole de maneira prematura e conseqüente baixo peso, pode-se aventar que foram suficientes para promover alterações no sinal insulínico e na sensibilidade à insulina.

Este quadro é reforçado por estudos que demonstram a presença de citocinas (proteínas de baixo peso molecular com diversas funções metabólicas e endócrinas que participam da inflamação e resposta do sistema imune) na doença periodontal.³⁷

Lin *et al* (2003)¹⁰ observaram que o aumento de TNF- α (citocina inflamatória) e redução de IL-10 (citocina antiinflamatória) no soro materno são diretamente relacionados com a restrição do crescimento fetal.

Do mesmo modo, estudos demonstram que o TNF- α é um forte candidato a induzir resistência insulínica. Ele é produzido por adipócitos e está aumentado no tecido adiposo de roedores obesos, bem como em humanos. Demonstrou-se que o tratamento com TNF- α leva à redução da autofosforilação do receptor da insulina

estimulada pela própria insulina e inibição subsequente da fosforilação em tirosina de IRS-1. Além disso, o TNF- α induz modificação do IRS-1 por fosforilação em serina, o que torna essa molécula inibitória para a sinalização do receptor de insulina. Demonstrou-se também que a neutralização dos efeitos do TNF- α , em ratos obesos, provocou aumento da sensibilidade insulínica. Observou-se que camundongos deficientes em TNF- α permaneceram sensíveis à insulina quando colocados em dieta rica em gordura.³⁸

A resistência à insulina é uma condição, genética ou adquirida, na qual concentrações fisiológicas de insulina provocam uma resposta subnormal na captação de glicose pelas células, especialmente nas musculares e gordurosas. Em consequência da menor captação de glicose, torna-se necessária uma maior produção de insulina pelo pâncreas para a manutenção dos níveis glicêmicos normais, aumentando-se desta forma os níveis circulantes deste hormônio e, portanto, a situação de resistência à insulina se faz acompanhada de hiperinsulinemia.³⁹ Similarmente, no presente estudo foi observada resistência à insulina e hiperinsulinemia nos ratos Prole DP.

Diante do exposto, nossos resultados demonstraram que há uma grande correlação entre a DP materna e o desenvolvimento de DM2 na prole adulta, sugerindo a importância da prevenção de uma doença tratável, específica e localizada - a doença periodontal, no intuito de prevenir outra doença crônica, de grande incidência e de tratamento oneroso e prolongado - o diabetes.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os ratos adultos proles de ratas com doença periodontal não apresentaram baixo peso ao nascimento; por outro lado ocorreu uma redução do grau de fosforilação da pp185 em tecidos sensíveis à insulina e diminuição na sensibilidade a este hormônio em relação ao grupo Prole SHAM.

REFERÊNCIAS

1. Collins JG, Windley HW 3rd, Arnold RR et al. Effects of a *Porphyromonas gingivalis* infection on inflammatory mediator response and pregnancy outcome in the hamster. **Infect. Immun.** 1994; 62(10): 4356-61.
2. Qureshi A, Ijaz S, Syed A, Qureshi A, et al. Periodontal infection: A potential risk factor for Pre-term Delivery of Low Birth Weight (PBLW) Babies. **J. Pak. Med. Assoc.** 2005; **55** (10).
3. Lunardelli AN, Peres MA. Is there association between periodontal disease, prematurity and low birth weight? A population-based study. **J. Clin. Periodontol.** 2005; 32:938-946.
4. Iacopino AM, Cutler CW. Pathophysiological Relationships Between Periodontitis and Systemic Disease: Recent Concepts Involving Serum Lipids. **J. Periodontol.** 2000; 71 (8): 1375-1384.
5. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight **J. Periodontol.** 1996; 67: 1103-13.
6. Louro PM, Fiori HH, Louro Filho P, Steibel J, Fiori RM. Doença periodontal na gravidez e baixo peso ao nascer. **J. Pediatr. (Rio J).** 2001; 77 (1): 23-8.
7. Vettore MV, Sheiman A, Peres MA. Associação entre o baixo peso ao nascer e doença periodontal. **Rev. Saúde Pública.** 2006; 40 (1): 181-3.
8. Alves RT, Ribeiro RA. Relationship between maternal periodontal disease and birth of preterm low weight babies. **Braz. Oral Res.** 2006; 20(4) São Paulo.
9. Galvão MPA, Rosing CK, Ferreira MBC. Effects of ligature-induced periodontitis in pregnant Wistar rats. **Pesq. Odontol. Bras.** 2003; 17 (1): 51-5.
10. Lin D, Smith MA, Champagne C, Elter J, Beck J, Offenbacher S. *Porphyromonas gingivalis* infection during pregnancy increases maternal tumor necrosis alpha, suppresses maternal interleukin-10, and enhances fetal growth restriction and resorption in mice. **Infection and Immunity.** 2003 71 (9): 5156-5162.
11. Horáková D, Janoutová G, Janout V. Insulin resistance and birth weight. **Biomed. Papers.** 2005; 149 (1): 173-176.

12. Kim CS, Park JS, Park J, et alli. The Relation between Birth Weight and Insulin Resistance in Korean Adolescents. **Yonsei Medical Journal**. 2006; 47 (1): 85-92.
13. Vaag A, Jensen CB, Poulsen P, et alli. Metabolic aspects of insulin resistance in individuals born small for gestational. **Horm. Res.** 2006; 65 (Supl. 3): 137-43.
14. Mokad AH, Ford ES, Bowman BA et alli: Diabetes trends in the U.S. *Diabetes Care* 2000; 23:1278-83.
15. Shaan BD: O Papel da Proteína Quinase C no desenvolvimento das Complicações Vasculares do Diabetes Mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2003;47(6)654-62.
16. Georg AE, Duncan BB, Toscano CM, et alli. Análise econômica de programa para rastreamento do diabetes mellitus no Brasil. *Rev Saúde Pública* 2005; 39 (3)452-60.
17. Bonora E, Moghetti P, Zaccaro C, et alli. Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 68 (2): 374-8, 1989.
18. Carvalho CRO, Brenelli SL, Silva AC, Nunes ALB, Velloso LA, Saad MJA. Effect of aging on insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of rats. **Endocrinology**, 1996. 137:151-159.
19. Lima FB, Machado UF, Bartol I, et al. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **Am. J. Physiol.** 1998. 275:E934-E941; 1998.
20. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, and Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucosetolerance and insulin sensitivity. **Diabetes Care**. 2000; 23: 57-63.
21. Costa AA, Almeida Neto JS. **Manual de diabetes: educação, alimentação, medicamentos, atividades físicas**. São Paulo, Editora Sarvier, 2004.

22. WHO (World Health Organization) The Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Diabetes. 2003. Available at: http://www.who.int/hpr/NPH/docs/gs_diabetes.pdf. Accessed August 8, 2007.
23. Tomita NE, Chinellato LEM, Pernambuco, RA, Lauris JR, Franco LJ. Periodontal conditions and diabetes mellitus in the Japanese-Brazilian population. **Rev. Saúde Pública** 2002, 36(5): 607-613.
24. Dabelea D, Pettitt DJ, Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. Birth Weight, type 2 Diabetes, and Children and Young Adults. **Diabetes Care**. 1999; 22(6).
25. Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Wells SR, Saivi GE, Lawrence HP, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. **Ann. Periodontol**. 1998; 3: 233-50.
26. Offenbacher S, Madianos PN, Suttle ML. Elevated human IgM suggests in utero exposure to periodontal pathogens. **J Dent Res** 1999;78:2191.
27. Offenbacher S, Leff S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CME, et al. Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. **Ann Periodontol** 2001; 6(1):164-174.
28. Cardoso EOC. Estudo das doenças periodontais em gestantes e seu impacto no nascimento de crianças prematuras e/ou baixo peso [Mestrado]. Rio de Janeiro: Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1999. 74 p.
29. Silva APB. Periodontal Infections and pre-term Low Birth Weight. Disponível em: URL: <http://iadr.confex.com/iadr/2001chiba/scheduler/schedulerpaper.cgi?abstract=3197> [2007 ago.7].
30. Davenport ES, Williams CECS, Sterne JAC, Murad S, Sivapathasundram V, Curtis MA. Maternal periodontal disease and preterm low birth weight: case-control study. **J. Dent Res** 2002; 81(5):313-318.
31. Carvalheira JBC, Zecchin HG, Saad MJA. Vias de Sinalização da **Insulina**. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 2002; 46(4):419-425,.
32. Rothemberg PL, Lane WS, Karasik A, Backer J, White MF, Kahn CR. Purification and partial sequence analysis of pp185, the major cellular

- substrate of the insulin receptor tyrosine kinase. **J. Biol. Chem.** 1991; 266: 8302-11.
33. Sun XJ, Wang LM, Patti MA, Bruning JC, Johnson RS, Kahn CR. Role Of Irs-2 In Insulin And Cytokine Signalling. **Nature.** 1995; 337: 173-7.
34. Tsakiridis T, Vranic M, Klip A. Phosphatidylinositol 3-kinase and the actin network are not required for the stimulation of glucose transport caused by mitochondrial uncoupling: comparison with insulin action. **Biochem J.** 1995; 309: 1-5.
35. Clark JF, Young PW, Yonezama K, Kasuga M, Holman GD. Inhibition of the translocation of GLUT 1 in 3T3 – cells by the phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor wortmannin. **Biochem. J.** 1994;300:631-5.
36. Saad MJA, Folli F, Kahn J, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate -1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. **J. Clin. Invest.** 1993; 92:2065-2072.
37. Rothemberg PL, White MF, Kahn CR. The insulin receptor tyrosine kinase. In: Cuatrecasas P, Jacobs S, eds. **Handbook of Experimental Pharmacology.** Berlin: Springer-verlag, 1990; 92: 209-243.
38. Kathuria S, Hartman S, Grunfeld C, Ramachandran J, Fujita YY. Differential sensitivity of two functions of the insulin receptor to the associated proteolysis: Kinase action and hormone binding. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 1986; 83:8570-8574.
39. Fehlman M, Peryron J, Samson M, Van Obberghen E, Brandenburg D, Brossette N. Molecular association between major histocompatibility complex class I antigens and insulin receptor in mouse liver membranes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 1985; 82:8634-8637.
40. Carvalho MHC, Colaço AL, Fortes ZB. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2006; 50(2).
41. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A. Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triagle. **Int J Obesity** 2002; 26:S28-S38.
42. Cesaretti MLR, Kohlmann Jr O. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2006; 50(2): 190-197.

Alexos

Figuras - Procedimentos Realizados



Figura I – Animais antes do experimento



Figura II – Anestesia



Figura III – Mesa Cirúrgica

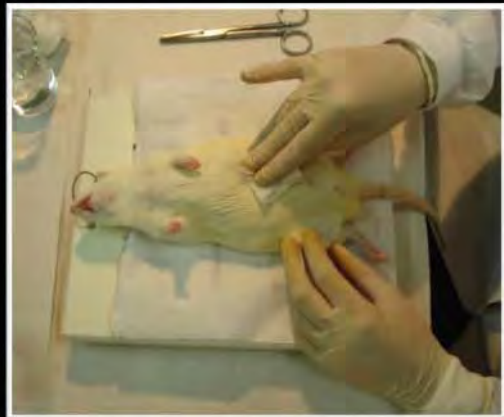


Figura IV – Antissepsia do animal



Figura V – Cavidade abdominal exposta



Figura VI – Coleta do Sangue



Figura VII – Balança utilizada para pesar os animais



Figura VIII – Anestésico utilizado



Figura IX – Kit utilizado pra medir glicemia



Figura X – Insulina e cânula utilizados



Figura XI – Kit utilizado para radioimunoensaio

**Anexo A – Certificado de Aprovação pela Comissão de Ética na
Experimentação Animal**

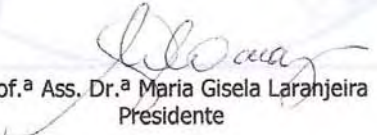
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE À INSULINA E TRANSDUÇÃO DO SINAL INSULÍNICO EM RATOS ADULTOS, PROLES DE RATAS COM DOENÇA PERIODONTAL" sob responsabilidade de DÓRIS HISSACO SUMIDA, ROSANA LEAL DO PRADO, NATÁLIA HELENA COLOMBO e DAISY JAQUELINE SHIRAKASHI está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado *AD REFERENDUM* pela CEEA em de 28 de junho de 2006, de acordo com o protocolo nº 43/06.

Araçatuba, 28 de junho de 2006.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente

Anexo B – Normas da Revista Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia³

Instruções aos Autores

Objetivo e política editorial

Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia (ABE&M), órgão oficial de divulgação científica da FEBRASEM - Federação Brasileira de Sociedades de Endocrinologia e Metabologia (SBEM, SBD, ABESO e SOBEMOM), aceita contribuições em Endocrinologia Clínica e Básica e ciências afins, nas seguintes categorias: (1) Artigo Original, (2) Artigo de Revisão e Mini-revisão, (3) Apresentação de Casos Clínicos, (4) Caso Especial, (5) Perspectivas, (6) Controvérsias, (7) Memórias e (8) Cartas ao Editor.

Essas contribuições devem ser redigidas em português ou inglês e estar de acordo com as Instruções do Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas, cujas diretrizes principais estão resumidas a seguir. Maiores detalhes podem ser obtidos no **N Eng J Med** 1997;336[4]:309-15 (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. "International Committee of Medical Journal Editors" (ICMJE).

Os manuscritos (MS) devem ser **datilografados em espaço duplo**, em folhas de papel carta (21,5 x 28 cm) ou A4 (21 x 30 cm), com pelo menos **2,5 cm de margens** de cada lado.

Começar cada uma das seguintes seções em folhas separadas: (A) Página título, (B) Resumo, (C) Abstract (resumo em inglês), (D) Texto completo, (E) Agradecimentos, (F) Referências, (G) Tabelas (cada uma com título e rodapé), (H) Legendas das figuras e, (I) Figuras. Deve-se numerar as páginas consecutivamente começando com a página título.

Instruções para artigo original

Os manuscritos (MS) devem ser datilografados em espaço duplo, em folhas de papel carta (21,5 x 28 cm) ou A4 (21 x 30 cm), com pelo menos 2,5 cm de margens de cada lado.

Começar cada uma das seguintes seções em folhas separadas: (A) Página título, (B) Resumo, (C) Abstract (resumo em inglês), (D) Texto completo, (E) Agradecimentos, (F) Referências, (G) Tabelas (cada uma com título e rodapé), (H) Legendas das figuras e, (I) Figuras. Deve-se numerar as páginas consecutivamente começando com a página título.

Página Título

Deve conter: (a) o título do MS, (b) o nome de todos os autores (nome, inicial[is] do meio e sobrenome de cada um); (c) nome do(s) Departamento(s) e Instituição(ões) onde o trabalho foi realizado; (d) nome e endereço completo do(a) autor(a) responsável pela correspondência; (e) "título resumido" com um máximo de 40 caracteres (incluindo espaços entre palavras).

³ Normas da Revista. Disponível em: [<http://www.scielo.br/revistas/abem/pinstruc.htm>]. Acesso em 13/12/2007.

Autoria

Todas as pessoas designadas como autores devem responder pela autoria do MS e ter participado suficientemente do trabalho para assumir responsabilidade pública pelo seu conteúdo.

O crédito de autoria deve ser baseado apenas por contribuições substanciais durante: (a) concepção, planejamento, execução, análise e interpretação dos resultados; (b) redação ou revisão do MS de forma intelectualmente importante; (c) aprovação final da versão a ser publicada. A participação limitada somente à obtenção de fundos, coleta de dados, supervisão geral ou chefia de um grupo de pesquisa não justifica autoria do MS.

Os Editores podem solicitar justificativa para a inclusão de autores durante o processo de revisão do MS, especialmente se o total de autores exceder seis.

Resumo e Abstract

A segunda página deve conter um resumo de **até 200 palavras**, com os propósitos da investigação, procedimentos básicos, principais achados (com dados específicos e análise estatística, se possível) e conclusões. Em página separada, fornecer o **Abstract**, que deve ser a tradução fiel do resumo para o idioma inglês.

Os Editores encorajam os autores a mostrar o Abstract a pessoas que dominem o idioma inglês, antes de submetê-lo ao crivo da revista. Ao final do Resumo e do Abstract devem ser fornecidos descritores do MS: **4 a 6 unitermos e keywords** (de acordo com os padrões do Index Medicus), para facilitar sua indexação posterior.

Texto

Deve ser dividido nas seguintes seções: (I) Introdução, (II) Material e Métodos, (III) Resultados e (IV) Discussão.

Introdução

Deve conter o propósito do trabalho, resumizando os motivos do estudo. Evitar fazer uma revisão extensa do assunto e não incluir dados ou conclusões do estudo a ser apresentado.

Material e Métodos

Deve conter uma descrição do(s) modelo(s) experimental(is) empregado(s) (pacientes ou animais de laboratório), identificando os métodos, aparelhos e equipamentos utilizados (nome do fabricante e/ou origem do material entre parênteses), e detalhes suficientes dos procedimentos que possam permitir a reprodução dos estudos apresentados. Métodos estabelecidos podem ser citados através de referências.

Ética Médica

Indicação de que o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital ou Instituição de pesquisa onde o estudo foi realizado, ou que os estudos (em animais) estão de acordo com a Declaração de Helsinki.

Estatística

Os métodos estatísticos devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a verificação dos resultados àqueles que tiverem acesso aos dados originais.

Resultados

Devem ser apresentados em seqüência lógica no texto, evitando repetir dados apresentados em tabelas ou figuras; somente as observações importantes devem ser

ênfâtizadas.

Discussão

Deve focalizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões obtidas. Evitar repetir resultados ou informações já apresentadas em outras seções. Deve-se ressaltar as implicações dos achados, suas limitações e mesmo recomendações para estudos futuros.

Agradecimentos

Em nova página pode-se incluir: (a) contribuições que necessitam agradecimentos mas não justificam autoria; (b) agradecimentos a auxílio técnico; (c) agradecimentos de auxílio financeiro e material, incluindo auxílio governamental e/ou de laboratórios farmacêuticos; (d) relacionamentos financeiros que possam representar potencial conflito de interesse.

Referências bibliográficas

Devem ser numeradas consecutivamente em ordem de aparecimento no texto e identificadas no texto, tabelas e legendas por numerais Arábicos (**entre parênteses e não sobrescritos**). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus.

Deve-se evitar a citação de resumos apresentados em congressos. Trabalhos aceitos mas ainda não publicados podem ser incluídos, fornecendo-se o nome da Revista seguido do ano e da informação: (no prelo). Utilizar o estilo exemplificado a seguir:

Artigo em Revistas

(listar todos os autores, mas se o número exceder seis, acrescentar: et al.):

Taylor AE, Hubbard J, Anderson EJ. Impact of binge eating on metabolic and leptin dynamics in normal young women. **J Clin Endocrinol Metab** 1999;84:428-34.

Capítulo de Livro

Kane JP, Malloy MJ. Disorders of lipoprotein metabolism. In: Greenspan FS, Strewler GJ, editors. **Basic & Clinical Endocrinology**. 5th edition. London:Prentice Hall, 1997:680-709.

Livros

Leder P, Clayton DA, Rubenstein E. **Introduction to Molecular Medicine**. New York:Scientific American Inc, 1994.

Tabelas

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, em espaço duplo e numeradas em arábico, conforme seu aparecimento no texto; devem conter um breve título na parte superior e as explicações, estatística, etc, indicadas adequadamente no rodapé.

Ilustrações

Cada MS deve vir acompanhado de dois (2) conjuntos originais de ilustrações. As cópias do MS devem ser acompanhadas de cópias xerográficas nítidas das ilustrações. As figuras devem ser desenhadas profissionalmente e fotografadas. **Não use cores**, mantenha o fundo claro e aplique texturas distintas para salientar contrastes.

Ao invés dos desenhos originais e/ou radiografias, deve-se enviar fotografias em branco e preto, papel brilhante ("glossy"), nítidas, em formato 12 x 18 cm ou 18 X 24 cm.

As letras, números e símbolos devem ser claros e de tamanho suficiente para serem legíveis mesmo após redução substancial para publicação.

Os títulos e legendas das figuras devem ser fornecidos em folha separada, e nunca na própria figura.

Cada figura deve ser adequadamente identificada, no verso, com um lápis azul leve, indicando o nome do autor, o número da figura e a orientação para inserção no texto.

Unidades e Medidas

As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser relatadas em unidades do sistema métrico (metro, quilograma, litro) ou seus múltiplos decimais. Temperaturas devem ser fornecidas em graus Centígrados; pressão arterial em mm de mercúrio (Hg).

Todos os dados hematológicos e de química-clínica devem ser fornecidos no sistema métrico tradicional.

Instruções para artigos de revisão e mini-revisão

Os artigos de revisão e mini-revisão, são habitualmente encomendados pelo Editor a autores com experiência comprovada na área. A revista encoraja, entretanto, que se envie material não encomendado, desde que expresse a experiência publicada do(a) autor(a) e não reflita, apenas, uma revisão da literatura.

As instruções para o preparo das revisões e mini-revisões são as mesmas dos artigos originais, devendo incluir, também, Resumo e Abstract e unitermos e keywords.

As mini-revisões não deverão ultrapassar 15 laudas, incluindo referências (até 20) e excluindo duas possíveis ilustrações (tabelas, figuras ou gráficos, ou uma combinação deles).

Instruções para apresentação de casos

Esta seção destina-se à publicação de casos clínicos interessantes, e que apresentem alguma originalidade, curiosidade ou aspecto não convencional. Deverá mostrar aspectos clínicos, laboratoriais e evolutivos de interesse, devendo estar suficientemente documentado.

As instruções para o seu preparo seguem as mencionadas para os artigos originais, incluindo Resumo e Abstract e unitermos e keywords.

Caso Especial

Nesta seção serão contemplados casos de interesse especial, que tenham sido devidamente estudados e apresentados em reuniões clínicas de centros ou serviços de endocrinologia reconhecidos nacionalmente. Deve incluir uma discussão geral do público presente naquela reunião, com nomes completos e titulação explicitados.

O manuscrito deverá ser previamente editorado por um responsável pelo caso ou pela reunião. Os autores do MS devem se limitar ao[s] apresentador[es] e discutidor[es] do caso, devendo constar data e local da apresentação e nome e endereço do(a) responsável pelo MS.

Instruções para artigos da seção perspectivas

O propósito desta seção é servir como veículo de divulgação de novas idéias e conceitos em Endocrinologia, tanto na área básica, como na aplicada ou, ainda, na que trata de ensino e treinamento.

Os artigos podem conter: (a) Ensaio interpretativos que utilizem dados de pesquisa próprios do(a) autor(a) para o desenvolvimento de novas idéias; (b) Propostas de pesquisa para estudos colaborativos entre diversos centros; (c) Ensaio inovadores que tratem da interrelação da Endocrinologia com outras áreas; (d) Quadros da história da Endocrinologia brasileira ou internacional que incluam a análise crítica de eventos, figuras ou instituições.

As instruções são as mesmas mencionadas para os artigos originais.

Instruções para artigos da seção controvérsias

O objetivo desta seção é o de apresentar temas de Endocrinologia Clínica, especialmente no aspecto de diagnóstico e tratamento de doenças endócrinas da prática corrente, que não tenham conduta suficientemente uniformizada e que possam, portanto, apresentar diferentes opções de manuseio.

Os artigos a serem apresentados nesta seção são encomendados pela Comissão Editorial a dois ou mais especialistas no assunto, que tenham opiniões e/ou condutas diversas em relação ao tema escolhido.

Espera-se, com isso, fornecer maiores informações aos leitores para que possam tomar decisões com maior segurança, em situações semelhantes. Espera-se, também, estimular uma discussão entre os pares, através de maior fluxo de Cartas ao Editor, com tomadas de posição.

Submissão dos manuscritos

MS de qualquer tipo devem ser enviados em 3 vias (uma original) para o Escritório dos ABE&M, **acompanhados de carta de apresentação** endereçada ao Dr. Claudio E. Kater, Editor- Chefe, assinada por todos os autores. **Não envie disquetes na primeira submissão do artigo.**

Todos os artigos submetidos aos ABE&M serão analisados quanto à sua qualidade científica e clareza de linguagem por revisores qualificados do Conselho Editorial.

Para minimizar erros de digitação e transcrição e abreviar o processo de publicação, solicitamos que, **uma vez aceita para publicação**, a versão final do MS seja enviada em disquete bem identificado e organizado nos editores de texto Word ou WordPerfect, de forma simples e sem qualquer formatação ou diagramação especial. Figuras e ilustrações não deverão estar encapsuladas dentro de arquivos de texto.

Por razões editoriais, os Editores reservam-se o direito de proceder pequenas modificações gráficas ou redacionais no texto, sem interferir em seu conteúdo. Os(as) autores(as), após a aceitação do seu artigo para publicação, transferem implicitamente seus direitos de cópia sobre o mesmo para os "Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia".



Instructions to Authors⁴

CONTENT

The Journal of Periodontology publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the Journal of Periodontology should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under Manuscript Submission, Preparation, and Format.

All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the Journal of Periodontology.

ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the combined number of figures and tables must be 6 or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs: * Background: Describes the problem being addressed. * Methods: Describes how the study was performed. * Results: Describes the primary results. * Conclusions: Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

Materials and Methods

⁴ Normas da Revista: Disponível em:

[http://www.joponline.org/userimages/ContentEditor/1124388816475/Instructions_to_Authors.pdf]. Acesso em 13/11/2007.

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

Results

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and illustrations as appropriate.

Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

STATE OF THE ART REVIEWS

These are focused reviews of basic and clinical science related to periodontics and implant dentistry. These reviews should be concise and address an important and timely clinical question. The review should be based on a critical assessment of the literature, and may include data or examples from the research or clinical experience of the author(s). Authors should discuss clinical relevance and future projections. At-large submissions will be considered, but authors should contact the Editor-in-Chief before developing a manuscript to avoid duplicating a topic already in preparation. Papers should be balanced, literature-based reviews that are concise (2,000 to 3,000 words) with about 100 key references. Articles should be written at a level instructive to Journal readers. For example, clear definitions of abbreviations and a glossary of terms may be useful for defining highly technical or new terminology. Since critical reviews require selection of reports and interpretation of data, authors should not have a financial interest in the companies making products or providing services described in the review.

Format

Abstract

The abstract should summarize the main conclusions of the review in 350 words or less.

Introduction

A question or series of related questions to be addressed should be given; rationales for asking these questions and why the questions are timely should be explained.

Methods

The method of reviewing the literature should be discussed (e.g., bibliographic indexes and databases used, limits on years covered by the search, languages searched, and other important information regarding the search process should be described).

Body

A sequence of logical subsections that reflect the area being reviewed should be developed. This section should be a critical analysis of the literature, including arguments needed to support the conclusions reached; why certain papers not meeting well-described critical standards, such as randomized clinical trials, were not used as evidence; and what issues remain unresolved and need further study. Evidence tables are often useful in summarizing reviewed literature, and various statistical analyses appropriate to reviewing literature, such as metaanalysis, should be considered.

COMMENTARY

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of

controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentary articles should be concise (2,000 to 3,000 words); however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused. Appropriate references should be cited.

Format

Introduction

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated.

Summary

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

Acknowledgments

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

CASE REPORTS

These manuscripts emphasize clinical periodontics and related oral medicine and pathology. Unusual cases illustrating lesions affecting the orofacial structures that may be expected to influence management of periodontal and implant patients could be presented. Case reports should describe: 1) unique cases that may represent a previously undescribed condition; 2) unexpected association of two or more diseases; 3) adverse or unexpected treatment response; or 4) any other clinical observation based upon well-documented cases that provide important new information.

CASE SERIES

These papers report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed case series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science.

Format

Abstract

Case Reports and Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs: * Background: Describes the clinical situation being discussed. * Methods: Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed. * Results: Describes the clinical results. * Conclusions: Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations. Introduction This section should include a critical review of the pertinent literature.

Case Description and Results

This section describes the case or cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

Discussion

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the case(s) should be emphasized in all sections.

CLINICAL PRACTICE (FORMERLY INNOVATIONS IN PERIODONTICS)

These manuscripts should emphasize methods, such as the application of new technology, materials, and techniques to patient management, and should be illustrated carefully and fully, with

radiographs and color clinical photographs. The innovation/method should be described in detail so that readers can duplicate the procedures. In addition, the innovation/method should have been used on a sufficient number of cases or subjects to demonstrate its utility and any adverse effects. Also, experience in use of the technique should allow the author(s) to describe situations or conditions where the procedure may not work as effectively. Only procedures that give consistent results documented over a sufficiently large number of cases should be submitted for publication. Manuscripts should be concise and should consist of an abstract, an introduction, a description of the innovation/method in conjunction with management of a case(s), and a discussion. It should be noted that certain new innovations might require human subject review and informed consent. It is the responsibility of the author to obtain these. In particular, the Editors are seeking papers describing how practitioners manage site preservation, pre-implant surgery, guided tissue regeneration, furcation preparation, root resection, suturing, and root coverage of extensively prepped teeth and/or previously restored roots, although other topics are encouraged as well.

GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the Journal, or on other items of interest to the readership.

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the Journal and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 60 days to respond to the observations. Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management. Letters should be brief, focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals. Citations should be handled as standard references.

MANUSCRIPT SUBMISSION, PREPARATION, AND FORMAT

The Journal of Periodontology accepts manuscript submissions online at the following URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>. Authors should prepare manuscripts in accordance with both the instructions below and the preceding instructions provided for each manuscript category. Detailed instructions for online submission are described under "WebUploading Policies and Instructions."

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Managing Editor, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3224; e-mail: julie@perio.org.

SUBMISSION

Authorship

Individuals identified as authors must meet the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Once the Journal has received a manuscript, any changes in authorship must be faxed to the editorial office at 312/573-3225 (attn: Bethanne Wilson, Editorial Coordinator) and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (described under "Acknowledgments and Conflicts of Interest").

Letter of Submission / Conflicts of Interest

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted for each author. A template form can be found on JOP Manuscript Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." More information on conflicts of interest can be found under "Conflicts of Interest" below.

PREPARATION

Style

Please follow the guidelines below when preparing the manuscript: * Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.

* The Journal of Periodontology does not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, e.g., or i.e. * Use a block style; do not tabulate or indent material. * Refer to the 4th edition of the Glossary of Periodontal Terms published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology. Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the Annals of Periodontology, volume 4 (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions). A summary can be found on the American Academy of Periodontology Web site at <http://www.perio.org/resources-products/classification.htm>.

FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom. Materials should appear in the following order:

Title Page

Abstract (or Introduction) and Key Words

Text

Footnotes

Acknowledgments

References

Figure Legends

Tables

Figures should not be embedded in the manuscript.

Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

TITLE PAGE

The Title Page should contain: 1) a concise but informative title; 2) first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation for each; 3) name of the department(s) and institution(s) to which the work should be attributed (please use footnote symbols [in the sequence *, †, ‡, §, k, ¶, #, **, etc.] to identify authors and their corresponding institutions); 4) disclaimers, if any; 5) the name and address (including fax number and e-mail) of the author(s) responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published); 6) sources of support in the form of grants, equipment, drugs, or other significant sources of support; 7) any financial relationships between any author and a commercial firm that may pose a conflict of interest; 8) word count and number of figures and tables in the manuscript; 9) a short running title of no more than 60 characters, including spaces; and 10) a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

ABSTRACT OR INTRODUCTION

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from MeSH documentation, to facilitate indexing should be listed below the abstract.

TEXT

Please see specific instructions provided for each manuscript category.

ACKNOWLEDGMENTS AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgments

At the end of the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

Conflicts of interest

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the Journal of Periodontology now requires that all authors declare potential competing interests relating to papers accepted for

publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

1) A statement in the manuscript, following Acknowledgments, that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.

2) A conflict of interest and financial disclosure form for each author. This form can be found on JOP Manuscript Central_ (<http://mc.manuscriptcentral.com/jperio>) in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms." The form should be completed by each author and provided to the corresponding author. The corresponding author is responsible for submitting these forms from each author when the manuscript is submitted. These forms should be sent to Bethanne Wilson, Editorial Coordinator, either via e-mail at bethanne@perio.org or fax at 312/573-3225. These forms can also be uploaded in the cover letter area during the manuscript submission process. Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

Example of conflict of interest statement:

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Drs. Able, Kim, and Bruce report no financial relationships related to any products involved in this study. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, MA. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation.

REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited. All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please refer to the NLM's comprehensive listing at <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>. The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations." Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the Journal of Periodontology's preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Glass DA, Mellonig JT, Towle HJ. Histologic evaluation of bone

inductive proteins complexed with coralline hydroxyapatite in an extraskeletal site of the rat. *J Periodontol* 1989;60:121-125.

2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Muller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnaerztl Implantol* 1996; 12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. Systemic Disease in Dental Treatment. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5. 6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
6. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loë H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
7. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic Citations

8. Online journals without volume and page information. Berlin JA, Antman EM. Advantages and limitations of meta-analytic regressions of clinical trials data. *Online J Curr Clin Trials* [serial online]. June 4, 1994; doc 134. Accessed July 20, 2000.
9. Online journals with volume and page information. Fowler EB, Breault LG. Ridge augmentation with a folded acellular dermal matrix allograft: A case report. *J Contemp Dent Pract* [serial online]. 2001;2(3):31-40. Available from: Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH. Accessed December 15, 2001.
10. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing emerging infectious diseases: Addressing the problem of antimicrobial resistance. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/emergplan/antiresist/>. Accessed November 5, 2001.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal or vertical rules.

FIGURE LEGENDS

Legends should be typed double-spaced with Arabic numbers corresponding to the figure. When arrows, symbols, numbers, or letters are used, explain each clearly in the legend; also explain

internal scale, original magnification, and method of staining as appropriate. Panel labels should be in capital letters. Legends should not appear on the same page as the actual figures.

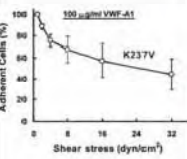
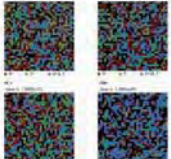

FIGURES

Digital files must be submitted for all figures.

Submit one file per figure. Multiple panels should be labeled and combined in a single file. Photomicrographs should have internal scale markings. Human subjects must not be identifiable in photographs, unless written permission is obtained and accompanies the photograph. Lettering, arrows, or other identifying symbols should be large enough to permit reduction and must be embedded in the figure file. Figure file names must include the figure number. Clinical color photographs are encouraged. There is no charge to the author for publication of any figure. Authors are asked to use shades of green, blue, or purple in color graphs. Yellow, red, and orange should be avoided unless scientifically necessary (e.g., to depict species of the orange complex, red complex, etc.). Authors are strongly encouraged to prepare basic, simple designs that can be clearly understood when reproduced; use of “3-dimensional” graphics is not recommended. Unnecessarily complex designs may be returned for simplification before publication. Details of programs used to prepare digital images must be given to facilitate use of the electronic image. Use solid or shaded tones for graphs and charts. Patterns other than diagonal lines may not reproduce well.

DIGITAL FILE SPECIFICATIONS

To ensure the highest quality reproduction of your figures, please observe the following recommendations.

Line Art (type and line only)	All Color Images and B/W Combination Halftones (images and type)	B/W Halftones (grayscale with no type or lettering)
		
1000 dpi	600 dpi	300 dpi

Resolution

Proper resolution is very important to preserve the quality of your printed figures. The following resolutions must be submitted for your files. Please do not reduce your figures below a readable size to achieve higher resolution. These files will not be usable.

Format

TIFF or EPS files at the proper resolution (see above) will give the best results. If you cannot produce these files, do not send low-resolution conversions. With all figures, please also send a PDF that can be rasterized in the event your files are not usable. Word, Excel, PS, and JPEG files can sometimes be acceptable alternatives. Send these along with a PDF if you cannot achieve the proper results in TIFF or EPS format. For graphs and charts, do not use patterned fills. Solid tones or colors are recommended instead.

Color Space

Figures should be saved as CMYK, not RGB. Files submitted in RGB will be converted to CMYK, and significant color shift may occur.

Font

Files other than TIFF or JPEG must be saved with fonts embedded. Acceptable fonts include Helvetica, Times New Roman, Symbol, Mathematical PI, and European PI. All other fonts may be replaced, resulting in data loss or realignment.

Other

Please send a PDF with all figure submissions and verify that the PDF and digital versions of your figures are identical. If you have any questions concerning the creation or submission of digital art,

please visit the Dartmouth Journal Services Web site at <http://www.dartmouthjournals.com/digart.html> or send an e-mail to perio@dartmouthjournals.com.

UNITS OF MEASUREMENT

Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal/National) numbering system.

STATISTICS

Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects or that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless express written consent from the patient is submitted. For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliation; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment, medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: *, †, ‡, §, k, ¶, #, **, ††, etc.

IDENTIFICATION OF PRODUCTS

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

REVIEW PROCESS AND PUBLICATION PROCEDURES

Peer Review

The Journal of Periodontology is a peer-reviewed publication. All manuscripts, including State of the Art Reviews, Commentaries, Case Reports, Case Series, and Clinical Practice, are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

Copyright

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. A copyright form must be signed by all authors and returned to the Managing Editor. A file containing this form always accompanies the acceptance e-mail.

Reprints Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading. Reprints can be purchased in 4-color or black and white.