# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/04/2027

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Programa de Pós Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas

ANA CARLA THALEZ YWABUCHI NOBUMOTO

# INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE APICAL MATERNA NA PLACENTA E DESENVOLVIMENTO FETAL

Departamento de Ciências Básicas- Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"– UNESP

Araçatuba

2025

**ANA CARLA THALEZ YWABUCHI NOBUMOTO**

# INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE APICAL MATERNA NA PLACENTA E DESENVOLVIMENTO FETAL

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof.ª Titular Doris Hissako Matsushita

Araçatuba

2025

Catalogação na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Nobumoto, Ana Carla Thalez Ywabuchi.
N754i Influência da periodontite apical materna na placenta e desenvolvimento fetal / Ana Carla Thalez Ywabuchi Nobumoto. - Araçatuba, 2025
57 f: il; tab., graf.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Doris Hissako Matsushita
Coorientadora: Profa. Thais Verônica Saori Tsosura

1. Placenta 2. Inflamação 3. Periodontite periapical 4. Resistência à insulina 5. Desenvolvimento fetal I. T.

CDD 612

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Ana Carla Thalez Ywabuchi Nobumoto**

# INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE APICAL MATERNA NA PLACENTA E DESENVOLVIMENTO FETAL

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (UNESP), para obtenção do título de "Mestre em Ciências Fisiológicas".

Orientador: Prof.ª Titular Doris Hissako Matsushita.

**Aprovado em:** 25/ 04/ 2025

**Banca Examinadora**

**Prof.ª Dra. Thais Verônica Saori Tsosura Chiba**

**Instituição:** UniSALESIANO Araçatuba- SP

**Prof.ª Dra. Alaide Gonçalves**

**Instituição:** Faculdade de Odontologia de Araçatuba FOA/UNESP

**Prof.ª Titular Doris Hissako Matsushita**

**Instituição:** Faculdade de Odontologia de Araçatuba FOA/UNESP

**DADOS CURRICULARES**

**Nascimento:** 13/11/1982, Belém-PA

**Filiação:** Michitoshi Iwabuchi

Maria Rita Thalez

**2002-2003:** Curso técnico em Enfermagem pela Escola de Formação de Auxiliares e Técnicos em Enfermagem- (EFAE).

**2018-2021:** Curso de Graduação em Fisioterapia pela Universidade Paulista- UNIP, Araçatuba-SP.

**2022-2025:** Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Fisiológicas, nível de Mestrado – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP (FOA) – Araçatuba – SP.

– Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas – Sociedade Brasileira de Fisiologia.

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus familiares, minha mãe Maria Rita Thalez, meu pai Michitoshi Iwabuchi, minha irmã Sarah Ywabuchi e meu esposo André Itsuo Yano Nobumoto, aos meus amigos Larissa de Oliveira Rodrigues, Bruno Rodrigues dos Santos, César Augusto Aparecido Rossi, Camila Feitosa e Rodemir Rodrigues Reche e a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram.

## AGRADECIMENTOS

*A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos, sem os quais não se teria tornado uma realidade.*

À minha orientadora, **Prof.ª Doris Hissako Matsushita** por ter me aceitado com grande carinho em seu laboratório, me apoiando e orientando durante toda a minha pesquisa até a finalização do meu mestrado, e ter acreditado em meu trabalho desde o primeiro momento. Obrigada pela orientação, conselhos, paciência, confiança e incentivo que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo. Eternamente grata por todo o apoio.

À coordenadora e à vice-coordenadora do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba / UNESP, **Prof.ª Sandra Helena Penha de Oliveira** e **Prof.ª Doris Hissako Matsushita.**

Aos professores do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba / UNESP, **Prof.ª Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune, Prof. Antonio Hernandes Chaves Neto, Profª Alaíde Gonsalves, Prof.ª Cristina Antoniali Silva, Prof.ª Doris Hissako Matsushita, Prof. João Carlos Callera, Prof.ª Rita Cássia Menegati Dornelles e Prof.ª Sandra Helena Penha de Oliveira**.

Aos professores membros da banca do Exame Geral de Qualificação, **Prof. Antonio Hernandes Chaves Neto, Prof.ª Sandra Helena Penha de Oliveira** e **Prof.ª Doris Hissako Matsushita.**

Ao **Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra** e **Prof. Edilson Ervolino** por ter sido tão solícito em todos os momentos. Obrigada por todas as suas contribuições valiosas para a realização deste estudo.

Aos membros titulares e suplentes da Banca Examinadora de defesa da Dissertação, **Prof.ª Doris Hissako Matsushita, Prof.ª Alaíde Gonçalves, Prof.ª Thais Verônica Saori Tsosura Chiba** e suplentes **Prof. Edilson Ervolino e Prof. Guilherme Akio Tamura Ozaki.**

A **todos os professores** que fizeram parte da minha formação acadêmica**, Prof. Rubens do dos Santos Rosa, Prof. Fábio Yoshikazu Kodama, Prof.**

**Guilherme Akio Tamura Ozaki**, **Prof.ª Fernanda Fernandes Breitenbach**, **Prof.ª Nataly Lino Izeli Martines** e **Prof. Luis César Farias Oliveira**, os meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos do laboratório de Endocrinologia, iniciação científica, mestrandos, doutorandos e pós-doutorandos: **Giovana Mendes Gomes da Silva, Heloisa Macedo Sampaio, Lorena Umbelino Rodrigues, Maria Clara Venceslau dos Santos, Camila Conrado França, Mariana Campanha Hilario Pereira, Anielly Gonsalves, Bruna de Oliveira Alves, Thais Paiva Morais, Anna Clara Cachoni, Angêla Vermelho Sarracene, Marco de Luca Sturaro, Bianca Elvira Belardi, Rodrigo Martins dos Santos, Thais Vêronica Saori Tsosura Chiba e Maria Sara Lima Coutinho Mattera.**

Aos **colegas do curso** de pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba / UNESP. **Tarciana Oliveira Guedes, Larissa Victorino Sampaio, Juliane Mendonça, Renan Barzotti, Debora Cavalcante, Thainá Daguane Esperança, Luana Douradinho, Lucas Custódio.**

À **Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP)** e **Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA)** pela oportunidade da realização e conclusão do meu mestrado.

Ao diretor e vice-diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP), **Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem** e **Luciano Tavares Angelo Cintra.**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**), pelo apoio financeiro (Bolsa Mestrado – Processo (2023/00536-0).

Aos **funcionários** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNES), **Maurício, Patrick, Eliseide** e **André** pelos serviços prestados.

Aos **animais** utilizados, que foram essenciais para a realização deste trabalho.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma, em qualquer etapa, para a realização deste trabalho.

A todos, muito obrigada!

*“A única maneira de fazer algo excelente é amar o que você faz. Se você ainda não a encontrou, continue procurando. Não se acomode”*

Steve Jobs

**RESUMO**

NOBUMOTO, A.C.T.Y. **INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE APICAL MATERNA NA PLACENTA E DESENVOLVIMENTO FETAL.** 2025.f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2025.

Nos últimos anos, a relação entre inflamações orais e desordens sistêmicas tem se consolidado como área de grande interesse na comunidade científica médica e odontológica. Nesse sentido, estudos têm evidenciado que a doença periodontal (DP) materna está associada aos resultados gestacionais adversos, tais como baixo peso ao nascimento e parto pré-termo. Ademais, foi verificado que patógenos periodontais induzem alterações na estrutura placentária. Entretanto, a literatura mostra-se escassa em relação aos estudos que investigaram a relação entre periodontite apical (PA) materna e resultados gestacionais adversos. A PA é um processo inflamatório oral na região do ápice da raiz dental associada ao aumento de citocinas inflamatórias que podem contribuir para alterações sistêmicas. Os objetivos do presente estudo foram: (1) investigar a resistência à insulina; (2) os aspectos morfológicos da placenta de ratas com PA; (3) via de sinalização inflamatória na placenta de ratas com PA; (4) investigar os efeitos da PA materna sobre a saúde do feto. Para tanto, as 24 ratas Wistar (2 meses) foram distribuídas em 3 grupos: (1) (CN) ratas controle; (2) (PA1) ratas com uma periodontite apical induzida em 1º molar superior direito; 3) (PA4) ratas com quatro periodontites apicais induzidas em 1$^{os}$ e 2$^{os}$ molares superiores e inferiores do lado direito. A PA foi induzida empregando-se broca em aço carbono dotada de esfera de 0,1 mm na extremidade. Após 30 dias da exposição pulpar, as ratas de todos os grupos foram colocadas para acasalamento. As ratas foram eutanasiadas no vigésimo primeiro dia de prenhez para a realização dos seguintes experimentos: (1) peso da placenta; (2) histologia da placenta; (3) glicemia capilar materna (4) glicemia plasmática pelo método de glicose oxidase; (5) insulinemia pelo método de ELISA; (6) resistência à insulina pelo cálculo do HOMA-IR; (7) grau de fosforilação de p-JNK (Thr183/Tyr185) (c-Jun N-terminal cinase), p-IKKα/β (Ser 176) (inibidor de κB cinase α/β, p-NF-κB p50(fator nuclear kappa B) e p-NF-κB p65 na placenta por meio da técnica de *Western blotting;* (8) conteúdo proteico de JNK, IKKα/β, NF-κB p50, NF-κB p65 e TNF-α (fator de necrose tumoral) na placenta por meio da técnica de *Western blotting* e IL-6 (Interleucina-6) na placenta pelo método de ELISA. Em relação aos

fetos foram realizadas as seguintes análises: (1) número de fetos por rata, peso e comprimento naso-anal; (2) glicemia capilar; (3) avaliação do conteúdo proteico de TNF-α no fígado por meio da técnica de ELISA. Para as análises estatística foi verificada a normalidade dos dados. Ademais, realizou-se análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey e Shapiro-Wilk. Os resultados do presente estudo demonstraram que nas ratas mães: (1) houve redução no peso da placenta e a área do labirinto placentário somente no grupo PA4 quando comparado aos grupos CN e PA1; (2) não foram observadas diferenças na glicemia plasmática e capilar entre os grupos. No entanto houve aumento da insulinemia e do índice de HOMA-IR nos grupos PA1 e PA4 em relação ao grupo CN como também PA4 apresentou maior valor desse índice em relação a PA1; (3) inalteração na ingestão alimentar e peso corpóreo avaliados desde a indução das inflamações orais até o último dia de prenhez das ratas mães; (4) aumento no conteúdo de TNF-α na placenta de ratas PA4 quando comparados aos grupos PA1 e CN; (5) Não foi observado diferença no grau de fosforilação de p-JNK, p-IKK e p-NF-κB p50 e p-NF-κB p65 na placenta; (6) houve aumento de conteúdo de IL-6 na placenta nos grupos PA1 e PA4 em relação ao grupo CN como também PA4 apresentou maior valor desse índice em relação a PA1. Em relação aos fetos, os dados mostraram que: (1) houve redução no comprimento naso-anal dos fetos de ratas com quatro lesões quando comparadas aos fetos de ratas controle; (2) não foi observado diferença no peso corpóreo entre os grupos avaliados (f-CN, f-PA1 e f-PA4); (3) não foram encontradas diferença estatística no número de fetos por ninhada entre as ratas dos grupos CN, PA1 e PA4; (4) houve redução da glicemia capilar dos fetos f-PA1 e f-PA4 quando comparados ao grupo f-CN. Houve aumento de conteúdo de TNF-α no fígado dos fetos f-PA1 e f-PA4 quando comparados ao f-CN. Além disso o grupo f-PA4 apresentou aumento estatístico significativo nesse parâmetro em relação ao grupo f-PA1. Estes dados demonstram que a PA materna está relacionada com ativação de vias inflamatórias na placenta e alterações morfológicas no feto ao nascimento. Os dados apresentados reforçam que a manutenção de uma boa saúde bucal materna é de suma importância para prevenir alterações sistêmicas que podem afetar o ambiente intrauterino e o desenvolvimento fetal.

**Palavras chave:** Placenta; Inflamação; Periodontite Apical; Resistência à insulina; Desenvolvimento fetal.

NOBUMOTO, A.C.T.Y. **INFLUENCE OF MATERNAL APICAL PERIODONTITIS ON THE PLACENTA AND FETAL DEVELOPMENT.** Master's Thesis - School of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, 2025.


## ABSTRACT

In recent years, the relationship between oral inflammation and systemic disorders has become an area of great interest in the medical and dental scientific community. In this sense, studies have shown that maternal periodontal disease (PD) is associated with adverse gestational outcomes, such as low birth weight and preterm birth. Furthermore, it was found that periodontal pathogens induce changes in the placental structure. However, the literature is scarce regarding studies that investigated the relationship between maternal apical periodontitis (AP) and adverse pregnancy outcomes. AP is an oral inflammatory process in the region of the apex of the dental root associated with an increase in inflammatory cytokines that can contribute to systemic changes. The objectives of the present study were: (1) to investigate insulin resistance; (2) the morphological aspects of the placenta of rats with AP; (3) inflammatory signaling pathway in the placenta of rats with AP; (4) investigate the effects of maternal BP on the health of the newborn. To this end, the 24 Wistar rats (2 months old) were divided into 3 groups: (1) (CN) control rats; (2) (AP1) rats with apical periodontitis induced in the upper right 1st molar; (3) (AP4) rats with four apical peridontitis induced in the 1st and 2nd upper and lower molars on the right side. AP was induced using a carbon steel drill equipped with a 0.1 mm ball at the end. After 30 days of pulp exposure, rats from all groups were placed for mating. The rats were euthanized on the twenty-first day of pregnancy to carry out the following experiments: (1) placental weight; (2) placental histology; (3) maternal capillary glycemia (4) plasma glycemia using the glucose oxidation method; (5) insulinemia using the *ELISA* method; (6) insulin resistance by HOMA-IR calculation; (7) degree of phosphorylation of p-JNK (Thr183/Tyr185) (c-Jun N-terminal kinase), p-IKKα/β (Ser176) (inhibitor of κB kinase α/β, p-NF-κB p50(nuclear factor kappa B) (Ser337) and p-NF-κB p65 (Ser276) in the placenta using the Western blotting technique; (8) protein content of JNK, IKKα/β, NF-κB p50 (Ser337) NF-κB p65 (Ser276) and TNF-α (tumor necrosis factor) in the placenta using the Western blotting technique and IL-6 (Interleukin-6) in the placenta by ELISA method. About fetuses, the following analyzes were carried out: (1) number of fetuses per rat, weight and nasal-anal length; (2) capillary blood glucose; (3) evaluation of the

protein content of TNF-α in the liver using the *ELISA* technique. For statistical analysis, the normality of the data was verified. Furthermore, analysis of variance (ANOVA) was performed, followed by the Tukey and Shapiro-Wilk test. The results of the present study demonstrated that in mother rats: (1) there was a reduction in the weight of the placenta and the area of the placental labyrinth only in the AP4 group when compared to the CN and AP1 groups; (2) no difference was observed in the plasma and capillary blood glucose levels of the mother rats. However, there was an increase in insulinemia and the HOMA-IR index in both the AP1 and AP4 groups compared to the CN group, and the AP4 group showed a higher value of this index compared to the AP1 group. (3) unchanged food intake and body weight assessed from the induction of oral inflammation until the last day of pregnancy in the mother rats; (4) increased TNF-α content in the placenta of AP4 rats when compared to the AP1 and CN groups; (5) No difference was observed in the degree of phosphorylation of p-JNK, p-IKK and p-NF-kBp50 and p-NF-kBp65 in the placenta. (6) there was an increase in IL-6 content in the placenta in groups AP1 and AP4 about the CN group, as well as AP4 presenting a higher value of this index about AP1. Regarding fetuses, the data showed that: (1) there was a reduction in the naso-anal length of fetuses from rats with four f-AP4 lesions when compared to fetuses from f-CN control rats; (2) no difference in body weight was observed between the groups evaluated (f-CN, f-AP1 and f-AP4); (3) no statistical difference was found in the number of fetuses per litter between rats in groups CN, AP1 and AP4; (4) there was a reduction in capillary glycemia in the f-AP1 and f-AP4 fetuses when compared to the f-CN group. There was an increase in TNF-α content in the liver of f-AP1 and f-AP4 fetuses when compared to f-CN. Furthermore, the f-AP4 group showed a statistically significant increase in relation to the f-AP1 group. These data demonstrate that maternal AP is related to the activation of inflammatory pathways in the placenta and morphological changes in the offspring at birth. The data presented reinforce that maintaining good maternal oral health is extremely important to prevent systemic changes that can affect the intrauterine environment and fetal development.

Keywords: Placenta; Inflammation; Apical periodontitis; Insulin resistance; Fetal development.

## LISTA DE FIGURAS


**Figura 1** Morfologia da placentação humana e de camundongo. **22 23**

**Figura 2** Indução da lesão periapical com o auxílio de uma broca dotada de uma esfera na extremidade com 0,1mm de diâmetro (LN Long Neck, Dentisply Maillefer, Ballaigues- Suíça), em baixa rotação. **26**

**Figura 3** Figura esquemática do mecanismo proposto para o experimento e análises obtidas na placenta e no feto de ratas com inflamação oral (PA) indica a sequência desde a indução da lesão até as análises. **27**

**Figura 4** Imagens radiográficas da maxila e mandíbulas do lado direito dos grupos C, PA1 e PA4. As pontas das setas indicam áreas radiolúcidas sugerindo periodontite apical. Imagens histológicas da região periapical do grupo controle (CN), do grupo com 1 periodontite apical (PA1) e do grupo com 4 periodontites apicais (PA4) coradas com hematoxilina e eosina (ampliação original: 100× e 400x). **33**

**Figura 5** Avaliação da massa corpórea e ingestão alimentar das ratas controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1) e ratas com 4 periodontites apical (PA4). **34**

**Figura 6** Glicemia capilar e plasmática dos grupos de ratas controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1), ratas com quatro periodontites apical (PA4). **35**

**Figura 7** Coloração H&E da placenta de ratas controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1) e ratas com quatro periodontites apicais (PA4), mostrando a delimitação do labirinto placentário. Barra de escala em 1000 μm. (L) labirinto. Área do labirinto placentário em $\mu m^2$ de ratas controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1) e ratas com quatro periodontites **36**

apicais (PA4), mostrando a delimitação do labirinto placentário. Peso placentário em gramas (g) de ratos controle (CN), ratos com uma periodontite apical (PA1) e ratos com quatro periodontites apicais (PA4).

**Figura 8** Avaliação do grau de fosforilação e conteúdo de inhibidor de κB cinase α/β (IKK), c-Jun N-terminal cinase (JNK) e do conteúdo de fator de necrose tumoral-α (TNF-α) em placenta de ratas dos grupos controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1) e ratas com quatro periodontites apicais (PA4). **37**

**Figura 9** Avaliação do grau de fosforilação e conteúdo de NF-κB p65 e NF-κB p50 em placenta de ratas dos grupos controle (CN), ratas com uma periodontite apical (PA1) e ratas com quatro periodontites apicais (PA4). **38**

**Figura 10** Avaliação do comprimento naso-anal dos fetos (centímetros), peso corporal fetal (gramas), glicemia capilar dos fetos (mg/dL) e número de fetos (tamanho total da ninhada) no grupo controle (f-CN), ratos com uma periodontite apical (f-PA1) e ratos com quatro periodontites apicais (f-PA4). **39**

**LISTA DE TABELA**

**TABELA 1-** Glicemia (mmol/$L^{-1}$), insulinemia (µUI/$mL^{-1}$) and HOMA-IR **35**
Valores apresentados com média e erro padrão da média (n=8 por grupo). *p< 0.05 vs. CN e PA4; ****p< 0.0001 vs. CN; **p< .01 vs. CN; # p< 0.05 vs PA1.

**TABELA 2-** O resultado de conteúdo de IL-6 na placenta de ratas controle, ratas com uma periodontite apical e ratas com quatro periodontites apicais. **39**
Valores apresentados com média e erro padrão da média (*n* = 6 por grupo). ****p< 0.0001 vs. CN; ***p< 0.001 vs. PA4; #p< 0.05 vs. CN.

**TABELA 3-** Os resultados de conteúdo de TNF-α no fígado de fetos de ratas controle (f-CN), fetos de ratas com uma periodontite apical (f-PA1) e fetos de ratas com quatro periodontites apicais (f-PA4). **40**
Valores apresentados com média e erro padrão da média (*n* = 8 por grupo). **p< .01 vs. CN; ***p< .001 vs. CN.

## LISTA DE ABREVIATURAS

CN: Ratas controle

DOHaD: Origens do Desenvolvimento da Saúde e da Doença

DP: Doença Periodontal

ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

f- CN: Proles de ratas controle

f-PA1: Proles de ratas com uma periodontite apical

f-PA4: Proles de ratas com quatro periodontites apicais

HOMA-IR: Modelo de Avaliação da Homeostase da Resistencia à Insulina

IGF: fator de crescimento semelhante à insulina

IGF-2: fator de crescimento semelhante à insulina 2

IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina 1

IKKα/β: Inhibidor de κB cinase α/β

IL-6: Interleucina 6

i.m.: Intramuscular

JNK: c-Jun N-terminal quinase

Kg: Quilograma

LPS: Lipopolissacarídeos

MAPKs: Proteínas quinases ativadas por mitógenos

µg: Microgrma

µUI: Microunidades internacionais

mm: Milimetros

mM: Milimolar

mmol: Milimol

mV: Milivolt

NaCl: Cloreto de sódio

NaF: Fluoreto de sódio

NFκB: Fator nuclear kappa B

NFκB p50: Fator nuclear kappa B p50

NFκB p65: Fator nuclear kappa B p65

PA: Periodontite Apical

PA1: Ratas com uma periodontite apical

PA4: Ratas com quatro periodontites apicais

PGF: Fator de Crescimento Placentário

RPM: Rotações por minuto

SB: Solução basal

SDS: Dodecil sulfato de sódio

SDS-PAGE: Eletroforese em gel de poliacrilamida em dodecil sulfato de sódio

Ser: Serina

SP: São Paulo

TEMED: Tetrametil etilenodiamina

TLR: Receptores do tipo *toll*

TLR2: Receptor do tipo *toll* 2

TLR4: Receptor do tipo *toll* 4

TNF-α: Fator de necrose tumoral alfa

TRIS: Tris(hidroximetil)aminometano

**SUMÁRIO**

**1. INTRODUÇÃO** ..... 19
1.1 Gestação e inflamações orais ..... 19
1.2 Periodontite apical ..... 20
1.3 Placenta ..... 22
**2. OBJETIVOS** ..... 24
2.1 Objetivos gerais ..... 24
2.2 Objetivos específicos ..... 24
**3. MATERIAIS E MÉTODOS** ..... 25
3.1 Animais ..... 25
3.2 Acasalamento dos animais e diagnóstico da prenhez ..... 26
3.3 Eutanásia ..... 26
3.4 Determinação da glicemia e insulinemia de jejum ..... 28
3.5 Avaliação da resistência insulínica ..... 28
3.6 Análise histológica da placenta ..... 28
3.7 Análise histológica e radiográfica da região periapical ..... 29
3.8 Avaliação das proteínas da via inflamatória placentária e fetal ..... 29
**3.8.1 Preparação das amostras:** ..... 29
**3.8.2 "Western blotting"** ..... 30
**3.8.3 Immunoblotting:** ..... 31
3.9 Análise estatística ..... 31
**4. RESULTADOS** ..... 32
4.1 Confirmação da indução de PA em ratas mães ..... 32
4.2 Ingestão de alimentos e peso corporal das ratas mães ..... 34
4.3 Análise da glicemia capilar e venosa materna ..... 34
4.4 Glicemia, Insulinemia e Índice HOMA-IR materno ..... 35
4.5 Peso, área e análise histológica na placenta ..... 35
4.6 Avaliação das vias inflamatórias na placenta de ratas com periodontite ..... 37
apical. ..... 37
4.7 Grau de fosforilação e conteúdo NF-κB p50 e NF-κB p65 na placenta. ..... 38
4.8 Conteúdo de IL-6 na placenta ..... 39
4.9 Comprimento naso-anal, glicemia, peso corpóreo e número de fetos por rata 39
4.10 Conteúdo de TNF-α no fígado fetal ..... 40
**5. DISCUSSÃO** ..... 40
**6. RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS** ..... 44

**7. CONCLUSÃO** .....45
**9. REFERÊNCIAS**.....45
**10. ANEXOS** .....56
ANEXO 1 .....56
ANEXO 2 .....57

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Gestação e inflamações orais

A gravidez constitui um período em que a mulher sofre uma série de alterações fisiológicas que atuam sobre todo o organismo, inclusive na cavidade oral (De Oliveira *et al*., 2014; Hemalatha *et al*., 2013). Durante a gestação, as mulheres tornam-se mais susceptíveis às doenças bucais, tais como cárie dentária, gengivite e doença periodontal (DP) (Kandan *et al*., 2011) devido às mudanças na dieta (introdução de mais carboidratos e/ou maior frequência alimentar), hiperacidez do meio bucal devido a vômitos, alterações hormonais, que associadas à desatenção na manutenção da higiene bucal favorecem a instalação das doenças bucais (Melo *et al*., 2007). Em decorrência disso, as gestantes são consideradas pacientes de risco temporário odontológico (Vasconcelos *et al*., 2012). Contudo, há uma certa resistência por parte das gestantes ao tratamento odontológico, por acreditarem que a intervenção trará riscos para o desenvolvimento e vida do bebê (Sebastiani *et al*., 2010).

A saúde bucal durante o período gestacional tem íntima relação com a saúde geral da gestante e pode influenciar no bem-estar do bebê (Garbin *et al.*, 2011). Acredita-se que patógenos periodontais, produtos bacterianos e/ou mediadores inflamatórios oriundos de infecções orais podem atingir a unidade fetoplacentária por meio da circulação sanguínea (Saini, 2011; Gandhimadhi & Mythili, 2010). Nesse sentido, no estudo de Ercan *et al*. (2013) foi verificado presença de patógenos periodontais, como *Porphyromonas gingivalis, Campylobacter reto, Tannerella forsythia* e *Fusobacterium nucleatum* tanto nas amostras da placa subgengival como no líquido amniótico de mulheres com periodontite generalizada que tiveram parto pré-termo. Ademais, Jeffcoat *et al*. (2011) observaram que gestantes resistentes ao tratamento periodontal apresentaram uma maior incidência de parto prematuro. Estudos anteriores do nosso laboratório têm constatado que doença periodontal materna em ratas está associada aos resultados gestacionais adversos, incluindo o baixo peso ao nascimento do feto (Shirakashi *et al*, 2013; Mattera *et al*, 2016; Mattera *et al,* 2019). Entretanto, a literatura mostra-se escassa em relação aos estudos que investigaram os efeitos da periodontite apical (PA) materna sobre a saúde do feto.

## 7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, a inflamação oral durante a gravidez induz alterações: na saúde materna (como resistência à insulina), na placenta (redução da área do labirinto placentário, peso e aumento da expressão de TNF-α e IL-6) no feto (aumento de TNF-α no fígado e redução do comprimento nasal-anal e da glicemia capilar). Isso reforça a importância de oferecer tratamentos odontológicos adequados às gestantes, pois manter uma boa saúde bucal materna é de extrema importância para prevenir complicações sistêmicas que afetam a gestante, bem como o ambiente intrauterino e o desenvolvimento fetal.

## 9. REFERÊNCIAS

Ander SE, Diamond MS, Coyne CB. Immune responses at the maternal-fetal interface. Sci Immunol. 2019 Jan 11;4(31):eaat6114. doi: 10.1126/sciimmunol. aat6114. PMID: 30635356; PMCID: PMC6744611.

Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M. TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated Escherichia coli LPS. Int Endod J. 1997 May;30(3):155-9. doi: 10.1046/j.1365-2591.1997.00066.x. PMID: 9477798.

Bauer MK, Harding JE, Bassett NS, Breier BH, Oliver MH, Gallaher BH, Evans PC, Woodall SM, Gluckman PD. Fetal growth and placental function. Mol Cell Endocrinol. 1998 May 25;140(1-2):115-20. doi: 10.1016/s0303-7207(98)00039-2. PMID: 9722178.

Black D, Bird MA, Hayden M, Schrum LW, Lange P, Samson C, Hatano E, Rippe RA, Brenner DA, Behrns KE. TNF alpha-induced hepatocyte apoptosis is associated with alterations of the cell cycle and decreased stem loop binding protein. Surgery. 2004 Jun;135(6):619-28. doi: 10.1016/j.surg.2003.11.004. PMID: 15179368.

Bobetsis YA, Barros SP, Lin DM, Weidman JR, Dolinoy DC, Jirtle RL, Boggess KA, Beck JD, Offenbacher S. Bacterial infection promotes DNA hypermethylation. J Dent Res. 2007 Feb;86(2):169-74. doi: 10.1177/154405910708600212. PMID: 17251518.

Bobetsis YA, Barros SP, Lin DM, Arce RM, Offenbacher S. Altered gene expression in murine placentas in an infection-induced intrauterine growth restriction model: a microarray analysis. J Reprod Immunol. 2010 Jun;85(2):140-8. doi: 10.1016/j.jri.2010.04.001. Epub 2010 May 16. PMID: 20478622; PMCID: PMC2904600.

Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. 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 Jan;23(1):57-63. doi: 10.2337/diacare.23.1.57. PMID: 10857969.

Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance. Int J Endocrinol. 2015;2015: 508409. doi: 10.1155/2015/508409. Epub 2015 Jun 2. PMID: 26136779; PMCID: PMC4468292.

De Oliveira, EC, Lopes JMO, Santos PCF, Magalhães SR. Atendimento odontológico a gestantes: A importância do conhecimento da saúde bucal. Rev. de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde, v. 4, n. 1, p. 11-23, 2014.

Ding PH, Jin LJ. The role of lipopolysaccharide-binding protein in innate immunity: a revisit and its relevance to oral/periodontal health. J Periodontal Res. 2014 Feb;49(1):1-9. doi: 10.1111/jre.12081. Epub 2013 Apr 18. PMID: 23601005.

Ercan E, Eratalay K, Deren O, Gur D, Ozyuncu O, Altun B, Kanli C, Ozdemir P, Akincibay H. 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 May-Jul;71(3-4):553-9. doi: 10.3109/00016357.2012.697576. Epub 2012 Jul 2. PMID: 23638858.

Franco DG. Fator de Transcrição Nuclear Kappa B no Sistema Nervoso Central: Do Fisiológico ao Patológico. Revista da Biologia, V. 4, 2010.

Furukawa S, Tsuji N, Sugiyama A. Morphology and physiology of rat placenta for toxicological evaluation. J Toxicol Pathol. 2019 Jan;32(1):1-17. doi: 10.1293/tox.2018-0042. Epub 2018 Oct 15. PMID: 30739991; PMCID: PMC6361663.

Gandhimadhi D, Mythili R. Periodontal infection as a risk factor for preterm low birth weight. J Indian Soc Periodontol. 2010 Apr;14(2):114-20. doi: 10.4103/0972-124X.70832. PMID: 21691549; PMCID: PMC3110465.

Garbin CASU, Sumida DH, Santos RRDU, Chehoud KAU, Moimaz SAS. Saúde Coletiva: Promoção De Saúde Bucal Na Gravidez. Currículo Lattes, 2011.

Garfin DE. One-dimensional gel electrophoresis. Methods Enzymol. 1990;182:425-41. doi: 10.1016/0076-6879(90)82035-z. PMID: 2314252.

Garner KL, Bowdridge EC, DeVallance E, Griffith JA, Kelley EE, Nurkiewicz TR. Using the Isolated Rat Placenta to Assess Fetoplacental Hemodynamics. Front Toxicol. 2022 Feb 8;4:814071. doi: 10.3389/ftox.2022.814071. PMID: 35295220; PMCID: PMC8915812.

Graunaite I, Lodiene G, Maciulskiene V. Pathogenesis of apical periodontitis: a literature review. J Oral Maxillofac Res. 2012 Jan 1;2(4):e1. doi: 10.5037/jomr.2011.2401. PMID: 24421998; PMCID: PMC3886078.

Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH. Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis

severity. J Periodontol. 2002 Jan;73(1):73-8. doi: 10.1902/jop.2002.73.1.73. PMID: 11846202.

Goldstein JA, Gallagher K, Beck C, Kumar R, Gernand AD. Maternal-Fetal Inflammation in the Placenta and the Developmental Origins of Health and Disease. Front Immunol. 2020 Nov 13;11:531543. doi: 10.3389/fimmu.2020.531543. PMID: 33281808; PMCID: PMC7691234.

Gupta S, Bi R, Kim C, Chiplunkar S, Yel L, Gollapudi S. Role of NF-kappaB signaling pathway in increased tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis of lymphocytes in aged humans. Cell Death Differ. 2005 Feb;12(2):177-83. doi: 10.1038/sj.cdd.4401557. PMID: 15647756.

Hafez S. The association of dental caries and periapical lesions with anthropometric measurements in postpartum women in mangochi, malawi. School of Health Sciences (International Health). Apr. 2017.

Hay WW Jr. The placenta. Not just a conduit for maternal fuels. Diabetes. 1991 Dec;40 Suppl 2:44-50. doi: 10.2337/diab.40.2.s44. PMID: 1748265.

Hemalatha VT, Manigandan T, Sarumathi T, Aarthi Nisha V, Amudhan A. Dental considerations in pregnancy-a critical review on the oral care. J Clin Diagn Res. 2013 May;7(5):948-53. doi: 10.7860/JCDR/2013/5405.2986. Epub 2013 Mar 21. PMID: 23814753; PMCID: PMC3681080.

Hunter SJ, Garvey WT. Insulin action and insulin resistance: diseases involving defects in insulin receptors, signal transduction, and the glucose transport effector system. Am J Med. 1998 Oct;105(4):331-45. doi: 10.1016/s0002-9343(98)00300-3. PMID: 9809695.

Hsiao EY, Patterson PH. Activation of the maternal immune system induces endocrine changes in the placenta via IL-6. Brain Behav Immun. 2011 May;25(4):604-15. doi:

10.1016/j.bbi.2010.12.017. Epub 2010 Dec 30. PMID: 21195166; PMCID: PMC3081363.

Jakovljevic A, Nikolic N, Jacimovic J, Pavlovic O, Milicic B, Beljic-Ivanovic K, Miletic M, Andric M, Milasin J. Prevalence of Apical Periodontitis and Conventional Nonsurgical Root Canal Treatment in General Adult Population: An Updated Systematic Review and Meta-analysis of Cross-sectional Studies Published between 2012 and 2020. J Endod. 2020 Oct;46(10):1371-1386.e8. doi: 10.1016/j.joen.2020.07.007. Epub 2020 Jul 14. Erratum in: J Endod. 2021 Feb;47(2):336. doi: 10.1016/j.joen.2020.11.010. PMID: 32673634.

Jeffcoat M, Parry S, Sammel M, Clothier B, Catlin A, Macones G. Periodontal infection and preterm birth: successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. BJOG. 2011 Jan;118(2):250-6. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02713.x. Epub 2010 Sep 14. PMID: 20840689.

Kandan PM, Menaga V, Kumar RR. Oral health in pregnancy (guidelines to gynaecologists, general physicians & oral health care providers). J Pak Med Assoc. 2011 Oct;61(10):1009-14. PMID: 22356038.

Kim JJ, Sears DD. TLR4 and Insulin Resistance. Gastroenterol Res Pract. 2010;2010:212563. doi: 10.1155/2010/212563. Epub 2010 Aug 10. PMID: 20814545; PMCID: PMC2931384.

Knorr S, Bytoft B, Lohse Z, Boisen AB, Clausen TD, Jensen RB, Damm P, Beck-Nielsen H, Holst JJ, Hartmann B, Møller HJ, Højlund K, Gravholt CH, Jensen DM. Fatty Liver Among Adolescent Offspring of Women With Type 1 Diabetes (the EPICOM Study). Diabetes Care. 2019 Aug;42(8):1560-1568. doi: 10.2337/dc19-0571. Epub 2019 Jun 4. PMID: 31167890.Kruger, N. J.; Hammond, J. B. Purification Of Immunoglobulins Using Protein A-Sepharose. Methods Mol Biol.; V. 3., P. 363-71. 1988.

Kruger NJ, Hammond JB. Purification of immunoglobulins using protein a-sepharose. Methods Mol Biol. 1988;3:363-71. doi: 10.1385/0-89603-126-8:363. PMID: 21400175.

Kühl C. Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM. Implications for diagnosis and management. Diabetes. 1991 Dec;40 Suppl 2:18-24. doi: 10.2337/diab.40.2.s18. PMID: 1748255.

Kunnen A, van Pampus MG, Aarnoudse JG, van der Schans CP, Abbas F, Faas MM. The effect of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide on pregnancy in the rat. Oral Dis. 2014 Sep;20(6):591-601. doi: 10.1111/odi.12177. Epub 2013 Sep 23. PMID: 24112943.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970 Aug 15;227(5259):680-5. doi: 10.1038/227680a0. PMID: 5432063.

Li Q, Verma IM. NF-kappaB regulation in the immune system. Nat Rev Immunol. 2002 Oct;2(10):725-34. doi: 10.1038/nri910. Erratum in: Nat Rev Immunol 2002 Dec;2(12):975. PMID: 12360211.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951 Nov;193(1):265-75. PMID: 14907713.

Lucas S, Sevin A, Passarius O, Esclassan R, Crubezy E, Grimoud AM. Study of dental caries and periapical lesions in a mediaeval population of the southwest France: differences in visual and radiographic inspections. Homo. 2010 Oct;61(5):359-72. doi: 10.1016/j.jchb.2010.06.003. Epub 2010 Sep 1. PMID: 20813364.

Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. J Clin Periodontol. 2013 Apr;40 Suppl 14:S170-80. doi: 10.1111/jcpe.12082. PMID: 23627327.

Marotta PS, Fontes TV, Armada L, Lima KC, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Type 2 diabetes mellitus and the prevalence of apical periodontitis and endodontic treatment in an adult Brazilian population. J Endod. 2012 Mar;38(3):297-300. doi: 10.1016/j.joen.2011.11.001. Epub 2011 Dec 22. PMID: 22341063.

Mattera MS, Chiba FY, Mota MS, Pereira RF, Ervolino E, Chaves Neto AH, Salzedas LM, Scaramele NF, Silva CA, Okamoto MM, Machado UF, Sumida DH. Maternal periodontitis decreases plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle of adult offspring. Life Sci. 2016 Mar 1;148:194-200. doi: 10.1016/j.lfs.2016.02.010. Epub 2016 Feb 23. PMID: 26854998.

Mattera MSLC, Chiba FY, Lopes FL, Tsosura TVS, Peres MA, Brito VGB, de Oliveira SHP, Pereira RF, Marani F, Dos Santos RM, Belardi BE, Tessarin GWL, Benites ML, Ervolino E, Heimann JC, Sumida DH. Effect of maternal periodontitis on GLUT4 and inflammatory pathway in adult offspring. J Periodontol. 2019 Aug;90(8):884-893. doi: 10.1002/JPER.18-0568. Epub 2019 Feb 21. PMID: 30729535.

Mattila KJ, Pussinen PJ, Paju S. Dental infections and cardiovascular diseases: a review. J Periodontol. 2005 Nov;76(11 Suppl):2085-8. doi: 10.1902/jop.2005.76.11-S.2085. PMID: 16277580.

Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. Nat Rev Immunol. 2001 Nov;1(2):135-45. doi: 10.1038/35100529. PMID: 11905821.

Melo NSF, Ronchi R, Mendes CS, Mazza VA. Hábitos Alimentares E De Higiene Oral Influenciando A Saúde Bucal Da Gestante. Cogitare Enferm., V. 12, N. 2, P. 189-197, 2007.

Méndez-Sánchez N, Zamora-Valdés D, Flores-Rangel JA, Pérez-Sosa JA, Vásquez-Fernández F, Lezama-Mora JI, Vázquez-Elizondo G, Ponciano-Rodríguez G, Ramos MH, Uribe M. Gallstones are associated with carotid atherosclerosis. Liver Int. 2008 Mar;28(3):402-6. doi: 10.1111/j.1478-3231.2007.01632.x. Epub 2007 Dec 6. PMID: 18069975.

Moimaz SAS, Rocha NB, Garbin CAS, Rovida TA, Saliba NA. Factors affecting intention to breastfeed of a group of Brazilian childbearing women. Women Birth. 2017 Apr;30(2):e119-e124. doi: 10.1016/j.wombi.2016.10.004. Epub 2016 Nov 10. PMID: 27840072.

Offenbacher S, Riché EL, Barros SP, Bobetsis YA, Lin D, Beck JD. Effects of Maternal Campylobacter rectus Infection on Murine Placenta, Fetal and Neonatal Survival, and Brain Development. J Periodontol. 2005 Nov;76 Suppl 11S:2133-2143. doi: 10.1902/jop.2005.76.11-S.2133. PMID: 29539052.

Pereira Asbf, De Souza Lima Ml, Da Silva-Junior Aa, Dos Santos Silva E, De Araújo Júnior Rf, Martins Aa, Alves Jsf, Oliveira As, De Santis Ferreira L, De Araújo Costa Ect, Guerra Gcb, De Medeiros Cacx, Brito Gac, De Carvalho Leitao Rf, De Araújo Aa (2021). In Vitro-In Vivo Availability Of Metformin Hydrochloride-Plga Nanoparticles In Diabetic Rats In A Periodontal Disease Experimental Model. *Pharmacology And Biology* 59(1) 1576–1584. Doi.Org/10.1080/13880209.2021.2002369.

Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, Listl S, Celeste RK, Guarnizo-Herreño CC, Kearns C, Benzian H, Allison P, Watt RG. Oral diseases: a global public health challenge. Lancet. 2019 Jul 20;394(10194):249-260. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31146-8. Erratum in: Lancet. 2019 Sep 21;394(10203):1010. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32079-3. PMID: 31327369.

Rakchanok N, Amporn D, Yoshida Y, Harun-Or-Rashid M, Sakamoto J. Dental caries and gingivitis among pregnant and non-pregnant women in Chiang Mai, Thailand. Nagoya J Med Sci. 2010 Feb;72(1-2):43-50. PMID: 20229702; PMCID: PMC11254363.

Saini R, Saini S, Saini SR. Periodontitis: A risk for delivery of premature labor and low birth weight infants. J Nat Sci Biol Med. 2011 Jan;2(1):50-2. doi: 10.4103/0976-9668.82321. PMID: 22470234; PMCID: PMC3312699.

Sankaran, S.; Kyle, P. Aetiology and pathogenesis of IUGR. Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology, 23, n. 6, Dec 2009.

Sanz M, Kornman K; working group 3 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. J Periodontol. 2013 Apr;84(4 Suppl):S164-9. doi: 10.1902/jop.2013.1340016. PMID: 23631576.

Sasaki H, Hirai K, Martins CM, Furusho H, Battaglino R, Hashimoto K. Interrelationship Between Periapical Lesion and Systemic Metabolic Disorders. Curr Pharm Des. 2016;22(15):2204-15. doi: 10.2174/1381612822666160216145107. PMID: 26881444; PMCID: PMC4856634.

Sebastiani C, Cota ALS, Provenzano MGA, Fracasso MLC, Honório HM, Rios D. Conhecimento das gestantes sobre alterações bucais e tratamento odontológico durante a gravidez. Odontol. Clin. Cient., V. 9, N. 2, P. 155-160, 2010.

Segura-Egea JJ, Martín-González J, Castellanos-Cosano L. Endodontic medicine: connections between apical periodontitis and systemic diseases. Int Endod J. 2015 Oct;48(10):933-51. doi: 10.1111/iej.12507. Epub 2015 Aug 3. PMID: 26174809.

Shirakashi DJ, Leal RP, Colombo NH, Chiba FY, Garbin CA, Jardim EG Jr, Antoniali C, Sumida DH. Maternal periodontal disease in rats decreases insulin sensitivity and insulin signaling in adult offspring. J Periodontol. 2013 Mar;84(3):407-14. doi: 10.1902/jop.2012.110372. Epub 2012 Jun 15. PMID: 22702519.

Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. 2006 Jul;116(7):1793-801. doi: 10.1172/JCI29069. Erratum in: J Clin Invest. 2006 Aug;116(8):2308. PMID: 16823477; PMCID: PMC1483173.

Siqueira JF Jr, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. Braz Dent J. 2007;18(4):267-80. doi: 10.1590/s0103-64402007000400001. PMID: 18278296.

Soares MJ, Chakraborty D, Karim Rumi MA, Konno T, Renaud SJ. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface. Placenta. 2012 Apr;33(4):233-43. doi: 10.1016/j.placenta.2011.11.026. Epub 2012 Jan 28. PMID: 22284666; PMCID: PMC3288880.

Sonagra AD, Biradar SM, K D, Murthy D S J. Normal pregnancy- a state of insulin resistance. J Clin Diagn Res. 2014 Nov;8(11):CC01-3. doi:

10.7860/JCDR/2014/10068.5081. Epub 2014 Nov 20. PMID: 25584208; PMCID: PMC4290225.

Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical inflammatory responses and their modulation. Crit Rev Oral Biol Med. 1998;9(4):498-521. doi: 10.1177/10454411980090040701. PMID: 9825224.

Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. J Endod. 1992 Sep;18(9):427-30. doi: 10.1016/S0099-2399(06)80842-3. PMID: 9796509.

Takeuchi, T.; Amano, K. [Etanercept]. Nihon Rinsho. Japanese Journal Of Clinical Medicine, 60, N. 12, 2002 Dec 2002.

Tsosura TVS, Chiba FY, Mattera MSLC, Pereira RF, Cintra LTA, Conti LC, Santos RMD, Mateus JHP, Garbin CAS, Sumida DH. Maternal apical periodontitis is associated with insulin resistance in adult offspring. Int Endod J. 2019 Jul;52(7):1040-1050. doi: 10.1111/iej.13096. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30756431.

Tsosura TVS, Dos Santos RM, Chaves Neto AH, Chiba FY, Carnevali ACN, Mattera MSLC, Belardi BE, Cintra LTÂ, da Silva Machado NE, Matsushita DH. Maternal Apical Periodontitis Increases Insulin Resistance and Modulates the Antioxidant Defense System in the Gastrocnemius Muscle of Adult Offspring. J Endod. 2021 Jul;47(7):1126-1131. doi: 10.1016/j.joen.2021.04.003. Epub 2021 Apr 20. PMID: 33864881.

Vasconcelos RG, Vasconcelos MG, Mafra RP, Junior LCA, Queiroz LMG, Barbosa CAG. Atendimento odontológico a pacientes gestantes: Como proceder com segurança. Rev. Bras. Odontol., V. 69, N. 1, P. 120-4, Jan./Jun. 2012.

Wajant H, Scheurich P. TNFR1-induced activation of the classical NF-κB pathway. FEBS J. 2011 Apr;278(6):862-76. doi: 10.1111/j.1742-4658.2011.08015.x. Epub 2011 Feb 8. PMID: 21232017.

Wolff OH, Lloyd JK. Childhood obesity. Proc Nutr Soc. 1973 Dec;32(3):195-8. doi: 10.1079/pns19730039. PMID: 4604216.

Wright PA, Wynford-Thomas D. The polymerase chain reaction: miracle or mirage? A critical review of its uses and limitations in diagnosis and research. J Pathol. 1990 Oct;162(2):99-117. doi: 10.1002/path.1711620203. PMID: 2250198.

Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. Int J Obes (Lond). 2009 Jan;33(1):54-66. doi: 10.1038/ijo.2008.229. Epub 2008 Dec 9. PMID: 19050672; PMCID: PMC2650750.

Zi MY, Longo PL, Bueno-Silva B, Mayer MP. Mechanisms Involved in the Association between Periodontitis and Complications in Pregnancy. Front Public Health. 2015 Jan 29;2:290. doi: 10.3389/fpubh.2014.00290. PMID: 25688342; PMCID: PMC4310218.

Nakagaki BN, Mafra K, de Carvalho É, Lopes ME, Carvalho-Gontijo R, de Castro-Oliveira HM, Campolina-Silva GH, de Miranda CDM, Antunes MM, Silva ACC, Diniz AB, Alvarenga DM, Lopes MAF, de Souza Lacerda VA, Mattos MS, Araújo AM, Vidigal PVT, Lima CX, Mahecha GAB, Madeira MFM, Fernandes GR, Nogueira RF, Moreira TG, David BA, Rezende RM, Menezes GB. Immune and metabolic shifts during neonatal development reprogram liver identity and function. J Hepatol. 2018 Dec;69(6):1294-1307. doi: 10.1016/j.jhep.2018.08.018. Epub 2018 Aug 30. PMID: 30171870.