

Ana Paula Castilho Garcia Seraphim

*Avaliação da Sensibilidade à Insulina e
Concentração do Cortisol Salivar em Gestantes com
Doença Periodontal*

Araçatuba – SP

2015

Ana Paula Castilho Garcia Seraphim

*Avaliação da Sensibilidade à Insulina e
Concentração do Cortisol Salivar em Gestantes com
Doença Periodontal*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Adj. Doris Hissako Sumida

Coorientador: Fernando Yamamoto Chiba

Araçatuba – SP

2015

Dedicatória

*“Algo é impossível até que alguém duvide e acabe provando
o contrário.”*

Abert Eistein

Dedico esse trabalho àqueles que participaram desse trabalho, direta ou indiretamente:

A **Deus**, que esteve sempre ao meu lado. Agradeço pelas pessoas que o Senhor colocou no meu caminho. Algumas delas me inspiraram, outras me ajudaram e outras ainda me desafiaram e me encorajaram a concluir mais essa etapa.

“Ter fé é assinar uma folha em branco e deixar que Deus nela escreva o que quiser.”

Santo Agostinho

Aos meus pais, **Shirley e Uéinton**. De todos os amores que podemos receber durante a vida, o amor dos pais é, sem dúvida, o mais intenso e incondicional. Não existem outras pessoas que tenham um interesse tão grande na nossa felicidade. Apenas posso agradecer-lhes por tudo que me deram durante a vida, com tanta dedicação. Orgulho-me em ser filha de vocês e espero que um dia meus filhos possam ter o mesmo orgulho de mim.

“A educação exige os maiores cuidados, porque influi sobre toda a vida.”

Sêneca

Ao meu marido, **Júnior**, meu maior incentivador. Obrigada por fazer parte da minha vida e da construção da nossa família. Conviver significa descobrir o significado da cumplicidade, amizade, respeito e estes nada mais são que ingredientes do amor. Tenho certeza que deixaremos o legado do amor aos nossos filhos.

“Os que amam profundamente, jamais envelhecem; podem morrer de velhice, mas morrem jovens.”

Martinho Lutero

Aos meus filhos, **Vítor e Artur**, razão de tudo que faço na vida. Vocês me propiciaram a maior felicidade, a maternidade. Amor incondicional e imensurável, que faz com que eu queira ser cada vez melhor e em tudo deixar a marca desse vínculo. Vocês participaram intensamente da confecção desse trabalho ao experimentarem as minhas inúmeras ausências. Obrigada pela compreensão, carinho e ajuda.

“A verdade é que a gente não faz filhos. Só faz o projeto, eles mesmos fazem a arte-final.”

Luis Fernando Veríssimo

Agradecimentos Especiais

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que
ensina ”*

Cora Coralina

Agradecimentos Especiais

À minha orientadora, Professora **Doris Hissako Sumida**, por todos os ensinamentos transmitidos, pela paciência e por ajudar a despertar em mim o amor pela ciência. Sempre foi e será um modelo de profissionalismo, dedicação, sabedoria e amor pela pesquisa a ser seguido!

Ao meu co-orientador, Professor **Fernando Yamamoto Chiba**, que me acolheu com dedicação e paciência. Tenho grande admiração pelo profissionalismo com que encara a ciência e agradecimento pela forma com que me ajudou a conduzir o trabalho. Grata por tudo!

À Professora **Nemre Adas Saliba** e ao Professor **Orlando Saliba**, que incansavelmente continuam transmitindo todo conhecimento que têm e incentivando os alunos do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Dra. **Suzely Adas Saliba Moimaz** e à Vice-Coordenadora **Dra. Cléa Adas Saliba Garbin**, pelo trabalho incansável, competência, amor e dedicação absoluta ao Programa. Obrigada por me aceitarem no programa e me darem a oportunidade de compartilhar de tanto conhecimento!

A todos os **Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Preventiva e Social**, que contribuíram para minha iniciação e formação acadêmica e pessoal. Obrigada!

Aos funcionários **Nilton e Valderez**, sempre solícitos, dedicados e prontos para ajudar. Obrigada pela amizade e carinho!

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP**, nas pessoas do Diretor **Professor Wilson Roberto Poi** e Vice-Diretor **Professor João Eduardo Gomes Filho** pela oportunidade de desenvolvimento do meu trabalho.

À **Pró-Reitoria de Pós-Graduação**, na pessoa do Presidente Dr. **Eduardo Kokubun**, pelo apoio e incentivo.

Aos **funcionários da Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, em especial, a **Ana Cláudia Grieger Manzatti**.

Aos **funcionários da Seção de Pós-Graduação**, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, **Valéria Queiroz Marcondes Zagatto**, **Cristiane Regina Lui Matos** e **Lilian Sayuri Mada**, pela atenção, paciência, simpatia e dedicação.

À **Secretaria Municipal de Saúde de Votuporanga**, em especial à Secretária de Saúde do município de Votuporanga, Dra. Fabiana Parma, por permitir a realização desta pesquisa, e a todos os **profissionais da rede pública do município de Votuporanga** que contribuíram para a realização deste trabalho. Sem vocês essa pesquisa seria inviável. Obrigada!

“ Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os tímoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

Leonardo da Vinci

Agradecimentos

*“O começo de todas as ciências é o
espanto de as coisas serem o que são.”*

Aristóteles

Agradecimentos

Aos meus irmãos **Carolina e Rodrigo**, meus amigos e companheiros especiais. Os melhores que a vida poderia ter me dado. Obrigada pela cumplicidade, dedicação, amor e momentos tão felizes ao longo da vida!

“Os momentos mais felizes de minha vida foram aqueles, poucos, que pude passar em minha casa, com a minha família.”

Thomas Jefferson

Aos meus cunhados **Flávia e Wagner**, aos meus sobrinhos, **Marina, Luísa, Beatriz e João Pedro**, que vieram constituir o que há de mais importante na vida, a família.

“A verdadeira felicidade está na própria casa, entre as alegrias da família.”

Leon Tolstói

À minha amiga especial, **Danielle Bordin**, que com sua inteligência, dedicação e amor à ciência se fez referência a ser seguida. Sua postura e caráter associados à meiguice e doçura fazem com que seja essa amiga maravilhosa. Obrigada pela ajuda, conforto, palavras de entusiasmo e inspiração. Você mora no meu coração!

À minha amiga **Adrielle Mendes de Paula Gomes**, pelo carinho, ajuda e acolhimento. Obrigada pela prontidão em ajudar, pelo exemplo de dedicação e caráter e pelos momentos que passamos juntas.

Às **minhas amigas de turma de Mestrado**, Adriana Alves Costa, Isabella Andrade Dias, Lúcia Maria Lemos, Maria Emília Oliveira Gomes, pelos momentos compartilhados. Muito bom tê-las encontrado. Obrigada pela amizade e companheirismo!

Aos **colegas do Programa de Pós-Graduação** em Odontologia Preventiva e Social das turmas de **Doutorado** e **Mestrado** e aos **estagiários**, muito obrigada pela dedicação, carinho e amizade!

Aos colegas do Programa de Ciências Fisiológicas, **Maria Sara Lima Coutinho Mattera**, **Natália Francisco Scaramele**, **Amanda**, **Thais**, **Amanda**, **Marina Tuppy**, **Mariane**, **Renan Akira**, pelo acolhimento e simpatia com que conduzem o laboratório. Em especial ao amigo **Renato Felipe Pereira**, pela forma simples e sincera com que me acolheu e ajudou. Sua contribuição foi essencial, obrigada por tudo!

“Amigos são a família que nos permitiram escolher.”

William Shakespeare

Epígrafe

*“A falsa ciência cria os ateus, a verdadeira, faz o homem
prostrar-se diante da divindade.”*

Voltaire

*“A mente que se abre a uma
nova ideia jamais voltará
ao seu tamanho original.”*

Albert Einstein

SERAPHIM, A. P. C. G. **Avaliação da sensibilidade à insulina e concentração do cortisol salivar em gestantes com doença periodontal.** 2015. f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva e Social) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2015.

Resumo Geral

O diabetes *mellitus* gestacional, caracterizado por alterações hormonais e metabólicas que resultam em intolerância à glicose durante a segunda metade da gestação, pode resultar de alterações na resistência celular à insulina. A resistência à insulina pode ser decorrente do aumento progressivo da concentração plasmática dos hormônios placentários progesterona, estrógenos, somatomatotropina coriônico humano e do hormônio de crescimento placentário e do hormônio hipofisário prolactina. O cortisol, que também apresenta concentração plasmática aumentada no terceiro trimestre gestacional, estimula a gliconeogênese hepática e inibe a captação de glicose mediada pela insulina no músculo esquelético e tecido adiposo. Esse aumento de cortisol pode ser intensificado por fatores emocionais típicos das transformações que a gravidez produz, além do estresse cada vez mais exacerbado pela vida moderna, podendo promover a resistência insulínica. A doença periodontal, considerada a segunda patologia bucal mais prevalente no mundo, pode ser agravada na gravidez, devido às alterações hormonais. Objetivando avaliar se a doença periodontal, associada ao aumento de cortisol, pode alterar a sensibilidade à insulina, foi feito um estudo com 96 gestantes usuárias do Sistema Único de Saúde, em um município do interior paulista. Trata-se de um estudo caso-controle, com abordagem quali-quantitativa, em que as pacientes foram divididas em 3 grupos: periodonto saudável, gengivite e periodontite. Após análise estatística feita por análise de variância e teste de Turkey, verificou-se que o grupo com periodontite apresentou aumento significativo da glicemia, insulinemia, resistência à insulina e nível de estresse percebido quando comparado ao grupo de pacientes com periodonto saudável e gengivite. A detecção de fatores que possam contribuir para a resistência insulínica é de suma importância, pois uma alteração na homeostase glicêmica pode configurar agravos materno-fetais, tais como maturação pulmonar tardia ou macrossomia fetal.

Palavras-chave: Gravidez. Diabetes gestacional. Doenças periodontais. Hidrocortisona. Estresse fisiológico.

SERAPHIM, A. P. C. G. **Relationship among periodontal disease, insulin resistance, salivary cortisol concentration and level of perceived stress in pregnant women.** 2015. f. Dissertação (Mestrado em Odontologia Preventiva e Social) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2015.

Abstract

Gestational diabetes mellitus, characterized in hormonal and metabolic changes that result in glucose intolerance during the second half of pregnancy may result from alterations in cellular resistance to insulin. Insulin resistance may be due to the progressive increase in the plasma concentration of placental hormone progesterone, estrogens, somatomammotropin human chorionic and placental growth hormone and pituitary hormone prolactin. Cortisol, which also features plasma concentration increased in the third trimester stimulates hepatic gluconeogenesis and inhibits the pickup of glucose mediated by insulin in skeletal muscle and adipose tissue. This increase in cortisol can be enhanced by typical emotional factors of the changes that pregnancy produces, in addition to stress increasingly exacerbated by modern life, and may promote insulin resistance. Periodontal disease, considered the second most prevalent oral disease in the world, can be exacerbated in pregnancy due to hormonal changes. To evaluate whether periodontal disease, associated with increased cortisol can alter insulin sensitivity, it was made a study of 96 pregnant women users of the Unified Health System, in a city of São Paulo. It is a case-control study, with qualitative and quantitative approach, in which patients were divided into 3 groups: healthy periodontal, gingivitis and periodontitis. After statistical analysis by ANOVA and Tukey's test, it was found that the group with periodontitis had significantly increased blood glucose, insulin, insulin resistance and perceived stress level when compared to the group of patients with gingivitis and periodontal health. The detection of factors that may contribute to insulin resistance is of paramount importance because a change in glucose homeostasis can configure maternal-fetal diseases such as lung maturation or late fetal macrosomia.

Keywords: Pregnancy, Gestational diabetes, Periodontal diseases, Hydrocortisone. Physiological stress.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Glicemia, insulinemia, índice HOMA-IR e concentração de cortisol salivar em gestantes com saúde periodontal (CN), gengivite (GI) e periodontite (PI)	33
Tabela 2 – Escore do nível de estresse percebido em gestantes com saúde periodontal (CN), gengivite (GI) e periodontite (PI)	34

Lista de Abreviaturas

GLUT4	=	Proteína Transportadora de Glicose Tipo 4
CSH	=	Hormônio Somatomamotropina Coriônica Humano
ACTH	=	Hormônio Adrenocorticotrófico
HPL	=	Lactogênio Placentário Humano
PGH	=	Hormônio de Crescimento Placentário
CRH	=	Hormônio Liberador de Corticotrofina
RI	=	Resistência à Insulina
CN	=	Periodonto Saudável
DM	=	Diabetes Mellitus
DMG	=	Diabetes <i>Mellitus</i> Gestacional
EEP	=	Escala de Estresse Percebido
EPM	=	Erro Padrão da Média
GI	=	Gengivite
HOMA-IR	=	Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance
IKK	=	I κ B quinase
IL-6	=	Interleucina 6
IPC	=	Índice Periodontal Comunitário
IRS-1	=	Receptor de Substrato de Insulina 1
JNK	=	c-Jun amino-terminal kinase
PI	=	Periodontite
SUS	=	Sistema Único de Saúde
TNF- α	=	Fator de Necrose Tumoral α

Sumário

1	<i>Introdução Geral</i>	20
2	<i>Avaliação da Sensibilidade à Insulina e Concentração do Cortisol Salivar em Gestantes com Doença Periodontal</i>	24
2.1	Resumo	25
2.2	Resumen	26
2.3	Abstract	27
2.4	Introdução	28
2.5	Material e Métodos	30
2.6	Resultados	33
2.7	Discussão	35
2.8	Conclusão	37
2.9	Referências	38
	<i>Anexos</i>	

1 *Introdução Geral*

A gravidez é um período de transformações metabólicas e emocionais transitórias e fisiologicamente orquestradas de forma a permitir a adaptação do organismo materno para o desenvolvimento adequado do feto. As alterações metabólicas são decorrentes de fatores hormonais e são necessárias para suprir a demanda fetal de nutrientes¹.

Na primeira metade da gestação, o metabolismo materno é direcionado para o acúmulo de energia necessária para suportar as demandas que o crescimento fetal e desenvolvimento útero-placentar requisitam. Dentre as alterações verificadas, observa-se hiperplasia das células β (secretoras de insulina) do pâncreas promovendo aumento na secreção de insulina. Como a sensibilidade à insulina está preservada nesta fase gestacional, esta hiperinsulinemia promove a lipogênese e limita a oxidação de ácidos graxos, facilitando o armazenamento de gordura². Na segunda metade gestacional o metabolismo materno pode se modificar devido ao aparecimento da resistência à insulina. Esta resistência pode ser considerada uma adaptação fisiológica da gravidez que permite adequada distribuição de nutrientes entre mãe e feto ao facilitar a utilização materna de ácidos graxos livres e poupar glicose, aminoácidos, ácidos graxos essenciais e cetonas para o transporte placentário-fetal, bem como para o crescimento fetal². A diminuição da sensibilidade à insulina, no período final da gestação, fica em torno de 45 a 70%, quando comparadas às não-gestantes³.

Dentre as alterações hormonais características da gestação, verifica-se um aumento progressivo na produção de progesterona e estrógenos pela placenta ao longo da gestação, bem como do hormônio somatomatotropina coriônica humana (CSH, também chamado de lactogênio placentário humano- HPL), do hormônio de crescimento placentário (PGH), do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e a intensificação na concentração de fator de necrose tumoral (TNF- α). Essas alterações podem ser responsáveis pela resistência à insulina, característica dessa fase gestacional².

A progesterona contribui para a resistência insulínica ao reduzir a expressão da proteína transportadora de glicose tipo 4 (GLUT4), que é responsável pelo transporte de glicose para o interior celular em tecidos sensíveis à insulina, como o tecido muscular e adiposo³. Estrógenos estimulam a formação de prolactina, considerada, por alguns autores, um hormônio diabotogênico⁴. Em um estudo feito com ratos, Matsuda⁴ verificou a interferência da prolactina nos níveis glicêmicos, associando a ação da prolactina à promoção da resistência insulínica.

A resistência insulínica também pode ser justificada pelo CSH, cujos níveis crescem rapidamente no primeiro e segundo trimestres e alcançam seu pico nas últimas quatro semanas de gravidez. O CSH, juntamente com progesterona promove redução do número de moléculas de GLUT4 nos tecidos periféricos, com conseqüente aumento da resistência periférica à insulina (RI)³. Outro hormônio que também promove RI é o cortisol, ao estimular a gliconeogênese hepática e inibir a captação de glicose insulina-dependente em músculos esqueléticos e tecido adiposo³. Ademais, a secreção progressiva de GH placentário contribui para a resistência à insulina. Ratos com altas concentrações de GH placentário apresentaram insulina, em jejum, quatro a sete vezes aumentadas, sugerindo ser esse hormônio responsável pela resistência insulínica característica da gravidez³.

Após a trigésima semana de gestação há aumento das concentrações plasmáticas TNF- α . O TNF- α é derivado do tecido adiposo materno e, em menor quantidade, da placenta e contribui para a resistência à insulina inibindo a captação de glicose mediada pela insulina nos músculos esqueléticos e estimulando a lipólise no tecido adiposo. O TNF- α também atua em associação com o PGH, promovendo uma diminuição na expressão de adiponectina em pré-adipócitos³.

Todas essas alterações ocorridas na gestação são fisiológicas, mas se associadas a fatores de risco como idade materna acima de 35 anos, obesidade ou ganho excessivo de peso durante a gestação, multiparidade, história familiar de diabetes, antecedentes de macrosomia fetal ou diabetes, podem levar ao quadro de diabetes gestacional⁶.

Estudos têm demonstrado associação positiva entre níveis de glicose materna aumentados e hiperglicemia no feto. A demanda aumentada de glicose ao feto promove crescimento acelerado deste, com posterior hipoglicemia ao nascer, além de outras complicações como parto prematuro, distocia do ombro, cuidados intensivos neonatais, hiperbilirrubinemia e pré-eclâmpsia⁷.

Estudo realizado por Kjos⁸ sugere que o crescimento fetal acelerado, principal complicação da DMG, inicia-se antes do diagnóstico da DMG, demonstrando a importância da detecção da resistência à insulina.

As alterações metabólicas da gestação também podem intensificar a resposta inflamatória do hospedeiro, podendo exacerbar ou facilitar o desenvolvimento de um quadro de doença periodontal⁹. Tal quadro pode ser exacerbado devido a alterações no sistema imunológico da gestante, caracterizadas por uma menor expressão do sistema imunológico adaptativo e aumento da manifestação do sistema inato¹⁰.

Vários estudos reconheceram a ligação entre algumas doenças sistêmicas, como osteoporose, doenças imunológicas e diabetes com a possibilidade de aumento do risco de desenvolver a doença periodontal. Entretanto, estudos recentes vêm contribuindo para a observação de que a doença periodontal pode ser fator ou indicador de risco para vários episódios médicos importantes, como doenças cardiovasculares, pulmonares, arterosclerose e inflamações e infecções¹¹.

Em um estudo feito com 48 ratos não diabéticos, verificou-se a elevação dos níveis de TNF- α (fator de necrose tumoral) plasmático em ratos com doença periodontal em relação àqueles sem doença periodontal. Os autores sugerem que o aumento da concentração plasmática de TNF- α provocado pela doença periodontal pode ter contribuído para a diminuição da sensibilidade à insulina observada nos animais com doença periodontal¹².

As manifestações clínicas da doença periodontal, como o sangramento e dor, podem contribuir para exacerbar o estresse, tão presente no cotidiano moderno e que pode estar intensificado pelos fatores hormonais e psicológicos da gestação¹³.

A resposta hormonal ao estresse é necessária para o enfrentamento de situações adversas bem como para o desenvolvimento e preparação do feto para a vida extrauterina. Entretanto, níveis elevados do hormônio cortisol pode ter influência negativa sobre o desenvolvimento fetal¹⁴.

Experiências positivas durante a gravidez foram associadas a níveis mais baixos de cortisol, sugerindo que situações de estresse durante a gestação estão relacionadas a níveis mais altos de cortisol. Entretanto é importante salientar que, como os níveis de cortisol elevam-se durante a gravidez, muitas vezes essa associação torna-se difícil¹⁵.

O estresse, atuando como fator predisponente do aumento de cortisol, juntamente com as consequências de um processo inflamatório, como a doença periodontal, que promove a secreção de TNF- α , intensificando a produção já exacerbada do terceiro trimestre gestacional, pode contribuir para a resistência à insulina típica da gravidez, intensificando-a e podendo resultar em diabetes *mellitus* gestacional, que poderia ser evitada com o controle da infecção, do estresse ou de ambos.

Essa mudança de paradigma que relaciona a saúde periodontal com a saúde sistêmica, possibilitando que a partir da melhora do quadro de saúde periodontal possa haver diminuição da morbidade e mortalidade por doenças sistêmicas¹¹ e complicações materno-fetais, justifica a realização desse estudo.

Esta dissertação foi elaborada em um capítulo em que se verifica a associação entre doença periodontal, concentração de cortisol salivar, avaliação de estresse percebido e resistência insulínica calculada a partir do HOMA-IR em gestantes entre o quinto e sétimo mês gestacional.

• Referências listadas no ANEXO

Seraphim
APCG

Avaliação da Sensibilidade à Insulina e Concentração do Cortisol Salivar em Gestantes com Doença Periodontal

*Avaliação da Sensibilidade à Insulina
e Concentração do Cortisol Salivar em
Gestantes com Doença Periodontal*

2.1 *Resumo*

A gravidez é um período de importantes mudanças hormonais e metabólicas que possibilitam a manutenção da saúde do organismo materno e o desenvolvimento adequado do feto. Objetivo: Este estudo objetivou avaliar a relação entre a doença periodontal, resistência insulínica, a concentração de cortisol salivar e o nível de estresse percebido em gestantes, averiguando a possibilidade de uma correlação com o desencadeamento do diabetes mellitus gestacional. Material e método: Esta pesquisa trata-se de um estudo de caso-controle. A amostra foi composta por 96 gestantes entre o quinto e sétimo mês de gestação cadastradas nas Unidades Básicas de Saúde do Sistema Único de Saúde. Após obtenção do consentimento livre e esclarecido, foi realizada a avaliação da condição periodontal das pacientes e estas foram distribuídas em 3 grupos: pacientes com periodonto saudável (CN – n= 43), com gengivite (GI – n= 26) e com periodontite (PI – n= 23). Foram realizadas coletas de amostras de saliva e de sangue para avaliação, respectivamente, da concentração de cortisol salivar e da glicemia, insulinemia e índice HOMA-IR. Também foi aplicado um questionário validado para avaliação do nível de estresse percebido. Resultados: Observou-se que o grupo PI apresentou um aumento significativo na glicemia, insulinemia, resistência à insulina e nível de estresse percebido quando comparado com os grupos CN e GI. Não foi observada diferença entre os grupos em relação à concentração de cortisol salivar. Conclusão: Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que existe relação entre maiores níveis de estresse percebido, resistência à insulina e ocorrência de periodontite durante a gestação. Portanto, o presente estudo enfatiza a importância da manutenção da saúde periodontal no intuito de prevenir a resistência à insulina e estresse na gestação, pois isto pode ocasionar complicações sistêmicas à gestante e ao feto.

Palavras-chave: Gravidez. Diabetes gestacional. Doenças periodontais. Hidrocortisona. Estresse fisiológico.

2.2 *Resumen*

El embarazo es un período de importantes cambios hormonales y metabólicos que hacen posible mantener la salud del cuerpo de la madre y el buen desarrollo del feto. **Objetivo:** Este estudio tuvo como objetivo evaluar la relación entre la enfermedad periodontal, resistencia a la insulina, la concentración de cortisol salival y el nivel de estrés percibido en las mujeres embarazadas, la comprobación de la posibilidad de una correlación con la aparición de la diabetes mellitus gestacional. **Métodos:** La presente investigación es un caso-control. La muestra consistió en 96 mujeres embarazadas entre el quinto y el séptimo mes de gestación registrada en las Unidades de Salud Sistema Nacional de Salud Básica. Después de obtener el consentimiento informado se llevó a cabo para evaluar el estado periodontal de los pacientes y éstos fueron divididos en 3 grupos : pacientes con periodonto sano (CN - n = 43), gingivitis (GI - n = 26) y la periodontitis (PI - n = 23). Las muestras se recogieron muestras de saliva y sangre para la evaluación, respectivamente, la concentración de cortisol salivar y la glucosa en sangre, la insulina y el índice HOMA-IR. También se aplicó un cuestionario validado para la evaluación del nivel de estrés percibido. **Resultados:** Se observó que el grupo PI mostró un aumento significativo de la glucosa en sangre, la insulina, resistencia a la insulina y el nivel de estrés percibido en comparación con la NC y grupos GI. No hubo diferencias entre los grupos en relación con la concentración de cortisol salivar. **Conclusión:** En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que existe una relación entre los niveles más altos de estrés percibido, resistencia a la insulina y la aparición de la enfermedad periodontal durante el embarazo. Por lo tanto, este estudio hace hincapié en la importancia de prevenir la periodontitis con el fin de prevenir la resistencia a la insulina y el estrés durante el embarazo porque puede causar complicaciones sistémicas para la madre y el feto.

Palabras clave: Embarazo. La diabetes gestacional. Las enfermedades periodontales. La hidrocortisona. Estrés fisiológico.

2.3 *Abstract*

Pregnancy is a period involving important metabolic changes that enable the maintenance of the mother's health and development of the fetus. This study aimed to assess the relationship among periodontal disease, insulin resistance, salivary cortisol concentration, and level of perceived stress in pregnant women. This was a case-control study. The sample comprised 96 pregnant women between the fifth and seventh month of pregnancy registered at the Basic Health Units of the Unified Health System. The periodontal condition was assessed after obtaining free and informed consent from the participants. Participants were divided into three groups: subjects with a healthy periodontal condition (CN; n = 43), patients with gingivitis (GI; n = 26), and patients with periodontitis (PI; n = 23). Saliva and blood samples were collected for evaluation of salivary cortisol concentration, glycemia, insulinemia, and Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance index. A validated survey for the assessment of perceived stress levels was also performed. PI group showed significantly higher blood glucose levels, insulinemia, insulin resistance, and level of perceived stress compared with the CN and GI groups. There was no significant difference in the concentration of salivary cortisol between the groups. It was concluded that there is a relationship between higher levels of perceived stress, insulin resistance, and the occurrence of periodontal disease during pregnancy. This study emphasizes the importance of preventing periodontitis in order to avoid insulin resistance and stress during pregnancy since these can cause systemic complications for the mother and the fetus.

Keywords: Pregnancy, Gestational diabetes, Periodontal diseases, Hydrocortisone. Physiological stress.

2.4 Introdução

O diabetes mellitus gestacional (DMG) pode ser definido como qualquer grau de intolerância à glicose que se inicia durante a gravidez. Geralmente desenvolve-se no segundo trimestre de gestação e desaparece após o parto¹. O DMG atinge cerca de 16,9% das mulheres entre os 20 e 49 anos que se encontram no período gestacional, afetando em torno de 21,4 milhões de crianças recém-nascidas em 2013 e mais de 90% dos casos ocorrem em países de baixa e média renda².

A gravidez é um período de importantes mudanças hormonais e metabólicas que possibilitam a manutenção da saúde do organismo materno e o desenvolvimento adequado do feto³.

O aumento nos níveis de estrógenos, como a progesterona, pode promover alterações na resposta imunológica, dilatação dos capilares gengivais e liberação de exudato gengival, o que pode explicar a exacerbação do processo inflamatório gengival durante o período gestacional^{4,5}.

A gengivite (GI) pode atingir cerca de 60 a 75% das gestantes, caracterizando-se por ser uma doença inflamatória dos tecidos moles circundantes do dente, enquanto a periodontite (PI), afeta um número menor de gestantes, atingindo cerca de 30% das pacientes, mas com consequências mais severas, com destruição das estruturas de suporte dos dentes podendo resultar em perda dentária⁶. Estudos têm demonstrado que situações de estresse podem alterar significativamente a resposta imunológica e comportamental do indivíduo, e sabe-se que uma maior susceptibilidade para a doença periodontal ocorre em função de um desequilíbrio entre a resposta do hospedeiro e a ação patogênica dos microrganismos. Dessa forma é importante considerar o estresse como um fator de predisposição para o desenvolvimento de doença periodontal⁷.

O estresse pode ser quantificado por meio da escala de estresse percebido (EEP)⁸. O elevado nível de estresse percebido, mensurado por meio da EEP, pode estar associado com desequilíbrios fisiológicos, como altos níveis de cortisol⁹.

Sabe-se que o aumento de cortisol pode ser intensificado por fatores emocionais típicos das transformações produzidas na gravidez¹⁰. Ademais, o cortisol pode estimular a gliconeogênese hepática e inibir a captação de glicose estimulada por insulina no músculo esquelético e tecido adiposo, podendo contribuir para o desenvolvimento de resistência à insulina¹¹.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a relação entre a doença periodontal, resistência insulínica, a concentração de cortisol salivar e o nível de estresse percebido em gestantes (5 aos 7 meses de gestação), averiguando a possibilidade de uma correlação com o desencadeamento do diabetes mellitus gestacional.

2.5 *Material e Métodos*

O presente trabalho é caracterizado como um estudo de caso-controle com abordagem quali-quantitativa. A amostra foi composta por 96 gestantes cadastradas nas Unidades Básicas de Saúde do Sistema Único de Saúde (SUS) de um município brasileiro, entre outubro de 2014 e março de 2015.

Foram convidadas a participar do estudo as gestantes que preencheram os critérios de inclusão: entre 20 e 40 anos de idade e período gestacional entre quinto e sétimo mês. Foram considerados critérios de exclusão: obesidade, diabetes, alcoolismo, dependência química, história de recém-nascidos macrossômicos, doença periodontal avançada com sangramento espontâneo que prejudicasse a coleta salivar, transtornos depressivos, vítimas de violência doméstica e tabagismo.

Foi obtido consentimento por escrito de todas as participantes e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, protocolo n. 818450, sendo enquadrado na modalidade de risco mínimo, de acordo com o preconizado pela resolução 466 do Conselho Nacional de Saúde, relativo à pesquisa em seres humanos.

Exame periodontal

A saúde do tecido periodontal foi avaliada por meio do Índice Periodontal Comunitário (IPC)¹². A coleta dos dados foi realizada por um único examinador em cadeira odontológica, com o uso de refletor, espelho e sonda periodontal. Dividiu-se a boca em sextantes¹² e avaliaram-se seis sítios de cada dente índice (17, 16, 11, 26, 27, 47, 46, 31, 36 e 37) e o código mais alto anotado, de acordo com o seguinte critério: 0 (saudável), 1 (sangramento gengival após sondagem), 2 (presença de cálculo supra ou subgengival, 3 (bolsa periodontal de 4-5mm) e 4 (bolsa periodontal de 6 mm ou mais). A profundidade da bolsa foi determinada utilizando a medida que vai da base da bolsa periodontal à margem gengival livre, feita com a sonda periodontal. As participantes foram categorizadas em: situação periodontal saudável - CN (IPC=0), gengivite - GI (IPC=1 e 2) e periodontite - PI (IPC=3 e 4). Nessa mesma ocasião, a pressão arterial foi aferida com um esfigmomanômetro aneróide com coluna de mercúrio, com o manguito no braço esquerdo, após 5 minutos de descanso e com a gestante sentada. Foi considerada hipertensão arterial a pressão $\geq 140/90$ mmHg¹³.

Cortisol salivar

A coleta salivar foi realizada entre 07h30min e 08h00 da manhã, diretamente no tubo Salivette, sendo a gestante orientada a não se alimentar e nem escovar os dentes nas duas horas que antecederam à coleta do material. Os tubos foram devidamente tampados e armazenados a -20 C. Esta temperatura mantém a amostra estável. Os salivettes foram centrifugados a 1000 x g por 2 minutos, resultando em amostra salivar limpa e fluida, que foi utilizada para determinar a concentração de cortisol pelo método ELISA.

Avaliação da glicemia, insulinemia e índice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance)

Métodos de análise: As amostras de plasma foram utilizadas para a determinação dos valores de glicemia pelo método da glucose-oxidase (enzimática da glicose, Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, MG, Brasil), e de insulinemia pelo método de radioimunologia (Coat-A-Count, DPC, Diagnostic produtos, Los Angeles, CA, EUA). A resistência à insulina foi avaliada pelo índice de HOMA IR (homeostasis model assessment of insulin resistance), calculado pela fórmula: $HOMA - IR = \text{glicemia de jejum (mmol / L)} \times \text{insulinemia de jejum } (\mu\text{UI / mL}) / 22.5^{14}$.

Avaliação do estresse

O estresse foi avaliado por meio da Escala de Estresse Percebido (PPS) traduzida e validada para o português¹⁵. Foi utilizada a versão com 10 questões, já que os resultados da PSS com 14 questões apresentaram-se similares aos da PSS com 10 questões¹⁵. Trata-se de uma autoavaliação por meio de questões com opções de resposta que variam de zero a quatro (0= nunca; 1= quase nunca; 2= às vezes; 3= quase sempre; 4= sempre). As questões 4, 5, 7 e 8 são consideradas de conotação positiva, ou seja, demonstram ausência de estresse e por isso tem sua pontuação invertida, da seguinte maneira, 0=4, 1=3, 2=2, 2. Enquanto que as questões 1, 2, 3, 6, 9 e 10 são consideradas de conotação negativa e por isso interferem no nível de estresse e devem ser somadas diretamente conforme os números da escala¹⁵. Ao somarem os escores das 10 questões estes podem variar de zero a 40. Em relação aos resultados da escala, é comum a prática de classificar os escores em categorias, como: baixo, médio e alto, porém os autores da

escala não recomendam esta prática, visto que, ao se enquadrar diferentes escores de uma mesma categoria, perder-se-á a precisão nas análises estatística¹⁵. Pelo fato dos escores da PSS se apresentarem de forma contínua, estes devem ser analisados como tal, não agrupando ou somando os escores, para observar o conjunto de fatores de forma individual¹⁵. A PSS foi aplicada obedecendo alguns cuidados conforme orientações dos autores¹⁵: necessidade de dizer a frase inicial “neste último mês, com que frequência você...”, antes de dizer cada pergunta; certificação de que cada participante do estudo havia entendido que as perguntas se referiam a como ela vinha se sentindo no último mês; as opções de respostas da escala (nunca, quase nunca, às vezes, quase sempre e sempre) foram repetidas no final de todas as perguntas, e mesmo assim foi mostrado o questionário impresso com estas opções, para que a participante visualizasse as questões e as respostas. Após cada resposta, questão e resposta escolhida eram lidas para o entrevistado.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, utilizando o programa estatístico Graph Pad Prism (version 5.0). Todos os valores foram apresentados como média \pm EPM e as diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

2.6 Resultados

Glicemia, insulinemia, HOMA-IR e cortisol salivar

Os valores da glicemia, insulinemia, HOMA-IR e concentração de cortisol salivar podem ser observados na tabela 1. Observou-se que o grupo PI apresentou um aumento significativo em todos os parâmetros avaliados quando comparado com os grupos CN e GI, exceto em relação à concentração de cortisol salivar, na qual não foi observada diferença entre os grupos.

Tabela1- Glicemia, insulinemia, índice HOMA-IR e concentração de cortisol salivar em gestantes com saúde periodontal (CN), gengivite (GI) e periodontite (PI)

Parameter	CN	GI	PI
Glucose (mmol/L)	4,43 ± 0,05	4,46 ± 0,04	4,68 ± 0,08*#
Insulin (µU/mL)	6,93 ± 0,45	8,87 ± 0,79	12,77 ± 1,30*#
HOMA-IR	1,40 ± 0,10	1,81 ± 0,18	2,66 ± 0,29*#
Cortisol (ng/mL)	11,13 ± 0,58	11,96 ± 0,74	11,47 ± 0,74

Values as presented as mean ± standard error of the mean

* P<0,05 compared to control

#P<0,05 compared to gingivitis

Avaliação do nível de estresse percebido

Conforme visto na Tabela 2, o grupo PI apresentou maior nível de estresse percebido em relação aos grupos CN e GI.

Tabela 2- Escore do nível de estresse percebido em gestantes com com saúde periodontal (CN), gengivite (GI) e periodontite (PI)

Parameter	CN	GI	PI
Escore PPS	20,5 ± 0,05	25,8± 0,04	26,60 ± 0,08*

Values as presented as mean ± standard error

* P<0,05 compared to control

#P<0,05 compared to gingivitis

2.7 Discussão

No presente estudo observou-se uma associação entre periodontite, resistência à insulina e o nível de estresse percebido em mulheres entre o quinto e sétimo mês gestacional.

Estudos demonstram uma relação bidirecional entre periodontite e diabetes mellitus (DM), de forma que o DM pode ser considerado um importante fator de risco para o desenvolvimento de periodontite, enquanto a periodontite tem sido vista como um fator de predisposição ao DM¹⁶⁻¹⁹. Entretanto, embora a relação entre DM e periodontite seja bem estabelecida, poucos estudos investigaram a relação entre periodontite e DMG²⁰⁻²⁴. Alguns autores²⁵ demonstraram em ratos que a doença periodontal materna pode promover programação fetal, pois foi observado aumento tanto no grau de fosforilação em serina do IRS-1 no tecido adiposo (que ocasiona a diminuição do sinal insulínico) como nas concentrações plasmáticas de TNF- α , IL-6 e resistina²⁶ na prole adulta de ratas com doença periodontal. Além disso, patógenos periodontais podem chegar à cavidade amniótica e causar resultados adversos na gravidez, incluindo nascimento pré-termo e/ou baixo peso ao nascimento²⁷.

Nosso estudo demonstrou que o grupo PI apresentou maior resistência à insulina identificada pelo índice HOMA-IR, quando comparado com os demais grupos. Este resultado está de acordo com alguns autores²⁸ que relataram que mulheres com DMG apresentaram maior prevalência de periodontite quando comparadas com mulheres que não tiveram DMG. Os mecanismos envolvidos nestas alterações não são completamente elucidados, no entanto, sabe-se que a infecção presente na periodontite pode induzir uma resposta imune do hospedeiro, na qual as bactérias e seus produtos estimulam a produção local de citocinas pró-inflamatórias pelos leucócitos infiltrados nos tecidos periodontais inflamados²⁹. Essas citocinas tais como o TNF- α produzidos localmente, podem eventualmente atingir a circulação sistêmica e atuar em tecidos distantes da cavidade oral, podendo prejudicar o sinal insulínico e ocasionar resistência à insulina¹⁹. Uma outra pesquisa³⁰ demonstrou que periodontite crônica está associada com os níveis plasmáticos de TNF- α em pacientes com diabetes tipo 2, suportando a hipótese que infecção periodontal e inflamação podem contribuir para resistência à insulina. O TNF- α pode prejudicar a transdução do sinal insulínico devido a diminuição da fosforilação do IRS-1 em resíduos de tirosina³¹ e também por estimular serinas quinases como o I κ B quinase (IKK) e c-Jun amino-terminal kinase (JNK), que promovem a fosforilação do IRS-1 em resíduos de serina, resultando em atenuação do sinal insulínico³². Estudos “in vitro” utilizando

células placentárias de mulheres com DMG demonstraram que altas concentrações de glicose estimulam liberação de maiores quantidades de TNF- α , sugerindo que este mediador pode contribuir para resistência insulínica também na gestação³³. Convém salientar que o tratamento da periodontite pode melhorar o controle glicêmico em pacientes diabéticos^{34,35}.

A periodontite pode ser influenciada por vários fatores locais e sistêmicos, dentre eles o estresse psicológico. Estudos demonstram que o estresse psicológico pode ser um fator de risco para o desenvolvimento e exacerbação da periodontite, além de influenciar negativamente no resultado do tratamento da periodontite^{36,37}.

Embora não tenha sido observada diferença nos níveis de cortisol salivar entre os diferentes grupos, o presente estudo demonstrou que as gestantes do grupo PI apresentaram maior nível de estresse percebido de acordo com a EEP.

Estudos sugerem que o estresse psicossocial pode influenciar a higiene oral, e isto pode modificar a extensão e a severidade da periodontite³⁸. Alguns autores³⁹ avaliaram as concentrações séricas de cortisol, estado de estresse psicológico e parâmetros clínicos periodontais. Os resultados demonstraram uma correlação significativa entre os níveis de cortisol sérico e a severidade da periodontite, corroborando com a ideia de que o estresse pode ser um fator que contribui para o desenvolvimento de periodontite.

Uma outra pesquisa⁴⁰ não identificou aumento nos níveis de cortisol salivar materno com 14 semanas de gestação, contudo, esta diferença foi observada na trigésima semana. Esses dados corroboram parcialmente com nossos resultados, pois nossa análise foi realizada apenas uma vez entre o quinto e sétimo mês de gestação em virtude da dificuldade de dosagens adicionais, no entanto, reconhecemos como limitação do estudo o fato de termos realizado somente uma dosagem. Convém salientar que o presente estudo é um dos primeiros a averiguar a relação entre os parâmetros periodontite, resistência à insulina, concentração de cortisol salivar e nível de estresse percebido em gestantes entre o quinto e sétimo mês de gestação.

2.8 Conclusão

Podemos concluir que existe relação entre maiores níveis de estresse percebido, resistência à insulina e ocorrência de periodontite durante a gestação. Desta maneira, o presente estudo enfatiza a importância de prevenir a periodontite no intuito de evitar a resistência à insulina e estresse na gestação, pois isto pode ocasionar complicações sistêmicas à gestante e ao feto.

2.9 Referências

1. Hayes C. Long-term prognostic factors in the diagnosis of gestational diabetes. *British Journal of Nursing* 2009; 18: 523-26.
2. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, Whiting DR, Cho NH. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 103: 176-85.
3. Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, Challier JC, Huston-Presley L, Friedman JE, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes* 2002; 51: 2207-13.
4. Moimaz SAS, Carmo MP, Zina LG, Saliba NA. Associação entre condição periodontal de gestantes e variáveis maternas e de assistência à Saúde. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2010; 10: 271-8.
5. Yalcin F, Eskinazi E, Soydine M, Basegmez C, Issever H. The effect of sociocultural status on periodontal conditions in pregnancy. *J Periodontol* 2002; 73:178-82.
6. Silk H, Douglass AB, Douglass JM, Silk L. Oral health during pregnancy. *Am Fam Physician* 2008; 77:1139-44.
7. Ayub LG, Novaes J, Belém A, Grisi MFM, Souza LSL, Palioto DB, Leite-Panissi CRA, Taba JMI. Estresse como possível fator de risco para a doença periodontal – revisão de literatura. *R. Periodontia* 2010; 20: 28–36.
8. Cohen S, Karmack T, Mermelsteinm R. A global measure of perceived stress. *J Health Soc Behav* 1983; 24: 385-96.
9. Goldman N, Gleib DA, Seplaki C, Liu IW, Weinstein M. Perceived stress and physiological dysregulation in older adults. *Stress* 2005; 8:95-105.
10. Tuppi P, Haluszczak C, Betters D, Richard CA, Trucco M, DeLoia JA. Monocytes are progressively activated in the circulation of pregnant women. *J. Leukoc Biol* 2002; 72:874-84.
11. Buss C, Davis EP, Shahbaba B, Pruessner JC, Head K, Sandman CA. Maternal cortisol over the course of pregnancy and subsequent child amygdala and hippocampus volumes and affective problems. *PNAS* [serial online] 2012 April [cited 2015 Sep 22]; [8 screens]. Available from: URL: <http://www.pnas.org/content/109/20/E1312.full.pdf>

12. Freemark M. Regulation of maternal metabolism by pituitary and placental hormones: roles in fetal development and metabolic programming. *Horm Res* 2006; 65: 41-49.
13. World Health Organization (Switzerland). *Oral Health Surveys. Basic Methods*. Geneva: World Health Organization. Geneva: World Health Organization; 1997.
14. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Nefrologia (BR). V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. São Paulo (SP): Sociedade Brasileira de Cardiologia. Sociedade Brasileira de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Nefrologia; 2006.
15. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23: 57-63.
16. Luft CB, Sanches SO, Mazo GZ, Andrade A. Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: tradução e validação para idosos. *Rev. Saúde Pública* 2007; 41: 106-15.
17. Demmer RT, Jr DRJ, Desvarieux M. Periodontal Disease and Incident Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31: 1373-79.
18. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 738-48.
19. Arora N, Papapanou PN, Rosenbaum M, Jacobs DR Jr, Desvarieux M, Demmer RT. Periodontal infection, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: results from the Continuous National Health and Nutrition Examination Survey 2009–2010. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 643-52.
20. Colombo NH, Shirakashi DJ, Chiba FY, Coutinho SL, Ervolino E, Garbin CA, et al. Periodontal disease decreases insulin sensitivity and insulin signaling. *J Periodontol* 2012; 83: 864-70.
21. Novak KF, Taylor GW, Dawson DR, Ferguson JE, Novak MJ. Periodontitis and gestational diabetes mellitus: exploring the link in NHANES III. *J Public Health Dent* 2006; 66, 163-8.
22. Xiong X, Buekens P, Vastardis S, Pridjian G. Periodontal disease and gestational diabetes mellitus. *American J Obstetrics Gynecology* 2006; 195: 1086-9.
23. Dasanayake AP, Chhun N, Tanner ACR, Craig RG, Lee MJ, Moore AF, Norman RG. Periodontal pathogens and gestational diabetes mellitus. *J Dent Res* 2008; 87, 328-33.

24. Xiong X, Elkind-Hirsch KE, Vastardis S, Delarosa RL, Pridjian G, Buekens P. Periodontal disease is associated with gestational diabetes mellitus: a case-control study. *J Periodontol* 2009; 80: 1742-9.
25. Ruiz DR, Romito GA, Dib SA. Periodontal disease in gestational and type I diabetes mellitus pregnant women. *Oral Dis* 2011; 17: 515-21.
26. Shirakashi DJ, Leal RP, Colombo NH, Chiba FY, Garbin CA, Jardim EG Jr, et al. Maternal periodontal disease in rats decreases insulin sensitivity and insulin signaling in adult offspring. *J. Periodontol* 2013; 84: 407-14.
27. Torres-leal FL, Fonseca-Alaniz MH, Rogero MM, Tirapegui J. The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. *Cell Biochem Funct* 2010; 28: 623-31.
28. Ercan E, Eratalay K, Deren O, Gur D, Ozyuncu O, Altun B, et al. Evaluation of periodontal pathogens in amniotic fluid and the role of periodontal disease in pre-term birth and low birth weight. *Acta Odontol Scand* 2013; 71: 553-9.
29. Xiong X, Elkind-Hirsch KE, Xie Y, Delarosa R, Maney P, Pridjian G, et al. Periodontal disease as a potential risk factor for the development of diabetes in women with a prior history of gestational diabetes mellitus. *J Public Health Dent* 2013; 73: 41-9.
30. Amar S, Han X. The impact of periodontal infection on systemic diseases. *Med Sci Monit* 2003; 9: 291-9.
31. Engebretson S, Chertog R, Nichols A, Hey-Hadavi J, Celenti R, Grbic J. Plasma levels of tumour necrosis factor-alpha in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 18-24.
32. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1 mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- alpha- and obesity- induced insulin resistance. *Science* 1996; 271: 665-8.
33. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med* 2012; 18: 363-74.
34. Coughlan MT, Oliva K, Georgiou HM, Permezel JM, Rice GE. Glucose-induced release of tumour necrosis factor-alpha from human placental and adipose tissues in gestational diabetes mellitus. *Diabet Med* 2001;18:921-7.
35. Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Wu YM, Ren YZ, Qin GM. Inflammatory cytokines, adiponectin, insulin resistance and metabolic control after periodontal intervention in patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis. *Intern Med* 2011; 50: 1569-74.

36. Munenaga Y, Hiroshima Study Group, Yamashina T, Tanaka J, Nishimura F. Improvement of glycated hemoglobin in Japanese subjects with type 2 diabetes by resolution of periodontal inflammation using adjunct topical antibiotics: Results from the Hiroshima Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 100: 53-60.
37. Bakri I, Douglas CW, Rawlinson A. The effects of stress on periodontal treatment: a longitudinal investigation using clinical and biological markers. *J Clin Periodontol* 2013; 40: 955-61.
38. Goyal S, Jajoo S, Nagappa G, Rao G. Estimation of relationship between psychosocial stress and periodontal status using serum cortisol level: a clinico-biochemical study. *Indian J Dent Res* 2011; 22: 6-9.
39. Deinzer R, Hilpert D, Bach K, Schawacht M, Herforth A. Effects of academic stress on oral hygiene - a potential link between stress and plaque-associated disease? *J Clin Periodontol* 2001; 28: 459-64.
40. Ishisaka A, Ansai T, Soh I, Inenaga K, Awano S, Yoshida A, et al. Association of cortisol and dehydroepiandrosterone sulphate levels in serum with periodontal status in older Japanese adults. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 853-61.
41. Obel C, Hedegaard M, Henriksen TB, Secher NJ, Olsen J, Levine S. Stress and salivary cortisol during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30: 647- 56.

ANEXO A

Lista de referências da Introdução Geral

Referências

1. Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, Challier JC, Huston-Presley L, Friedman JE, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes* 2002; 51: 2207-13.
2. Freemark M. Placental hormones and the control of fetal growth. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2010; 95: 2054-2057.
3. Freemark M. Regulation of maternal metabolism by pituitary and placental hormones: roles in fetal development and metabolic programming. *Horm Res* 2006; 65: 41-49.
4. Matsuda M, Takao M, Shuji S, Shinobu S, Min K.P, Scuchiro K. Chronic Effect of Hyperprolactinemia on blood glucose and lipid levels in mice. *Life Sciences* 1996; 58: 1171-1177.
5. Mastarokos G, Ilias I. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2003; 997: 136-149.
6. Lyra R, Cavalcanti N. *Diabetes Mellitus*. Ed. Guanabara Koogan, São Paulo, 2013.
7. Metzger B E, Lowe L P, Dyer A R, Trimble E R, Chaovarindr U, Coustan D R *et al.* Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*. 2008; 358(19):1991-2002.
8. Kjos S L, Schaefer-Graf U, Sardesi S, Peters R K, Buley A, Xiang A H, *et al.* A randomized controlled trial using glycemic plus fetal ultrasound parameters versus glycemic parameters to determine insulin therapy in gestational diabetes with fasting hyperglycemia. *Diabetes Care*. 2001;24(11):1904-10.
9. Moimaz SAS, Carmo MP, Zina LG, Saliba NA. Associação entre condição periodontal de gestantes e variáveis maternas e de assistência à Saúde. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr* 2010; 10: 271-8.
10. Garcia R I, Henshaw M M, Krall E A. Relationship between periodontal disease and systemic health. *Periodontology* 2000; 25:21-36.

11. Colombo NH, Shirakashi DJ, Chiba FY, Coutinho SL, Ervolino E, Garbin CA, et al. Periodontal disease decreases insulin sensitivity and insulin signaling. *J Periodontol* 2012; 83: 864-70.
12. Ayub LG, Novaes J, Belém A, Grisi MFM, Souza LSL, Palioto DB, Leite-Panissi CRA, Taba JMI. Estresse como possível fator de risco para a doença periodontal – revisão de literatura. *R. Periodontia* 2010; 20: 28–36.
13. Obel C, Hedegaard M, Henriksen TB, Secher NJ, Olsen J, Levine S. Stress and salivary cortisol during pregnancy. *Psychoneuroendocrinology* 2005; 30: 647- 56.
14. Pluess M, Wurmser H, Buske-Kirschbaum A, Papouse M, Pirke K, Saisho Y, Miyakoshi K, Ikenoue S, Kasuga Y, Matsumoto T, Minegishi K, Yoshimura Y, Itoh H. Marked decline in beta cell function during pregnancy leads to the development of glucose intolerance in Japanese women. *Endocr J.* 2013; 60 (4): 533-9.

ANEXO B

Escala de Estresse Percebido

ESCALA DE ESTRESSE PERCEBIDO (PPS)

As questões nesta escala perguntam a respeito dos seus sentimentos e pensamentos durante os últimos 30 dias (último mês). Em cada questão indique a frequência com que você se sentiu ou pensou a respeito da situação.

1. Com que frequência você ficou aborrecido por causa de algo que aconteceu inesperadamente? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

2. Com que frequência você sentiu que foi incapaz de controlar coisas importantes na sua vida? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

3. Com que frequência você esteve nervoso ou estressado? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

4. Com que frequência você esteve confiante em sua capacidade de lidar com seus problemas pessoais? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

5. Com que frequência você sentiu que as coisas aconteceram da maneira que você esperava? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

6. Com que frequência você achou que não conseguiria lidar com todas as coisas que tinha por fazer? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

7. Com que frequência você foi capaz de controlar irritações na sua vida? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

8. Com que frequência você sentiu que todos os aspectos de sua vida estavam sob controle? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

9. Com que frequência você esteve bravo por causa de coisas que estiveram fora de seu controle? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

10. Com que frequência você sentiu que os problemas acumularam tanto que você não conseguiria resolvê-los? (considere os últimos 30 dias)

[0].Nunca [1].Quase Nunca [2].Às Vezes [3].Pouco Frequente [4] Muito Frequente

ANEXO C

Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da sensibilidade à insulina e concentração do cortisol salivar em gestantes com doença periodontal

Pesquisador: Ana Paula Castilho Garcia Seraphim

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 32541414.5.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: FUNDACAO PARA O DESENVOLVIMENTO DA UNESP - FUNDUNESP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 818.450

Data da Relatoria: 22/09/2014

Apresentação do Projeto:

O projeto está bem delimitado e seu objetivo visa analisar a relação entre a sensibilidade à insulina, concentração de cortisol salivar e nível de estresse em gestantes com doença periodontal. O diabetes mellitus gestacional, caracterizado por alterações hormonais e metabólicas que resultam em intolerância à glicose durante a segunda metade da gestação, pode ser observado em 7,6% das gestantes brasileiras. O diabetes gestacional pode resultar de alterações na resistência celular à insulina. Esta resistência à insulina pode ocorrer principalmente no terceiro trimestre de gestação e isto pode provocar um aumento da insulinemia para que ocorra um adequado transporte de glicose na célula. A resistência à insulina pode ser decorrente do aumento progressivo da concentração plasmática dos hormônios placentários progesterona, estrógenos, somatomatotropina coriônico humano e do hormônio de crescimento placentário e do hormônio hipofisário prolactina. O cortisol, que também apresenta concentração plasmática aumentada no terceiro trimestre gestacional devido à secreção de adrenocorticotrofina placentária e aumento da produção do hormônio liberador de corticotrofina, pode ter atuação importante na resistência insulínica. Esse hormônio liberado estimula a gliconeogênese hepática e inibe a captação de glicose estimulada pela insulina no músculo esquelético e tecido adiposo. Esse aumento de cortisol pode ser intensificado por fatores

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** anacmsn@foa.unesp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 818.450

emocionais típicos das

transformações que a gravidez produz, além do estresse cada vez mais exacerbado pela vida moderna, podendo promover a resistência insulínica. A doença periodontal, considerada a segunda patologia bucal mais prevalente no mundo, pode ser agravada na gravidez, devido às alterações hormonais. A doença periodontal, associada ao aumento de cortisol, pode alterar a sensibilidade à insulina. Essa alteração pode propiciar o

aparecimento de diabetes gestacional. A detecção de fatores que possam contribuir para a resistência insulínica é de suma importância, pois uma alteração na homeostase glicêmica pode configurar agravos materno-fetais, tais como maturação pulmonar tardia ou macrosomia fetal. O objetivo do presente estudo é avaliar a sensibilidade à insulina, concentração de cortisol salivar e nível de estresse em gestantes com doença periodontal, por meio de: 1) índice HOMA-IR calculado a partir dos valores do plasma materno de glicemia e insulinemia, em jejum; 2) avaliação da concentração

do cortisol salivar pelo método de ELISA; 3) verificação de doença periodontal por meio do Índice Periodontal Comunitário; 4) verificação do nível de estresse por meio de questionário validado (Escala de Estresse Percebido).

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo é avaliar o nível de estresse, por meio da Escala de Estresse Percebido (PSS), avaliar a concentração do cortisol salivar pelo método de ELISA, a resistência à insulina (pelo índice HOMA-IR) e a doença periodontal, obtida por meio do Índice Periodontal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: O risco da pesquisa é mínimo, pois serão realizados exame clínico, questionário e coleta de saliva que não causam dano ou transtorno. A coleta de

sangue para avaliar a glicemia e insulinemia será realizada por profissional capacitado e responsável pela coleta rotineira das unidades de saúde, por isso esses resultados serão coletados dos prontuários das gestantes. O risco da pesquisa é mínimo, pois serão realizados exame clínico, questionário e coleta de saliva que não causam dano ou transtorno. A coleta de sangue para avaliar a glicemia e insulinemia será realizada por profissional capacitado e responsável pela coleta rotineira das unidades de saúde, por isso esses resultados serão coletados dos prontuários das gestantes.

Benefícios:

Por meio deste estudo, será possível avaliar a condição de estresse em que se encontra a gestante,

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

Página 02 de 04

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 818.450

bem como as condições de sua saúde periodontal e índice glicêmico e insulínico. Os resultados obtidos poderão ajudar no planejamento de ações que podem contribuir para a prevenção do diabetes mellitus gestacional, da doença periodontal e do estresse. As pacientes que apresentarem doença periodontal serão encaminhadas para o CEO

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No projeto de pesquisa descrito não há indícios de infração à Resolução 466/2012, uma vez que está descrito busca em resultados de exames de rotina em gestantes anotados em prontuários, coleta de saliva, exame clínico periodontal e resposta de a um questionário sobre estresse.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora acatou as recomendações do parecerista e apresentou adequadamente os termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Nada a recomendar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Uma vez que a pesquisadora fez as adequações requeridas, este projeto pode ser aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Não havendo pendências, o CEP propõe a aprovação do projeto de pesquisa salientando que, de acordo com a Resolução 466 CNS de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 03/04/2015. O CEP reitera a necessidade de entrega de uma via (não cópia) do TCLE ao sujeito participante da pesquisa e solicita ao pesquisador responsável leitura da carta circular 003/2011 CONEP/CNS antes do início do projeto.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

Página 03 de 04

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



Continuação do Parecer: 818.450

ARACATUBA, 03 de Outubro de 2014

Assinado por:
Ana Claudia de Melo Stevanato Nakamune
(Coordenador)

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONCA CEP: 16.015-050
UF: SP Município: ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 Fax: (18)3636-3332 E-mail: anacmsn@foa.unesp.br

Página 04 de 04