



**CURSO DE ODONTOLOGIA**

**LARISSA DA SILVA BOMFIM**

**INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE MATERNA NA  
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE MATERNO**

**INFLUENCE OF MATERNAL PERIODONTITIS ON THE  
NUTRITIONAL COMPOSITION OF MATERNAL MILK**

**SALVADOR  
2022**

**LARISSA DA SILVA BOMFIM**

**INFLUÊNCIA DA PERIODONTITE MATERNA NA  
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO LEITE MATERNO**

**INFLUENCE OF MATERNAL PERIODONTITIS ON THE  
NUTRITIONAL COMPOSITION OF MATERNAL MILK**

Artigo apresentado ao Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof. Dra. Roberta Santos Tunes

Co-Orientador: Prof. Dr. Urbino da Rocha Tunes

SALVADOR

2021

## **DEDICATÓRIA**

Dedico meu este trabalho de conclusão de curso primeiramente à Deus que me sustentou e me conduziu para que este momento fosse possível e que a sabedoria e a fé fossem meu alicerce durante os cinco anos de graduação. Dedico também à minha mãe e ao meu pai que sempre torcem por mim em todos os momentos, sempre me apoiando com muito carinho e amor.

## SUMÁRIO

**RESUMO**

**ABSTRACT**

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>12</b>
<b>2.1 DESENHO DO ESTUDO</b>	<b>12</b>
<b>2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO</b>	<b>12</b>
<b>2.3 CRITÉRIOS DE NÃO INCLUSÃO</b>	<b>13</b>
<b>2.4 COLETA DAS AMOSTRAS</b>	<b>13</b>
<b>2.4.1 Avaliação periodontal</b>	<b>13</b>
<b>2.4.2 Coleta das amostras de leite</b>	<b>14</b>
<b>2.4.3 Determinação dos ácidos graxos em amostras de leite materno</b>	<b>14</b>
<b>2.4.4 Análise Estatística</b>	<b>17</b>
<b>3. RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>4. DISCUSSÃO</b>	<b>23</b>
<b>5. CONCLUSÃO</b>	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	
<b>APÊNDICE A - TCLE</b>	
<b>APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO</b>	
<b>APÊNDICE C – FICHA PERIODONTAL</b>	
<b>ANEXO A – DIRETRIZES PARA AUTORES</b>	

**ANEXO B – ARTIGOS REFERENCIADOS**

**ANEXO C – APROVAÇÃO DO CEP**



## RESUMO

Apesar não haver estudos na literatura que discutam a influência da periodontite na composição no leite materno (LM), sabe-se que mediadores inflamatórios da infecção periodontal podem agir localmente e à distância, influenciando o parto prematuro e/ou de baixo peso ao nascer, por via hematogênica. Especulando-se que a resposta inflamatória pode provocar um aumento plasmático de leucócitos, resultando em aumento de células e citocinas secretadas no LM, após o parto, a periodontite poderia influenciar na qualidade deste, oferecido ao neonato. O objetivo deste estudo foi testar a influência da periodontite materna na composição nutricional do LM. Lactantes selecionadas no ambulatório de puericultura do centro médico da EBMSp, após exame periodontal, no qual foram registrados índice de placa; profundidade de sondagem; posição da margem gengival, nível de inserção clínica e sangramento à sondagem, foram divididas em dois grupos: mães de crianças com peso  $\geq 2500$  g e/ou  $\geq 37$  semanas de gestação com e sem periodontite. Amostras de 10ml de LM foram coletadas, no período de 30 a 180 dias após o parto, transportadas a  $-4^{\circ}\text{C}$  para o laboratório, centrifugadas a 3500g por 10-20 minutos, obtendo-se parte gordurosa, armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para avaliação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa. Concluiu-se que, não foi possível verificar a influência da periodontite na composição nutricional do LM, apesar de ter sido observada a possibilidade de existirem alterações nos perfis de ácidos graxos, sobretudo naqueles poliinsaturados das classes ômega 3 e 6, associados à inflamação, e ácidos graxos saturados, como o Láurico, nas lactantes com periodontite.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácidos graxos, Periodontite, Leite humano

## **ABSTRACT**

Although there are no studies in the literature that discuss the influence of periodontitis on the composition of breast milk (BM) it is known that inflammatory mediators of periodontal infection can act locally and at a distance, influencing prematurity and/or low birth weight via the hematogenous route. It is speculated that the inflammatory response may cause an increase in plasma leukocytes, resulting in an increase in cells and cytokines secreted in the BM, after childbirth, periodontitis could influence its quality, offered to the neonate. The aim of this study was to test the influence of maternal periodontitis on the nutritional composition of the BM. Nursing mothers selected at the childcare outpatient clinic of the EBMSP medical center, after periodontal examination, in which they were registered plate index; probing depth; gingival margin position, clinical attachment level and bleeding on probing were divided into two groups: mothers of children weighing  $\geq 2500$  g and/or  $\geq 37$  weeks' gestation with and without periodontitis. Samples of 10ml of BM were collected from 30 to 180 days after delivery, transported at  $-4^{\circ}\text{C}$  to the laboratory, centrifuged at 3500g for 10-20 minutes, obtaining the fatty part, stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ , for evaluation of fatty acids by gas chromatography. It was concluded that it was not possible to verify the influence of periodontitis on the nutritional composition of the BM, despite the possibility of changes in fatty acid profiles having been observed, especially in those polyunsaturated omega 3 and 6 classes, associated with inflammation, and saturated fatty acids, such as lauric, in lactating women with periodontitis.

**KEY-WORDS:** Fatty acids, Periodontitis, Human Milk



## 1. INTRODUÇÃO

O leite materno (LM) é o biofluido produzido nas glândulas mamárias das parturientes, tendo como principal função alimentar e suprir as necessidades nutricionais do neonato. O LM é a primeira fonte de nutrientes e componentes bioativos fornecidos ao bebê, possibilitando o seu desenvolvimento e proteção contra potenciais patógenos, evitando que muitas doenças sejam desenvolvidas nesta fase, até que o sistema imune esteja pronto para realizar esta função (1).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2), a amamentação exclusiva, isto é, sem a inserção de outros elementos na rotina alimentar da criança, deve ser mantida por seis meses e após esse período o aleitamento pode ser complementar a ingestão de outros alimentos além deste.

O tempo de amamentação traz inúmeros benefícios para o binômio mãe-neonato, como a prevenção do câncer de mama e de ovário (3), bem como a diminuição do risco de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares nas genitoras, além do aumento da amenorreia, que contribui para o espaçamento entre gestações (4). Estes benefícios são inversamente proporcionais ao tempo de aleitamento materno, de modo que quanto maior a duração desta prática, menor será o risco de desenvolvimento dessas doenças (3).

Os nutrientes presentes no LM proporcionam às crianças condições de sobreviver fora do ambiente uterino até que o seu sistema imune seja totalmente funcional, com efeitos a curto e longo prazo, até mesmo na vida adulta. Como efeitos a curto prazo, têm-se a menor probabilidade de desenvolver infecções crônicas e agudas, como infecções do trato respiratório inferior e gastroenterite, menor morbidade, inteligência elevada. Já a longo prazo, o aumento de peso e o diabetes também podem ser evitados em crianças expostas ao período de amamentação de forma correta (5,6).

O tempo de aleitamento influencia na composição do LM determinando a existência do colostro, o leite de transição e o leite maduro. O colostro é o leite produzido até quinto dia pós-parto, havendo neste a predominância de anticorpo do tipo IgA (7), desempenhando um efeito imuno-protetor (1). O leite de transição é o leite produzido entre cinco dias e duas semanas após o parto, tendo como principal função suprir as necessidades nutricionais da criança

(9). Após a fase transicional, o leite maduro é produzido sendo um fluido rico em gordura e energia (9).

O leite materno é formado nutricionalmente por macronutrientes (proteínas, carboidratos e lipídios) e por micronutrientes (vitaminas e minerais). Dentre eles, destaca-se a fração lipídica, que está presente na forma de glóbulos de gordura formados nas células alveolares mamárias, sendo os triglicerídeos a maior parte dentre os lipídios presentes no LM. Esta fração é a que fornece maior quantidade de energia para o recém-nascido, contribuindo com 40% a 55% da energia total ofertada, e é representada principalmente pelos ácidos graxos. Além disso, a porção lipídica do leite materno também o enriquece com vitaminas lipossolúveis essenciais, tornando o composto fonte essencial de nutrientes (10).

Esta composição pode ser alterada por condições maternas que podem desencadear mudanças na concentração de nutrientes no LM, sobretudo na de lipídios (1). Alguns dos fatores maternos modificadores são: estágio da lactação (11), a idade materna (12), idade gestacional ao nascimento (13), infecções maternas, a exemplo da mastite (14) (15), infecções no lactente (16) (trato respiratório e gastrointestinal), condições sistêmicas da mãe (diabetes mellitus) (17), e questões genéticas (18).

A periodontite é uma doença infecciosa, de natureza imuno-inflamatória associada à destruição dos tecidos de suporte periodontais, como o cemento, o osso alveolar e o ligamento periodontal. As bactérias gram-negativas responsáveis pelo curso da periodontite e suas endotoxinas, atraem um infiltrado de células que vão ser responsáveis pela liberação de mediadores e citocinas pró-inflamatória como a Interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), Interleucina 6 (IL-6), Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interferon gama (IFN- $\gamma$ ). Estes mediadores consequentemente vão gerar uma elevação de Prostaglandina E-2 (PGE-2) e metaloproteinases que vão ocasionar na destruição do tecido conjuntivo e reabsorção do osso alveolar, atestando os efeitos da DP (19). A literatura já demonstrou que indivíduos com periodontite apresentam níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios elevados, além das próprias bactérias e seus subprodutos serem capazes de atingir a corrente sanguínea, ocasionando um estado sistêmico inflamatório subclínico (19) (20), de modo a configurar a plausibilidade biológica para a associação da DP com diversas

condições sistêmicas a exemplo do parto prematuro e nascimento de bebês de baixo peso (21), diabetes mellitus (19) e doenças cardiovasculares (22).

Sabe-se que, em condições fisiológicas, os mediadores inflamatórios diminuem ao longo da lactação (1), sendo que a elevação destes está associada à presença de infecções, sobretudo maternas, como por exemplo mastite (14) (15), gerando aumento plasmático de leucócitos, resultando em aumento de células e citocinas no LM.

Dessa forma, após o parto, parece plausível que a presença sistêmica de patógenos periodontais e seus produtos em mulheres que apresentam periodontite, induzindo e perpetuando a elevação de mediadores inflamatórios plasmáticos, possa ser capaz de alterar a composição do leite materno, influenciando a fonte nutricional e, assim, o desenvolvimento dos recém-nascidos.

Por isso, esta pesquisa tem como objetivo verificar a influência da periodontite na composição nutricional do LM por meio da avaliação de ácidos graxos, associando-os com a presença de periodontite nas parturientes.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 DESENHO DE ESTUDO

O presente estudo é do tipo transversal com puérperas atendidas no ambulatório de puericultura do centro médico da Escola Bahiana de medicina e Saúde Pública, Salvador – Bahia. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, sobnúmero CAAE: 32371620.3.0000.5544 (ANEXO A).

As parturientes submetidas ao estudo foram informadas previamente sobre a natureza da pesquisa, objetivo, riscos e benefícios aos quais elas estiveram expostas e decidiram participar de acordo com as Normas e Diretrizes do Conselho Nacional de Saúde prevista na resolução de nº 466/12.

Ao optar pela participação assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (APÊNDICE A). Em seguida, foram submetidas à entrevista através do questionário para obtenção de dados referentes à identificação, condições sociodemográficas, história médica e odontológica e, dados físicos e antropométricos (APÊNDICE B). As informações que se referiram ao tipo de parto, Índice de Massa Corpórea (IMC), semana de conclusão da gestação, sexo e peso do neonato também foram preenchidas. Após o questionário foi realizada a coleta do leite materno e as avaliações periodontais (APÊNDICE C)

Após o preenchimento do questionário a coleta das amostras de leite foi iniciada. Para realização da análise das amostras, as parturientes foram divididas em dois grupos, com e sem diagnóstico de periodontite.

### 2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídas na pesquisa mulheres dos 18 a 35 anos, que apresentavam pelo menos 10 unidades dentárias em boca, além dos molares e restos radiculares, que tiveram parto a termo, e que fizeram acompanhamento do recém-nato no ambulatório de puericultura do centro médico da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) para avaliação oral e coleta do leite.

## 2.3 CRITÉRIOS DE NÃO-INCLUSÃO

Não foram incluídas neste estudo as parturientes tabagistas, que possuíam alguma condição sistêmica que justificasse profilaxia antibiótica antes da sondagem periodontal, com diabetes mellitus prévia ou gestacional, pré-eclâmpsia, hipertensão; mães com diagnóstico do vírus da imunodeficiência humana (HIV), Sífilis, Hepatite b e c, vírus linfotrófico T humano (HTLV), citomegalovírus, toxoplasmose, rubéola durante a gestação e infecção que tenha sido necessário o uso de antibiótico nos últimos três meses.

## 2.4 COLETA DAS AMOSTRAS

### 2.4.1 Avaliação Periodontal

A avaliação periodontal das parturientes foi feita por um cirurgião-dentista, sob condições adequadas de iluminação e assepsia, estando as voluntárias sentadas para realização do exame.

No exame periodontal foram avaliados os seguintes parâmetros clínicos: ausência ou presença do biofilme; verificada dicotomicamente (adaptado de Løe, 1967) (23).

Para esta avaliação foram utilizados um espelho bucal, gaze e uma sonda milimetrada [modelo Carolina do Norte, PCPUNC 15 (Hufriedy®, Chicago, IL, USA)] explorando seis sítios por dente (MV, V, DV, ML, L, DL) para registro de índice de placa, sangramento a sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) – posição da margem gengival ao fundo de sulco ou bolsa; posição da margem gengival (PMG) - localização da margem gengival livre em relação à posição da JCE e nível de inserção clínica (NIC) – determinado através da soma da PS e localização da margem gengival livre em relação a junção cimento-esmalte (JCE).

Após a coleta e preenchimento da ficha de avaliação com dados pertinentes à avaliação periodontal, as mães foram divididas em dois grupos de pacientes, com ou sem periodontite, de acordo com os critérios descritos em Gomes- Filho *et al.* (2007) (24), que descreve periodontite como a presença de pelo menos quatro dentes em boca com um ou mais sítios com profundidade de sondagem  $\geq 4$  mm e nível de inserção clínica  $\geq 3$  mm no mesmo sítio e

presença de sangramento à sondagem. Diante disso, aquelas que se enquadraram na descrição se encaixaram no grupo de mães com a periodontite.

### **2.4.2 Coleta das amostras de leite**

A coleta do leite foi feita em mães que estavam realizando apenas amamentação exclusiva, isto é, alimentavam os recém-nascidos apenas com o LM, independente se pertenciam ao grupo de parturientes com ou sem DP. As amostras foram recolhidas no período de 30 a 180 dias após o nascimento da criança, sendo retirado 10 ml de leite de uma mama previamente higienizada com clorexidina a 0,5% e sem sinais de infecção, com o auxílio de uma bomba eletrônica de sucção [G-TECH modelo Compact (Zhejiang e Child, Zhejiang, China)]. Após a coleta, as amostras foram transportadas a -4°C por no máximo duas horas até o laboratório onde 10 ml foram centrifugadas duas vezes, subsequentes, a 10.000 RPM por 10 e 20 minutos com objetivo se obter separadamente a parte gordurosa e o soro do leite.

Após a centrifugação de parte do LM, o remanescente foi armazenado a -80°C, para análise dos ácidos graxos, pelo método da cromatografia gasosa, realizados no Núcleo de Pesquisa e Inovação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

### **2.4.3 Determinação dos ácidos graxos em amostras de leite materno**

Para avaliação dos ácidos graxos nas amostras de LM foi utilizado como método a cromatografia gasosa. Este método busca separar os compostos de uma amostra volátil. A extração de lipídios do LM e consequente produção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) foram realizados de acordo com o método descrito por Ostermann *et al.* (25) e Santos *et al.* (26) com modificações.

Previamente à injeção das amostras no cromatógrafo, foi necessário que o leite coletado, em sua forma integral, passasse pela etapa de conversão dos lipídios em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) por derivatização. O sistema funciona por meio de um gás de arraste, em sua fase móvel, que

conduz a amostra colocada no injetor até a coluna no interior do aparelho, onde os analitos são separados pela interação dos compostos com a fase estacionária até um sistema de detecção que produz um sinal analítico, e ao fim transforma em cromatograma para avaliação dos componentes amostrais em um computador.

O processamento das amostras inicia-se pelo procedimento de extração lipídica do LM. Primeiramente, é feita a pesagem dos tubos de eppendorf (1,5MmL). Após esse momento 100 $\mu$ L de LM em sua forma integral foi adicionado em um tubo de eppendorf, distinto dos que foram pesados, e adicionou-se 7 $\mu$ L de controle interno de Ácido tricosanóico a 10mM (C:23) e 7 $\mu$ L de Ácido azeláico a 1M, utilizado como padrão interno e normalizador das amostras. Acrescentou-se 300 $\mu$ L de metanol seguido de vórtex por 30 segundos. Foi adicionado 600 $\mu$ L de metil-terc-butílico (MTBE) seguido de vórtex por 30 segundos. Uma solução foi preparada contendo 36 $\mu$ L de Ácido acético a 250Mm e 300 $\mu$ L de Acetato de amônio a 0,15mM, por amostra, tendo sido adicionado 336 $\mu$ L desta solução seguida de homogeneização por vórtex por 30 segundos. As amostras foram centrifugadas a 3500g por 5 minutos e após o processo foi iniciada a fase de coleta da parte orgânica superior das amostras. Um volume padronizado para todas as amostras foi coletado nos tubos de eppendorf anteriormente pesados, com o objetivo de obter somente a massa dos lipídios em cada tubo, sendo o peso dos tubos de eppendorf desprezados. Adicionou-se mais 300 $\mu$ L de MTBE no volume restante, com o intuito de coletar maior quantidade de lipídios possível seguido de vórtex por 5 segundos e centrifugação das amostras por 5 minutos a 3500g. A fase orgânica foi coletada mais uma vez e combinada com o volume já extraído.

O material extraído foi exposto numa capela de exaustão para que o conteúdo orgânico das amostras secasse.

Os tubos com material lipídico extraído e seco foram novamente pesados para determinar a quantidade de lipídios extraídos durante o processo. A partir da pesagem, a fase de derivatização das amostras se iniciou.

A derivatização para formação de FAMES nas amostras foi feita seguindo o protocolo descrito em Santos-Júnior *et al.* (26). Uma solução contendo Hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5M e 0,5 de Metanol (MeOH) foi colocada para ressuspensão do extrato lipídico nas amostras, seguida de homogeneização por vórtex por 30

segundos. Após esse momento a cuba ultrassônica foi preparada com água em temperatura ambiente onde as amostras foram colocadas com auxílio de um suporte plástico e deixadas por 5 minutos a 42Khz e 160W para completa homogeneização. Ao retirar as amostras da cuba ultrassônica, foi adicionado, por amostra, 300µL de uma solução contendo 9,52mg de Cloreto de Amônio (NH<sub>4</sub>Cl), 14,1µL de Ácido Sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e 285,72µL de metanol. Os tubos de eppendorf contendo a solução de derivatização foram colocados novamente na cuba ultrassônica por 10 min. Ao retirar as amostras da cuba, foi adicionada uma solução saturada de Cloreto de sódio (86,4mg NaCl + 240µL de H<sub>2</sub>O) por amostra e o extrato foi colocado no vórtex por 30 segundos para homogeneização. Os FAMES foram extraídos da solução pela adição de 250µL de Hexano em cada tubo de eppendorf e levado ao vórtex novamente por 30 segundos. Acabado os 30 segundos no vórtex, as amostras foram congeladas por 24 horas a -18°C.

Para que fosse iniciado o processo no cromatógrafo, após as 24 horas sob congelamento, as amostras foram descongeladas, centrifugadas por 30 segundos a 3500g e o extrato superior foi coletado e posto no insert de vidro. A cromatografia gasosa foi feita utilizando coluna capilar J&W VF-5MS (60m x 0,25mm x 0,25µm) em um cromatógrafo Focus GC (Thermo Scientific, série número 10902047) equipado com um detector por ionização de chamas (Flame Ionizing Detector - FID). A separação cromatográfica utilizou o gradiente de temperatura: 170°C-210°C, utilizando rampa de 10°C por minuto; 210-260°C utilizando rampa de 3°C por minuto (o método teve duração total de ~36 min). O gás Hélio foi utilizado como carreador em fluxo constante de 1,5ml/minuto. O "Inlet" (câmara de injeção) foi mantido a 300°C e 2µL das amostras foram injetados manualmente, em modo "split" com razão de 1:10. O detector por ionização de chamas foi mantido a 300°C com fluxo de gases (hidrogênio, ar sintético, nitrogênio) padrão do aparelho.

O software utilizado para obtenção do cromatograma foi o ChromaQuest 5.0 onde a área referente a cada pico foi normalizada pelo ácido azelaico. Os picos de ácidos graxos foram identificados através do tempo de retenção, que é o tempo que o componente da amostra permanece na fase gasosa, previamente reconhecidos por um kit de ácidos graxos que permite identificar os ácidos: cáprico, cáprilico, láurico, mirístico, palmitoleico, palmítico, linoléico, linolênico+oléico+petroselínico, elaídico, estearico, araquidônico.



As áreas correspondentes a cada pico identificado foram normalizadas pela área correspondente ao ácido azelaico, que foi utilizado como controle interno para este experimento, sendo calculadas as médias e desvios-padrão.

#### **2.4.4 Análise estatística**

Devido ao baixo n amostral tanto do grupo com periodontite quanto do grupo sem periodontite, configurando uma distribuição não normal da amostra, os dados referentes a caracterização geral, sociodemográfica, histórico de parto anterior, consultas e tratamentos odontológicos durante a gestação, e os parâmetros clínicos periodontais e físicos conforme o diagnóstico periodontal foram demonstrados de forma descritiva por meio de médias, desvio-padrão, frequências absolutas e relativas. Os dados obtidos a partir do processamento dos ácidos graxos por cromatografia gasosa das amostras de LM do grupo caso e controle, foram comparados por análise não paramétrica, aplicando-se o teste de Mann-Whitney.

### 3. RESULTADOS

Neste estudo, contou-se com a participação de dezessete lactantes que se encaixaram nos critérios de inclusão pré-estabelecidos para desenvolvimento desta pesquisa. Deste grupo, catorze mães foram selecionadas para o grupo caso, com diagnóstico de periodontite, e três para o grupo controle, sem diagnóstico de periodontite.

Segundo a caracterização geral da amostra e histórico gestacional, a média de idade obtida foi de 27,70 anos ( $\pm 7,37$ ), evidenciando ser uma população jovem adulta. A renda familiar média desses indivíduos foi de 1139,60 ( $\pm 371,40$ ), demonstrando que as participantes fazem parte da classe D e E (29), da cidade de Salvador, Bahia. (Tabela 01)

No que diz respeito ao Índice de Massa Corporal (IMC), as mães apresentaram média de 25,00 ( $\pm 5,58$ ). Porém, estratificando a amostra de acordo com a classificação do IMC, 26,67% das voluntárias se enquadraram no perfil de obesidade (30), 20% em sobrepeso (30), 46,67% em peso adequado e 6,67% em abaixo do peso (30). (Tabela 01)

Sobre o histórico médico das gestações, a média da idade gestacional obtida foi de 39 ( $\pm 1,62$ ) semanas, a média do número de gestações foi de 2,23 ( $\pm 1,52$ ) e o ganho de peso médio na gestação foi de 7,66 Kg ( $\pm 9,74$ ). (Tabela 01)

Tabela 1. Caracterização geral da amostra

<b>Variáveis (n=17)</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>
Idade	27,70	7,37
Renda familiar	1139,60	371,40
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,00	5,58
Nº gestações	2,23	1,52

Idade gestacional (IG) (semanas)	39,00	1,62
Nº consultas pré-natal	7,58	5,30

Em relação a caracterização sócio-demográfica da amostra, a maioria das participantes foi classificada como indivíduos da cor melanoderma (53,3%), seguido de faioderma (26,6%) e leucoderma (20%). O nível de escolaridade com maior prevalência foi ensino médio completo (64,7%), seguido do ensino médio incompleto (23,5%). (Tabela 02)

Os dados sobre a história odontológica relatado pelas lactantes evidencia que das 17 participantes, a maior parte (12) não recebeu assistência odontológica durante a gravidez (70,59%), enquanto 5 foram acompanhadas pelo cirurgião-dentista (29%) (Tabela 2).

Tabela 2. Caracterização sócio-demográfica, frequência de parto anterior, consultas e tratamentos odontológicos durante a gestação

Variáveis	n=17	%
<b>Cor</b>		
Melanoderma	8	53%
Faioderma	4	27%
Leucoderma	3	20%
<b>Escolaridade</b>		
Fundamental incompleto	1	5,88%
Fundamental completo	1	5,88%
Ensino médio incompleto	4	23,53%
Ensino médio completo	9	64,71%
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>		
Abaixo do peso	1	6,67%
Peso adequado	7	46,67%
Sobrepeso	3	20%
Obesidade	4	26,67%
<b>Parto anterior</b>		
Sim	8	47,06%
Não	9	52,94%
<b>Consulta odontológica</b>		
Sim	5	29,41%
Não	11	70,59%

<b>Tratamento odontológico</b>		
Sim	5	29,41%
Não	11	70,59%

Em relação aos parâmetros clínicos periodontais a média do IPV do grupo caso foi 60,36% ( $\pm 0,22$ ); o SS com média 25,18% ( $\pm 0,097$ ); PS 2,69 ( $\pm 0,41$ ); NIC 2,76 ( $\pm 0,41$ ); PS $\geq$ 5mm 8,07% ( $\pm 0,0006$ ); NIC  $\geq$ 5mm 8,70% ( $\pm 0,09$ ) e a média do número de dentes foi 25,64 ( $\pm 2,70$ ), no grupo em questão. No grupo controle, a média do IPV foi de 65,87% ( $\pm 0,13$ ), SS 10,65% ( $\pm 0,054$ ), PS de 2,70 ( $\pm 0,63$ ), NIC 2,37 ( $\pm 0,14$ ), PS $\geq$ 5mm 0,00% ( $\pm 0,00$ ), NIC  $\geq$ 5mm 2,05% ( $\pm 0,03$ ) e número de dentes com média 25,00 ( $\pm 5,19$ ).

Sobre o IMC do grupo caso, a média foi de 25,99 ( $\pm 5,82$ ), a idade gestacional 37,71 ( $\pm 1,72$ ) e peso do neonato 3152,10 ( $\pm 5129,93$ ). No grupo controle as médias referentes ao IMC, ganho de peso, idade gestacional e peso do neonato foram 21,02 ( $\pm 1,45$ ), 11,16 ( $\pm 3,68$ ), 39,33 ( $\pm 1,52$ ) e 3341,70 ( $\pm 317,58$ ), respectivamente.

Tabela 3. Avaliação descritiva dos parâmetros clínicos periodontais e físicos conforme o diagnóstico periodontal

Variáveis	Diagnóstico periodontal			
	Com Periodontite n=14		Sem Periodontite =3	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<b>IPV (%)</b>	60,36%	0,22	65,87%	0,13
<b>SS (%)</b>	25,18%	0,097	10,65%	0,054
<b>PS (mm)</b>	2,69	0,41	2,70	0,63
<b>NIC (mm)</b>	2,76	0,41	2,37	0,14
<b>PS<math>\geq</math>5mm (%)</b>	8,07%	0,0006	0,00%	0,00
<b>NIC<math>\geq</math>5mm (%)</b>	8,70%	0,09	2,05%	0,03
<b>Número de dentes</b>	25,64	2,79	25	5,19
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,99	5,82	21,02	1,45
<b>IG (s)</b>	38,71	1,72	39,33	1,52

<b>Peso do neonato (g)</b>	3152,10	512,93	3341,70	317,58
----------------------------	---------	--------	---------	--------

---

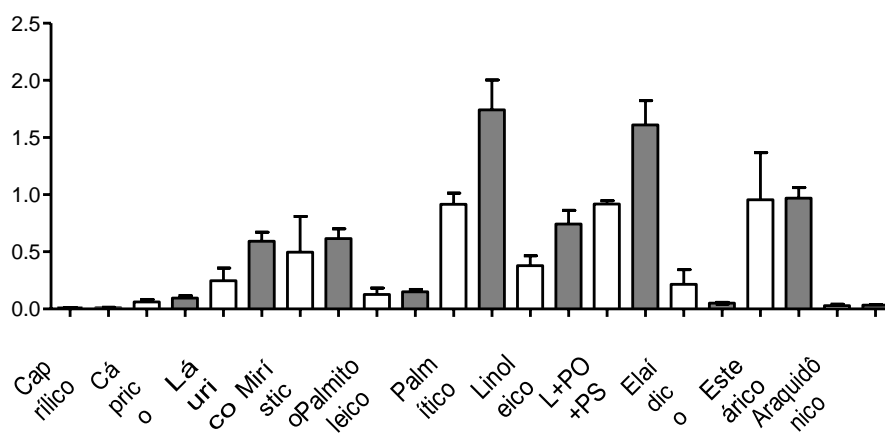
Pelo processamento dos dados, por cromatografia gasosa das dezessete amostras, foi possível identificar os ácidos Caprílico (C:8), Cáprico (C:10), Láurico (C:12), Mirístico (C:14), Palmitoleico (C16:1), Palmítico (C16:0), Linoleico (C18:2), Linolênico (C18:3) + Oléico (C18:1) + Petroselínico (C18:1), Elaídico (C18:1), Esteárico (C18:0) e Araquidônico (C20:4).

De acordo com as áreas dos picos das amostras no cromatograma os ácidos Caprílico (C:8), Cáprico(C:10), Palmitoléico (C16:1), Elaídico (C18:1) e Araquidônico (C20:4) estão em menor quantidade em ambos os grupos. Os ácidos Palmítico (C16:0), Linolênico (C18:3) + Oléico (C18:1) + Petroselínico (C18:1) e esteárico (C18:0) apresentaram-se em maior quantidade nos grupos caso e controle.

Os ácidos Linoléico (C18:2), Mirístico (C:14) e Láurico (C:12) apareceram no gráfico com picos representando áreas intermediárias em ambos os grupos, em relação àqueles descritos anteriormente.

Analisando as diferenças entre os grupos caso e controle de acordo com a área dos picos entre os ácidos Palmítico (C16:0), Linoléico (C18:2), Linolênico (C18:3) + Oléico (C18:1) e Láurico (C:12), pode ser observado que nestas colunas a área dos picos do grupo caso foi maior que o grupo controle, sendo que, foi possível verificar que o ácido Láurico (C:12), mesmo estando entre os ácidos que se encontram com picos intermediários, foi verificado que há uma “tendência” ( $p=0,06$ ) ao aumento favorecendo o grupo com doença periodontal (gráfico 1).

Gráfico 1. Áreas dos picos dos ácidos graxos dos grupos caso (barra cinza) e controle (barra branca)



### 3. DISCUSSÃO

Ainda não há na literatura estudos que apontem a influência da periodontite materna na composição nutricional do LM. Porém, sabe-se que infecções maternas podem mudar a composição do leite, como por exemplo no caso da mastite, na qual ocorre uma infecção do tecido mamário apresentando grandes concentrações de ácidos graxos de cadeia longa por lipólise, como também, citocinas que estão presentes na indução de células imunes (14). Além da mastite, doenças virais adquiridas pelas genitoras podem ser transferidas para o bebê por meio do leite materno, contendo os agentes virais, como citomegalovírus, HIV, HTLV entre outros (31,32). Dessa forma, verificou-se que condições maternas podem influenciar na qualidade e nos componentes bioativos do LM, podendo ser também uma via de transmissão de doenças para o recém-nato.

A doença periodontal sendo uma doença de natureza imuno-infecciosa, com a presença das bactérias gram-negativas responsáveis pelo seu desenvolvimento, há uma ativação de células responsáveis pela liberação de mediadores inflamatórios e citocinas como a IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ . Conseqüentemente, com a ocorrência desse episódio, há o aumento do nível de PGE-2 e metaloproteinases (19). A literatura já demonstra que indivíduos que possuem DP apresentam mediadores inflamatórios plasmáticos elevados, por conta dos patógenos periodontais e seus subprodutos atingirem a corrente sanguínea por bacteremia, contribuindo para o desenvolvimento e/ou agravamento de um estado inflamatório subclínico (19,20), repercutindo sistemicamente, como acontece na diabetes mellitus (19), em doenças cardiovasculares (22) e em mulheres grávidas, influenciando na ocorrência de desfechos como parto prematuro e no baixo peso ao nascer (21,28).

Por isso, é plausível suspeitar que a presença da doença periodontal e suas repercussões sistêmicas influenciem na composição nutricional do leite materno de mulheres que tenham a doença.

A média de idade das genitoras que participaram deste estudo foi de 27,70 ( $\pm 7,37$ ), demonstrando ser uma população jovem-adulta. A idade materna também é um modificador do conteúdo do LM, na medida em que, segundo MPharm *et al.* (2019) (33), comparando-se genitoras divididas em dois grupos (mães com mais e menos de 35 anos), foi percebido que o perfil de

gorduras totais e  $\beta$ -caroteno presentes no leite de mães com mais de 35 anos se mostrou aumentado em relação àquelas mais jovens, tanto no estágio de colostro, quanto no estágio de leite maduro (33).

O grupo de parturientes do presente estudo apresentou nível satisfatório de consultas (7,58  $\pm$ 5,30) já que o Ministério da saúde, de acordo com a portaria nº 570 de 01 de junho de 2000, preconiza que a realização de pelo menos 6 seis consultas de acompanhamento pré-natal deve ser realizada (41).

Como a literatura já demonstra a influência da idade gestacional na composição do leite materno, optou-se por selecionar lactantes com parto a termo (média de IG = 38,71  $\pm$ 1,72). De acordo com Thakur *et al.* (2021) (34) no estudo com bebês prematuros, constatou-se a diminuição do teor de proteínas ao longo de quatro semanas após o parto em amostras de leite de genitoras que tiveram parto prematuro com IG < 32 semanas (34). Collado *et al.* (2015) (35), observaram em seu estudo, concentrações semelhantes de ácidos graxos na maioria das amostras de leite de parturientes a termo e pré-termo, porém, verificando níveis de ácidos graxos saturados ligeiramente maiores nas amostras de colostro de mães que tiveram parto prematuro do que de genitoras com parto a termo (35).

A condição socioeconômica da população do presente estudo, pertencentes às classes D e E da cidade de Salvador, associada ao baixo nível de escolaridade, configuraram fatores de risco para a obesidade e sobrepeso (39), além de repercutir negativamente na condição de saúde bucal (43).

A média do IMC deste grupo foi de 25,00 ( $\pm$ 5,58), classificando-o em sobrepeso (30). Sabe-se que o sobrepeso e a obesidade podem causar alterações na composição lipídica do LM e repercussões durante a gestação bem como no momento do parto, como síndromes hipertensivas, diabetes, infecções e eventos tromboembólicos (37). Fujimore (2016) (38), em seu trabalho, concluiu que o colostro de mães obesas possui um teor maior de gordura, glicose e colesterol (38). De acordo com Makäelä *et al.* (2013) (42), em seu estudo com mulheres acima do peso, observou-se maior quantidade de ácidos graxos saturados e menor quantidade de ácidos graxos poliinsaturados no LM (42).

Também foi constatado no estudo de García- Ravelo *et al* (2018) (36) níveis significativamente baixos de ácidos-graxos poliinsaturados de cadeia



longa n-3 (AGPI n-3) e teores mais altos de ácidos graxos de cadeia longa n-6 (AGPI n-6) em amostras de leite de nutrizes com sobrepeso (36). Sabe-se que os AGPI n-3 são ácidos da família ômega-3 e estão associados a um potencial anti-inflamatório, enquanto os AGPI n-6 são ácidos pertencentes à família ômega-6 associados a um potencial pró-inflamatório (36,40), estado este dominante nas condições de obesidade e excesso de peso (38,47). O tecido adiposo, além de representar um tecido de estocagem, configura-se como tecido altamente metabólico, secretor de adipocitocinas e mediadores inflamatórios, de modo que já é sabido na literatura que indivíduos obesos apresentam concentrações séricas elevadas de mediadores inflamatórios, contribuindo para a presença de um estado sistêmico inflamatório subclínico ou de baixo grau (47). A presença de ácidos graxos poliinsaturados no LM influencia em funções importantes para o desenvolvimento do neonato como no desenvolvimento neural e visual, principalmente pela presença dos AGPI docosahexanoico (DHA) e araquidônico (ARA) (44).

A tabela de avaliação descritiva dos parâmetros clínicos periodontais e físicos demonstrou que 82,3% das parturientes deste estudo apresentam periodontite. O IPV se mostrou elevado em ambos os grupos, destacando que populações com baixo nível socioeconômico e educacional estão sujeitas a piores condições de saúde bucal (43). Este grupo obteve médias de SS de 25,8% ( $\pm 0,97$ ), PS de 2,69mm ( $\pm 0,41$ ), NIC de 2,76mm ( $\pm 0,41$ ), porcentagem de sítios com PS  $\geq 5$ mm de 8,07% ( $\pm 0,0006$ ) e de NIC  $\geq 5$ mm de 8,70% ( $\pm 0,09$ ), refletindo maior inflamação, extensão e grau de perda de inserção, em relação ao grupo sem periodontite. Dessa forma, verifica-se que o critério de doença periodontal descrito por Gomes-Filho et al. (2007) (27), caracteriza-se por ser um critério fidedigno para a identificação de casos de periodontite.

Já é sabido que alterações metabólicas decorrentes da obesidade como o aumento na produção das citocinas inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, podem alterar a qualidade do leite materno no que diz respeito ao seu conteúdo lipídico, bem como, podendo culminar em um estado sistêmico inflamatório crônico de baixo grau, aumentando o risco ou progressão da doença periodontal (47). Por isso, é plausível sugerir que o grupo de genitoras com periodontite, que também apresentou média de IMC = 25,99, indicando sobrepeso, apresente alterações na qualidade nutricional do leite materno. A

média do número de dentes descrito na tabela das parturientes do grupo caso (25,64) se mostra muito próxima a média da quantidade de dentes das participantes sem DP (25,00). As médias elevadas e equivalentes de dentes em ambos os grupos, refletem a faixa etária jovem dessas mães. Segundo Freitas Jr *et al.* (2008) os efeitos das doenças periodontais são mais severos em pacientes idosos, culminando na perda dentária (45).

De acordo com a identificação dos ácidos pela cromatografia gasosa, os ácidos palmítico (C16:0), linolênico (C18:3) + oléico (C18:1) + petroselínico (C18:1) e esteárico (C18:0) apresentaram os maiores picos nas amostras de leite analisadas. De acordo com o estudo feito por Freitas *et al.* (2009) (46), apesar da composição do LM ser variável, os ácidos graxos citados fazem parte do perfil fisiológico do leite (46). As altas concentrações de ácido palmítico no LM contribui para maior digestibilidade do neonato, servindo também como fonte de energia para estoque (46). O ácido poliinsaturado linolênico, sendo da família ômega-3, contribui de forma significativa para a prevenção de doenças cardiovasculares, inflamações crônicas, crescimento fetal e desenvolvimento neural entre outras funções sistêmicas de grande importância (40).

Os ácidos láurico (C:12), mirístico (C:14) e linoléico (C18:2), apresentaram-se no gráfico com áreas intermediárias entre os maiores e menores picos em ambos os grupos. Foi possível verificar na área do pico do ácido Láurico que o grupo caso mostrou uma “tendência” ao aumento ( $p=0,06$ ), favorecendo o grupo com periodontite. O ácido láurico, um ácido graxo saturado, muito abundante no óleo de coco é conhecido por suas propriedades antivirais, antifúngicas e principalmente antibacterianas, sendo ácido graxo saturado mais ativo no combate a bactérias gram-positivas, pelo rompimento da membrana celular desses microrganismos por processos físicos-químicos. O C:12 interfere nos processos de transdução de sinal celular e transcrição de genes dessas bactérias (48). Para a odontologia, o ácido Láurico é capaz de inibir a formação de placa e a dissolução da hidroxiapatita, reduzindo efeitos deletérios sobre o esmalte dentário e conseqüentemente proliferação bacteriana (48).

Sabe-se que, a abundância de ácido láurico e mirístico é correlacionada com o aumento de doença coronariana, tendo seu risco reduzido se forem

substituídos por ácidos graxos poliinsaturados, especialmente o ácido Palmítico (48). As genitoras deste estudo estando em condição de sobrepeso, condição esta que contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs) (47), inseridas neste contexto, são influenciadas por dois fatores contribuintes para desenvolvimento de DCVs: o sobrepeso e a tendência aumentada do ácido Láurico no grupo com DP. Junto a este fato, a presença do ácido linoleico, também aumentado no grupo em questão, sugere o acontecimento de um estado inflamatório nestes indivíduos, já que está relacionado a eventos pró-inflamatórios. O ácido linoleico pertencente à família dos ácidos graxos ômega-6 (n-6), que se apresenta moderado no gráfico, sendo um ácido poliinsaturado essencial adquirido pela dieta, quando em altas quantidades favorece a formação de eicosanoides derivados do Ácido araquidônico (C20:4) favorecendo a síntese de eicosanoides inflamatórios que influenciam a formação de trombos e ateromas (40). Assim como o ácido araquidônico tem como precursor o ácido linoleico, o ácido docosahexaenoico (DHA) é originado a partir do ácido  $\alpha$ -linolênico que após sofrer o processo de dessaturação, (adição de ligações duplas à cadeia) por meio das dessaturases e alongamento de sua cadeia, formam DHA (40). A deficiência do ácido  $\alpha$ -linolênico em animais causa uma deficiência na produção de DHA, favorecendo ácidos graxos da família ômega-6, que favorece episódios pró-inflamatórios (40).

Apesar de não ter sido possível realizar uma comparação estatística dos ácidos graxos existentes nas amostras dos grupos com e sem periodontite, pelo reduzido número de amostras, sobretudo do grupo controle, ainda assim foi possível identificar um perfil mais inflamatório de ácidos graxos (ômega-3 e 6), associada à tendência de maior presença do ácido Láurico, com seu perfil antimicrobiano mas também pró-inflamatório em conjunto com outros tipos de ácidos, nas lactentes do grupo caso, podendo sugerir alguma influência da periodontite no LM, associado a outros fatores como o IMC elevado.

Tratando-se ser um estudo piloto, abordando tema inédito na literatura, a seleção de voluntários bem como a coleta de novas amostras e processamento dos dados experimentais laboratoriais devem continuar, incluindo análises visando a quantificação dos ácidos graxos identificados a fim de se obter grupos comparáveis e dados que embasem a associação da periodontite com alterações lipídicas no leite materno.

#### **4. CONCLUSÃO**

Diante das evidências discutidas neste estudo, não foi possível verificar a influência da periodontite na composição nutricional do LM, apesar de ter sido observada a possibilidade de existirem alterações nos perfis de ácidos graxos, sobretudo naqueles poliinsaturados das classes ômega 3 e 6, associados à inflamação, e ácidos graxos saturados, como o Láurico, nas lactantes com periodontite.

## REFERÊNCIAS

1. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum. Dev.* 2015; 91(11):629–35
2. OMS / UNICEF. Estratégia global para alimentação de lactentes e crianças pequenas. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2003
3. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir.* 2017; 39(2).
4. Sattari M, Serwint JR, Levine DM. Maternal Implications of Breastfeeding: A Review for the Internist. *Am J Med.* 2019; 132(8):912–20.
5. Victora CG, Bahl R, Barros AJD, França GVA, Horton S, Krasevec J, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet.* 2016; 387(10017):475–90.
6. Rouw E, von Gartzen A, Weißenborn A. Bedeutung des Stillens für das Kind. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz.* 2018; 61(8):945–51.
7. Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk. *J Nutr.* 2011; 141(6):1181–7.
8. Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition. *Pediatr Clin North Am.* 2013; 60(1):49–74.
9. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr.* 2014; 14(1).
10. Koletzko B, Rodriguez-Palmero M, Demmelmair H, Fidler N, Jensen R, Sauerwald T, et al. Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum Dev.* 2001; 65: S3 – S18.
11. Gao X, McMahon RJ, Woo JG, Davidson BS, Morrow AL, Zhang Q. Temporal changes in milk proteomes developing milk functions. *J Proteome Res.* 2012; 11(7): 3897-907.

12. Argov-Argaman N, Mandel D, Lubetzky R, Kedem HM, Cohen BH, Berkovitz Z, Reifen R. Human milk fatty acids composition is affected by maternal age. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 30(1):1-16.
13. Montagne P, Cuillière ML, Molé C, Béné MC, Faure G. Immunological and nutritional composition of human milk in relation to prematurity and mother's parity during the first 2 weeks of lactation. *J Pediatric Gastroenterol Nutr.* 1999; 29(1): 75-80.
14. Hunt KM, Williams JE, Shafii B, Hunt MK, Behre R, Ting R, et al. Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeed Med.* 2013; 8(1):105–110.
15. Tuailon E, Viljoen J, Dujols P, Cambonie G, Rubbo PA, Nagot N, et al. Subclinical mastitis occurs frequently in association with dramatic changes in inflammatory/anti-inflammatory breast milk components. *Pediatr Res.* 2017; 81(4): 556-64.
16. Riskin A, Almog M, Peri R, Halasz K, Srugo I, Kessel A. Changes in immunomodulatory constituents of human milk response to active infection in the nursing infant. *Pediatr Res.* 2011; 71(2):220-25.
17. Morceli G, França EL, Magalhães VB, Damasceno DC, Calderon IMP, Honorio-França AC. Diabetes induced immunological and biochemical changes in human colostrum. *Acta Paediatrica* 2011; 100(4): 550-56.
18. Orczyk-Pawilowicz M, Lis-Kuberka J. The impact of dietary fucosylated oligosaccharides and glycoproteins of human milk on infant well-being. *Nutrients.* 2020; 12(4): 1-26.
19. Santos Tunes R, Foss-Freitas MC, Nogueira-Filho Gda R. Impact of periodontitis on the diabetes-related inflammatory status. *J Can Dent Assoc.* 2010; 76:a35–a35.
20. Wahaidi VY, Kowolik MJ, Eckert GJ, Galli DM. Endotoxemia and the host systemic response during experimental gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2011; 38(5):412–7.
21. Weidlich P, Cimões R, Pannuti CM, Oppermann RV. Association between periodontal diseases and systemic diseases. *Braz Oral Res.* 2008b; 22(1):32–43.

22. Eno Belinga LE, Bell Ngan W, Lemougoum D, Essam Nlo'o ASP, Bongue B, Ngono A, et al. Association between periodontal diseases and cardiovascular diseases in Cameroon. *J Public Health Afr.* 2018;9(1):761.
23. Löe H, Theilade E, Jensen, SB, Schiott CR. Experimental gingivitis in man. III. Influence of antibiotics on gingival plaque development. *J Periodontol Res.* 1967;2(4):282- 299
24. Gomes-Filho IS, Cruz SS, Rezende EJC, Dos Santos CAST, Soledade KR, Magalhães MA, et al. Exposure measurement in the association between periodontal disease and prematurity/low birth weight. *J Clin Periodontol.* 2007;34(11):957–63.
25. Ostermann AI, Muller M, Willenberg I, Schebb NH. Determining the fatty acid composition in plasma and tissues as fatty acid methyl esters using gas chromatography – a comparison of different derivatization and extraction procedures. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2014; (91):234-241.
26. Santos Júnior OO, Montanher PF, Bonafé EG, Prado IN, Maruyama SA, Matsushita M, Visentainer JV. A simple, fast and efficient method for transesterification of fatty acids in foods assisted by ultrasound energy. *Periódico.* 2014; 25:1-8.
27. Ferreira FV, Marchionatti AM, Oliveira MDM, Praetzel JR. Associação entre a duração do aleitamento materno e sua influência sobre o desenvolvimento de hábitos orais deletérios. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2010 Mar;7(1):35-40.
28. Nunes Castro LH, de Castro Rizzi C, Barros Leal C, Ferreira Lopes F, de Fátima Vasconcelos Pereira A, Coelho Alves CM. Doença periodontal versus parto prematuro de bebê de baixo peso. *Arquivos em Odontologia.* 2005;41(3):193-272.
29. Porfírio F. Classe social. *Brasil Escola*; [Acesso em 14 jan 2022]. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/sociologia/classesocial.htm#:~:text=Classe%20B%3A%20de%205%20a,E%3A%20at%C3%A9%201%20sal%C3%A1rio%20m%C3%ADnimo.>
30. Ministério da Saúde. Estado nutricional dos usuários da atenção básica. [acesso em 14 jan 2022]. Disponível em: [http://tabnet.datasus.gov.br/cgi-win/SISVAN/CNV/notas\\_sisvan.html](http://tabnet.datasus.gov.br/cgi-win/SISVAN/CNV/notas_sisvan.html).
31. Bardanzellu F, Fanos V, Reali A. Human Breast Milk-acquired Cytomegalovirus Infection: Certainties, Doubts and Perspectives. *Curr Pediatr Rev.* 2018; 14;15(1)

32. Justo Giugliani E, Oliveira Vieira G, Lúcia Leal Ferreira Elias C, Teixeira Krause Closs C, Mário Da Silveira Issler R, Negri R, et al. Doenças maternas infecciosas e amamentação. 2017. Disponível em:  
[https://www.sbp.com.br/fileadmin/user\\_upload/Aleitamento\\_\\_DoencMat\\_Infec\\_e\\_Amam.pdf](https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/Aleitamento__DoencMat_Infec_e_Amam.pdf)
33. Denic M, Sunaric S, Gencic M, Zivkovic J, Jovanovic T, Kocic G et al. Maternal age has more pronounced effect on breast milk retinol and beta-carotene content than maternal dietary pattern. *Nutrition*. 2019;65:120–125
34. Thakur A, Kler N, Garg P, Ghandi P, Srivastava S. Macronutrient analysis of human milk and factors associated with its composition in mothers of preterm infants  $\leq 32$  weeks. *Eur J Pediatr*. 2021; 180(12):3527-3534.
35. Collado MC, Santaella M, Mira-Pascual L, Martínez- Arias E, Khodayar-Pardo P, Ros G et al. Longitudinal Study of Cytokine Expression, Lipid Profile and Neuronal Growth Factors in Human Breast Milk from Term and Preterm Deliveries. *Nutrients*. 2015; 7(10):8577-91.
36. García-Ravelo S, Díaz-Gómez NM, Martín MV, Dorta-Guerra R, Murray M, Escuder D. Fatty Acid Composition and Eicosanoid Levels (LTE4 and PGE2) of Human Milk from Normal Weight and Overweight Mothers. *Breastfeed Med*. 2018; 13(10):702-710.
37. Raposo L, Ferreira C, Fernandes M, Pereira S, Moura P. Complicações da obesidade na gravidez. 2011; 25(3):115-22.
38. Fujimore M. Relação do sobrepeso e obesidade materna sobre parâmetros imunológicos, bioquímicos e hormonais do sangue e colostro humano. [Tese] São Paulo: Universidade de São Paulo; 2016.
39. Barbosa JN, Cabra Coelho P, Lira PI, Florêncio Toledo TM. Fatores socioeconômicos associados ao excesso de peso em população de baixa renda do Nordeste brasileiro ALAN. 2009; 59(1) 22-29. Disponível em:  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222009000100004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222009000100004)
40. Perini de Lima JÁ, Stevanato F, Sargi S, Visentainer JE, Dalalio M, Matshushita M. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. *Rev. Nutr*. 2010; 23 (6)
41. Brasil, Portaria n. 570 de 01 de junho de 2000. Institui o Componente I do Programa de Humanização do Pré-natal e Nascimento - Incentivo à Assistência



Pré-natal no âmbito do Sistema Único de Saúde, Brasília (DF) Diário Oficial da União; 2000.

42. Makäelä J, Linderborg K, Niinikoski H, Yang B, Lagström H. Breast milk fatty acid composition differs between overweight and normal weight women: The steps study. *Eur J Nutr.* 2013; 52(2):727-35.
43. Bulgareli JV, Faria ET, Cortellazzi KL, Guerra LM, Meneghim MC, Ambrosano GMB, et al. Fatores que influenciam o impacto da saúde bucal nas atividades diárias de adolescentes, adultos e idosos. *Rev Saude Publica.* 2018; 52:44.
44. Innis, S. M. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *J Pediatr.* 2003;143(4), 1–8.
45. Freitas Jr A, Almeida E, Antelucci RM, Gallo AK, Silva E. Envelhecimento do aparelho estomatognático: Alterações fisiológicas e anatômicas. *Rev. Odontol. Araçatuba.* 2008; 29(1): 47-52.
46. Freitas R, Macedo M, Lessa A, Ferraz Perpétua V, Soares N, Martins BE et al. Composição em ácidos graxos do leite maduro de nutrizes. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.* 2019; 19 (4): 827-836.
47. Tunes RS, Foss-Freitas, Barbosa MDS, Naves RC, Tunes UR. Doença periodontal e síndrome metabólica: uma associação plausível? 2011, p. 436-461.
48. Dayrit FM. The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil, dayrit. *J Am Oil Chem Soc.* 2015;92: 1–15.

## APÊNDICE A – TCLE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Projeto: Periodontite materna e nascimento de bebês prematuros e/ou com baixo peso: avaliação microbiológica da placenta e resposta imune celular no leite materno.**

As informações a seguir descrevem o estudo e os seus direitos como participante. Além do que for aqui esclarecido, o entrevistador poderá responder qualquer questão que você tenha referente ao estudo. Por favor, leia ou ouça com atenção e sempre que achar necessário interrompa para perguntar. Este termo é composto de duas vias de igual conteúdo, sendo a primeira para arquivamento pelo pesquisador e a segunda para o paciente ou seu representante legal.

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Periodontite materna e nascimento de bebês prematuros e/ou com baixo peso: avaliação microbiológica da placenta e resposta imune celular no leite materno.”, realizada pela Professora Doutora Roberta Santos Tunes e pela aluna Izadora Eloy Balinha.

**Objetivo da Pesquisa:** O objetivo desta pesquisa será avaliar as condições periodontais (gengiva e osso da boca) das gestantes e verificar se a presença de inflamação na gengiva pode favorecer a ocorrência de parto prematuro ou nascimento de bebês de baixo peso. Além disso, buscará também verificar se na presença de inflamação na gengiva e osso a qualidade o leite materno pode ser alterada.

**Justificativa:** A importância deste estudo se dá porque a inflamação na boca pode piorar diversas doenças no corpo, como diabetes, e até levar ao nascimento de bebês prematuros ou com peso inferior ao esperado. As bactérias na boca podem chegar na corrente sanguínea e ir se instalar dentro do útero, provocando uma inflamação que pode levar ao trabalho de parto antes dos 9 meses.

**Procedimentos:** Se você aceitar participar desta pesquisa, você será submetido a uma entrevista com perguntas sobre sua saúde, hábitos de vida e hábitos de higiene da boca. Para verificar se você já tem alguma inflamação vaginal que pode acelerar o trabalho de parto, também será coletado um pouco de secreção de dentro da vagina e após o nascimento do bebê, uma pequena porção de placenta será removida para exame. A placenta é o órgão que serve para passar todos os nutrientes para o bebê e protegê-lo de infecções e após o parto sempre é descartada. Quando a senhora já estiver recuperado parto, será realizado, também, exame na boca para verificar se tem inflamação na gengiva e osso e coletaremos um pouco de placa bacteriana de dentro da gengiva. No exame laboratorial, serão coletados 5 ml do seu sangue para avaliar se realmente existem bactérias da boca no sangue e para verificar como está o nível de açúcar, caso a senhora tenha diabetes gestacional. Posteriormente à pesquisa, você poderá receber tratamento no Centro de Especialidades Odontológicas (CEO) de Feira de Santana, caso tenha sido diagnosticada inflamação no osso. E se tiver inflamação na vagina, será contatada para tratamento médico no posto mais próximo da sua residência. Após 30 dias do parto, iremos entrar em contato com a senhora por telefone para saber se seu filho está sendo alimentado só com leite materno. Caso esteja, iremos agendar uma visita para coletar 3 ml do seu leite para avaliação laboratorial

**Desconfortos e Riscos:** O exame da boca, a coleta do sangue e da secreção da vagina podem gerar certo desconforto e constrangimento por parte da senhora. Porém, todos os cuidados para minimizar isto serão tomados. Além disso, todo material utilizado será esterilizado ou descartável, evitando qualquer risco de contaminação. O exame da gengiva pode provocar um pequeno sangramento, mas este cessa rapidamente

e sozinho. O leite materno quando for coletado será feito em local reservado e com material também estéril.

**Acompanhamento e Garantia de Esclarecimento:** Durante a realização da pesquisa, sempre haverá um pesquisador para resolver dúvidas eventuais e a qualquer momento vocês poderão entrar em contato com os pesquisadores: Dr<sup>a</sup> Roberta Santos Tunes (71) 91963858/ (71) 32455183 e Izadora Eloy Balinha (75) 91798657.

**Ressarcimento ou Formas de Indenização:** Participando desta pesquisa você **não** receberá nenhum tipo de benefício direto como dinheiro, mas estará contribuindo para a elaboração de uma pesquisa que poderá proporcionar benefícios futuros à sociedade. Nenhum custo adicional será cobrado a você, pois este será absorvido pelo orçamento da pesquisa.

**Garantia de Sigilo:** Os dados obtidos neste estudo, bem como fotografias que possam ser tiradas, serão apresentados em congressos e encontros da comunidade científica e poderão ser publicados em revistas especializadas. No entanto, **a sua identidade nunca será revelada**. E seu rosto nunca será mostrado totalmente nas fotografias (seus olhos serão cobertos por uma tarja preta).

**Liberdade para se recusar a participar da pesquisa:** A qualquer momento você poderá entrar em contato com os pesquisadores e pedir que os seus dados sejam retirados da mesma e desistir de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo em relação a garantia de atendimento no Centro de Especialidades Odontológicas (CEO) caso tenha sido diagnosticada com periodontite (inflamação o osso).

**SUA ASSINATURA INDICA QUE VOCÊ DECIDIU PARTICIPAR DA PESQUISA COMO VOLUNTÁRIO E QUE LEU E ENTENDEU TODAS AS INFORMAÇÕES ACIMA EXPLICADAS.**

\_\_\_\_\_  
Nome do voluntário ou representante legal

Documento: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do voluntário ou representante legal

Local para impressão digital

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

**ATENÇÃO: A SUA PARTICIPAÇÃO EM QUALQUER TIPO DE PESQUISA É VOLUNTÁRIA. EM CASO DE DÚVIDA QUANTO AOS SEUS DIREITOS ESCREVA PARA O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA EBMSP.**  
Endereço: Av. D. João VI, 274 – Brotas– Salvador - SP. Tel.:(71) 2101-1900

## APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

Identificação e Dados Sócio Demográficos	
Nome:	
Data de nascimento:	Estado civil:
Cor:	Renda familiar:
Escolaridade:	Profissão:
Dados físicos e antropométricos	
Peso no início da gestação:	Peso atual:
Estatura:	Frequência respiratória:
Frequência cardíaca:	Média de PA:
Índice de massa corporal (peso antes da gestação):	
Doenças sistêmicas anteriores a gestação:	
História da gestação	
Número de gestações:	Data do parto anterior:
Nº de filhos nascidos vivos:	Aborto espontâneo?
Data da última menstruação*:	
Método de concepção (espontâneo ou induzido):	
Quantos kilos ganhou na gestação:	Já teve algum parto prematuro:
Quantas consultas fez no pré-natal:	
Alguma infecção durante gestação?	Qual?
Usou antibióticos?	Quando?
Diabetes gestacional? *	Pré-eclâmpsia? *
Uso de drogas/tabaco?	Uso de álcool?
Foi feito o diagnóstico de alguma infecção durante a gestação (rubéola, toxoplasmose, citomegalovírus, HIV, HTLV, sífilis)?	
Dados do pós-parto	

# APÊNDICE C – FICHA DE AVALIAÇÃO PERIODONTAL

## Exame periodontal

### Controle de biofilme dentário (índice de placa corada)

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	V
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	P
																L
																V

Total de sítios: \_\_\_\_\_ (100%); sítios corados: \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_%) Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Sangramento gengival (sangramento à sondagem)

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	V
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	P
																L
																V

Total de sítios: \_\_\_\_\_ (100%); sítios c/ sangramento: \_\_\_\_\_ (\_\_\_\_%) Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Profundidade de sondagem (PS), recessão (R), lesão de furca (F), mobilidade (M)

18 17 16 15 14 13 12 11 21 22 23 24 25 26 27 28

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28	PS	V
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38	R	
																F/M	
																PS	P
																R	

																		F/M
																		PS
																		R
																		F/M
																		PS
																		R
																		F/M
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38			

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

# ANEXO A – DIRETRIZES PARA AUTORES

## INSTRUÇÕES GERAIS

1. O manuscrito deverá ser escrito em idioma português, de forma clara, concisa e objetiva.
2. O texto deverá ter composição eletrônica no programa Word for Windows (extensão doc.), usando-se fonte Arial, tamanho 12, folha tamanho A4, espaço 1,5 e margens laterais direita e esquerda de 3 cm e superior e inferior de 2 cm, perfazendo um máximo de 15 páginas, excluindo referências, tabelas e figuras.
3. O número de tabelas e figuras não deve exceder o total de seis (exemplo: duas tabelas e quatro figuras).
4. As unidades de medida devem seguir o Sistema Internacional de Medidas.
5. Todas as abreviaturas devem ser escritas por extenso na primeira citação.
6. Na primeira citação de marcas comerciais deve-se escrever o nome do fabricante e o local de fabricação entre parênteses (cidade, estado, país).

## ESTRUTURA DO MANUSCRITO

1. Página de rosto
  - 1.1 Título: escrito no idioma português e inglês.
  - 1.2 Autor(es): Nome completo, titulação, atividade principal (professor assistente, adjunto, titular; estudante de graduação, pós-graduação, especialização), afiliação (instituição de origem ou clínica particular, departamento, cidade, estado e país) e e-mail. O limite do número de autores é seis, exceto em casos de estudo multicêntrico ou similar.
  - 1.3 Autor para correspondência: nome, endereço postal e eletrônico (e-mail) e telefone.
  - 1.4 Conflito de interesses: Caso exista alguma relação entre os autores e qualquer entidade pública ou privada que possa gerar conflito de interesses, esta possibilidade deve ser informada.

Observação: A página de rosto será removida do arquivo enviado aos avaliadores.

2. Resumo estruturado e palavras-chave (nos idiomas português e inglês)
  - 2.1 Resumo: mínimo de 200 palavras e máximo de 250 palavras, em idioma português e inglês (Abstract).

O resumo deve ser estruturado nas seguintes divisões:

    - Artigo original: Objetivo, Metodologia, Resultados e Conclusão (No Abstract: Purpose, Methods, Results, Conclusions).
    - Relato de caso: Objetivo, Descrição do caso, Conclusão (No Abstract: Purpose, Case description, Conclusions).
    - Revisão de literatura: a forma estruturada do artigo original pode ser seguida, mas não é obrigatória.
  - 2.2 Palavras-chave (em inglês: Key words): máximo de seis palavras-chave, preferentemente da lista de Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) ou do Index Medicus.

### 3. Texto

3.1 Artigo original de pesquisa: deve apresentar as seguintes divisões: Introdução, Metodologia (ou Casuística), Resultados, Discussão e Conclusão.

- Introdução: deve ser objetiva e apresentar o problema, justificar o trabalho e fornecer dados da literatura pertinentes ao estudo. Ao final deve apresentar o(s) objetivo(s) e/ou hipótese(s) do trabalho.

- Metodologia (ou Casuística): deve descrever em seqüência lógica a população/amostra ou espécimes, as variáveis e os procedimentos do estudo com detalhamento suficiente para sua replicação. Métodos já publicados e consagrados na literatura devem ser brevemente descritos e a referência original deve ser citada. Caso o estudo tenha análise estatística, esta deve ser descrita ao final da seção.

Todo trabalho de pesquisa que envolva estudo com seres humanos deverá citar no início desta seção que o protocolo de pesquisa foi aprovado pela comissão de ética da instituição de acordo com os requisitos nacionais e internacionais, como a Declaração de Helsinki.

O número de registro do projeto de pesquisa na Plataforma Brasil/Ministério da Saúde ou o documento de aprovação de Comissão de Ética equivalente internacionalmente deve ser enviado (CAAE) como arquivo suplementar na submissão on-line (obrigatório). Trabalhos com animais devem ter sido conduzidos de acordo com recomendações éticas para experimentação em animais com aprovação de uma comissão de pesquisa apropriada e o documento pertinente deve ser enviado como arquivo suplementar.

- Resultados: devem ser escritos no texto de forma direta, sem interpretação subjetiva. Os resultados apresentados em tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto.

- Discussão: deve apresentar a interpretação dos resultados e o contraste com a literatura, o relato de inconsistências e limitações e sugestões para futuros estudos, bem como a aplicação prática e/ou relevância dos resultados. As inferências, deduções e conclusões devem ser limitadas aos achados do estudo (generalização conservadora).

- Conclusões: devem ser apoiadas pelos objetivos e resultados.

3.2 Relatos de caso: Devem ser divididos em: Introdução, Descrição do(s) Caso(s) e Discussão.

4. Agradecimentos: Devem ser breves e objetivos, a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. O apoio financeiro de organização de apoio de fomento e o número do processo devem ser mencionados nesta seção. Pode ser mencionada a apresentação do trabalho em eventos científicos.

5. Referências: Deverão respeitar as normas do International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver Group), disponível no seguinte endereço eletrônico: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).



a. As referências devem ser numeradas por ordem de aparecimento no texto e citadas entre parênteses: (1), (3,5,8), (10-15).

b. Em citações diretas no texto, para artigos com dois autores citam-se os dois nomes. Ex: "De acordo com Santos e Silva (1)...". Para artigos com três ou mais autores, cita-se o primeiro autor seguido de "et al.". Ex: "Silva et al. (2) observaram...".

c. Citar, no máximo, 25 referências para artigos de pesquisa, 15 para relato de caso e 50 para revisão de literatura.

d. A lista de referências deve ser escrita em espaço 1,5, em sequência numérica. A referência deverá ser completa, incluindo o nome de todos os autores (até seis), seguido de "et al."

e. As abreviaturas dos títulos dos periódicos internacionais citados deverão estar de acordo com o Index Medicus/ MEDLINE e para os títulos nacionais com LILACS e BBO.

f. O estilo e pontuação das referências devem seguir o formato indicado abaixo

#### Artigos em periódicos:

Wenzel A, Fejerskov O. Validity of diagnosis of questionable caries lesions in occlusal surfaces of extracted third molars. *Caries Res* 1992;26:188-93.

#### Artigo em periódicos em meio eletrônico:

Baljoon M, Natto S, Bergstrom J. Long-term effect of smoking on vertical periodontal bone loss. *J Clin Periodontol* [serial on the Internet]. 2005 Jul [cited 2006 June 12];32:789-97. Available from: <http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1600-051X.2005.00765.x>

#### Livro:

Paiva JG, Antoniazzi JH. *Endodontia: bases para a prática clínica*. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas; 1988.

#### Capítulo de Livro:

Basbaum AI, Jessel TM, The perception of pain. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of neural science*. New York: McGraw Hill; 2000. p. 472-91.

#### Dissertações e Teses:

Polido WD. *A avaliação das alterações ósseas ao redor de implantes dentários durante o período de osseointegração através da radiografia digital direta [tese]*. Porto Alegre (RS): Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 1997.

#### Documento eletrônico:

Ueki N, Higashino K, Ortiz-Hidalgo CM. *Histopathology* [monograph online]. Houston: Addison Books; 1998. [Acesso em 2001 jan. 27]. Disponível em <http://www.list.com/dentistry>.

Observações: A exatidão das citações e referências é de responsabilidade dos autores. Não incluir resumos (abstracts), comunicações pessoais e materiais bibliográficos sem data de publicação na lista de referências.

6. Tabelas: As tabelas devem ser construídas com o menu "Tabela" do programa Word for Windows, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na ordem de citação no texto (exemplo: Tabela 1, Tabela 2, etc) e inseridas em folhas separadas após a lista de referências. O título deve explicativo e conciso, digitado em espaço 1,5 na parte superior da tabela. Todas as explicações devem ser apresentadas em notas de rodapé, identificadas pelos seguintes símbolos, nesta seqüência: \*,†, ‡, §, ||,,\*\*,††,‡‡. Não sublinhar ou desenhar linhas dentro das tabelas, nem usar espaços para separar colunas. O desvio-padrão deve ser expresso entre parênteses.

7. Figuras: As ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, quadros, etc) serão consideradas como figuras. Devem ser limitadas ao mínimo indispensáveis e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem em que são citadas no texto (exemplo: Figura 1, Figura 2, etc). As figuras deverão ser inseridas ao final do manuscrito, após a lista das legendas correspondentes digitadas em uma página única. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas, inclusive as abreviaturas existentes na figura.

a. As fotografias e imagens digitalizadas deverão ser coloridas, em formato tif, gif ou jpg, com resolução mínima de 300dpi e 8 cm de largura.

b. Letras e marcas de identificação devem ser claras e definidas. Áreas críticas de radiografias e microfotografias devem estar isoladas e/ou demarcadas. Microfotografias devem apresentar escalas internas e setas que contrastem com o fundo.

c. Partes separadas de uma mesma figura devem ser legendadas com A, B, C, etc. Figuras simples e grupos de figuras não devem exceder, respectivamente, 8 cm e 16 cm de largura.

d. As fotografias clínicas não devem permitir a identificação do paciente. Caso exista a possibilidade de identificação, é obrigatório o envio de documento escrito fornecendo consentimento livre e esclarecido para a publicação.

e. Figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar esta condição na legenda, e devem ser acompanhadas por uma carta de permissão do detentor dos direitos.

OS CASOS OMISSOS OU ESPECIAIS SERÃO RESOLVIDOS PELO CORPO EDITORIAL

## **ANEXO B – ARTIGOS REFERENCIADOS**

Os artigos referenciados neste estudo foram encaminhados por e-mail à banca examinadora e coordenação do componente.

## ANEXO C – APROVAÇÃO DO CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Influência da periodontite materna na composição nutricional e imunológica do leite humano

**Pesquisador:** Roberta Santos Tunes

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 32371620.3.0000.5544

**Instituição Proponente:** Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.353.758

#### Apresentação do Projeto:

A doença periodontal é uma patologia de origem infecciosa e inflamatória, causada pelo acúmulo de microorganismos sobre a superfície dentária supra ou subgingivalmente. A doença se instala quando ocorre um desequilíbrio entre as defesas do organismo e a agressão microbiana. As principais bactérias envolvidas neste processo são as localizadas subgingivalmente, ditas periodontopatogênicas, por serem capazes de desencadear uma resposta inflamatória intensa na região dos tecidos periodontais pela liberação de vários produtos tóxicos, que irão atrair infiltrado de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, promovendo a liberação de inúmeras citocinas inflamatórias. A literatura já demonstrou que indivíduos portadores de periodontite apresentam níveis plasmáticos de mediadores inflamatórios elevados, além das próprias bactérias e seus subprodutos, serem capazes de atingir a corrente sanguínea, de modo a configurar a plausibilidade biológica para a associação da presença de inflamação no periodonto com diversas condições sistêmicas, a exemplo do parto prematuro e nascimento de bebês de baixo peso. Além das alterações durante a gestação e na sua conclusão, após o nascimento do bebê, pode-se pensar na possibilidade da interferência dos mediadores inflamatórios também no leite materno, influenciando a qualidade do alimento ofertado a estes bebês, podendo prejudicar o seu desenvolvimento. A qualidade deste leite materno pode ser avaliada por seu aspecto nutricional e imunológico. O aleitamento materno constitui um importante suporte imunológico que a mãe pode fornecer para seu filho, ainda imuno-incompetente, contra infecções durante os primeiros

**Endereço:** AVENIDA DOM JOÃO VI, 274  
**Bairro:** BROTAS **CEP:** 40.285-001  
**UF:** BA **Município:** SALVADOR  
**Telefone:** (71)2103-1921 **E-mail:** cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 4.353.758

meses de vida, aumentando a imunidade contra infecções, e, provavelmente, também contribuem para a maturação e a eficiência do sistema imune neonatal. Muitos estudos têm mostrado que crianças amamentada são menos vulneráveis a infecções. No entanto, os mecanismos envolvidos na imunidade fornecido pelo leite humano para o lactente não estão totalmente compreendidos. Algumas publicações têm indicado que as infecções urinárias e mastite podem alterar a qualidade do leite materno. Desta forma, parece plausível sugerir que a periodontite, presente em algumas mulheres durante a lactação, possa também ser capaz de alterar fatores nutricionais e imunológicos do leite materno que será fornecido aos recém-nascidos.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Testar a hipótese de que a presença de periodontite materna possa alterar a qualidade do leite materno ofertado aos bebês.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar a influência da periodontite materna na composição nutricional do leite humano, através da avaliação dos ácidos graxos por cromatografia gasosa.
2. Avaliar a influência da periodontite materna na composição imunológica do leite humano, através da avaliação de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e imunoglobulinas, por sistema de citometria de fluxo com multiplexação de "beads".

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo a pesquisadora

-Riscos:

Esta pesquisa não realizará nenhum tipo de intervenção terapêutica, clínica ou cirúrgica, nas parturientes nem nos recém-natos. Não será realizado nenhum tipo de tratamento, apenas serão feitos exames clínicos periodontais, coleta de amostra do leite materno, além de um questionário que será conduzido à participante, após prévio esclarecimento e assinatura do termo de consentimento. Por ser necessário o exame clínico odontológico, as parturientes têm o risco de

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 214  
Bairro: BROTAS CEP: 40.285-001  
UF: BA Município: SALVADOR E-mail: cep@bahiana.edu.br  
Telefone: (71)2105-1921



contaminação cruzada durante avaliação. Porém todos os cuidados com a biossegurança, como utilização de EPIs para

o profissional e instrumentos estéreis, evitando a exposição das participantes a este risco. O exame clínico periodontal pode causar certo desconforto e pequeno sangramento, porém este cessa espontaneamente poucos segundos após a sondagem. A coleta do leite será realizada pela própria pesquisadora e também pode gerar certo desconforto ou constrangimento, porém será realizada em área reservada, com uso de luvas, bomba eletrônica e coletores estéreis. Todas as coletas de dados (questionário, leite e exame periodontal), serão realizadas prioritariamente na ocasião que as participantes trouxerem seus filhos para consulta no ambulatório de puericultura da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, minimizando possível mobilização da mesma para participar da pesquisa. Caso seja necessário algum deslocamento adicional da participante, os custos serão ressarcidos pelos pesquisadores.

**-Benefícios:**

Em relação aos benefícios, todas as participantes serão esclarecidas sobre sua condição da saúde oral e em casos de diagnóstico de doença periodontal, todas serão encaminhadas para o centro odontológico da Escola Bahiana de Medicina para triagem, atendimento e tratamento periodontal na instituição, seguindo o fluxo de atendimento da mesma. Além disso, verifica-se o benefício coletivo de colaborar com a ciência para a implementação de melhor assistência odontológica no programa de pré-natal.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

**Avaliação Periodontal**-O exame periodontal será realizado por um cirurgião-dentista, previamente calibrado, sob condições de iluminação e assepsia adequadas, estando as pacientes em posição sentada. Este será realizado com sonda manual milimetrada e

espelho bucal, em seis sítios por dente, para registro dos seguintes parâmetros clínicos: ausência ou presença do biofilme; sangramento à sondagem; profundidade de sondagem - distância da margem gengival à base do fundo de sulco ou bolsa; e posição da margem gengival -localização da margem gengival livre em relação à posição da junção cimento-esmalte. O NIC (nível de inserção clínica) será determinado através

da soma da profundidade de sondagem e a localização da margem gengival livre em relação à posição da junção cimento-esmalte. Após a avaliação dos dados periodontais, as pacientes serão classificadas com ou sem periodontite crônica, conforme os critérios de Gomes & Filho (2007):

**Endereço:** AVENIDA DOM JOÃO VI, 274  
**Bairro:** BROTAS **CEP:** 40.265-001  
**UF:** BA **Município:** SALVADOR  
**Telefone:** (71)2103-1921 **E-mail:** csp@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 4.353.758

periodontite: presença de pelo menos quatro dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm e NIC maior ou igual a 3mm no mesmo sítio, além da presença de sangramento a sondagem. As parturientes que não se encaixarem nos critérios descritos acima serão consideradas como sem periodontite.

Coleta das amostras de leite-- As amostras de leite serão coletadas das mães que declararem amamentação exclusiva, independentemente do grupo as quais pertençam, no período de 30 a 180 dias após parto. Serão coletadas amostras de 10ml de leite, provenientes de uma única mama, previamente higienizada com clorexidina 0,5% e sem sinais de infecção local, com o auxílio de uma bomba eletrônica. As amostras serão transportadas a -4°C por no máximo 2 horas até o laboratório, onde serão centrifugadas duas vezes, subsequentes, a 10.000 RPM por 10-20 minutos para obtenção da parte gordurosa e do soro do leite. Após essa etapa de centrifugação, o remanescente será armazenado a -80°C para avaliação dos ácidos graxos, por cromatografia gasosa, e de citocinas (IL- 2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF, IFN- $\gamma$ ), quimiocinas e fatores de crescimento, além da imunoglobulina (IgA), por sistema de citometria de fluxo com multiplexação de "beads", à serem realizados no Núcleo de Pesquisa e Inovação (NUPI) da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP).

Período de retenção de amostras-- As fichas obtidas através do questionário e exame periodontal das pacientes serão armazenadas no domicílio dos pesquisadores durante todo decorrer da pesquisa e serão incineradas após um prazo máximo de cinco anos após a coleta. As amostras de leite materno serão armazenadas a -80°C durante a pesquisa, que tem estimativa de duração de dois anos, podendo permanecer em armazenamento por até cinco anos. O freezer utilizado para este armazenamento se localiza na EBMSP e encontra-se sob a responsabilidade do NUPI, que concedeu a autorização para o uso. O descarte do material (leite materno), que é biológico e líquido, será realizado através do sistema de descarte de resíduos biológicos da EBMSP.

O recrutamento das pacientes será realizado na sala de espera do ambulatório de puericultura do centro médico da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, através de abordagem direta às pacientes, e a aplicação do questionário, exame periodontal e coleta do leite materno serão realizados de forma reservada, no mesmo ambulatório, em um dos consultórios médicos que estiverem disponíveis para o uso na ocasião. A amostra será dividida em: grupo 1, mães de criança com peso superior a 2500g e/ou 37 ou mais

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274

Bairro: BROTAS

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)2101-1921

CEP: 40.295-001

E-mail: [ncpi@bahiana.edu.br](mailto:ncpi@bahiana.edu.br)



Continuação do Parecer: 4.280.758

semanas de gestação com diagnóstico de periodontite; e grupo 2, mães de criança com peso superior a 2500g e/ou 37 ou mais semanas de gestação sem diagnóstico de periodontite.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

- Folha de rosto devidamente preenchida e assinada;
- Carta de anuência da Saúde Bahiana- apresentada, devidamente assinada e carimbada;
- Cronograma apresentado, porém necessita de ajustes
- Orçamento: apresentado no valor de R\$60.489,19, financiamento próprio;
- TCLE adequado.

**Recomendações:**

Recomendações incluir no cronograma períodos para envio de relatórios parciais ao CEP-Bahiana

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Após reanálise bioética embasada na Res. 466/12 e documentos afins, as pendências assinaladas no Parecer Consubstanciado de nº 4.280.630 relativas a foram devidamente sanadas garantindo a execução deste projeto dentro da metodologia e objetivos propostos.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o CEP-Bahiana, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação deste protocolo de pesquisa dentro dos objetivos e metodologia proposta.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO_1555853.pdf	16/10/2020 00:05:57		Aceito
Parecer Anterior	RESPOSTA_AD_PARECER_4280630.pdf	16/10/2020 00:04:42	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_Influencia_da_periodontite_materna_na_composicao_nutricional_e_imunologica_do leite_humano_PARA_CEP_2020_Brochura.pdf	16/10/2020 00:04:06	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LVR E E_ESCLARECIDO_CEP2020.pdf	21/07/2020 11:20:09	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274

Bairro: BROTAS

CEP: 40.285-001

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)2101-1921

E-mail: cep@bahiana.edu.br





ESCOLA BAHIANA DE  
MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA -  
FBDC



Contribuição do Parecer: 4.353.758

Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_de_Anuencia_NUPI.pdf	21/07/2020 11:04:26	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_influencia_da_periodo_lactante_materna_na_composicao_nutricional_e_imunologica_do leite_humano.pdf	25/05/2020 16:15:42	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_anuencia_Centro_Medico_E_BMSP.pdf	25/05/2020 16:14:16	Daniela Costa Moraes Matos	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SALVADOR, 21 de Outubro de 2020

---

Assinado por:  
**Roseny Ferreira**  
(Coordenador(a))

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 274

Bairro: BROTAS

UF: BA

Município: SALVADOR

CEP: 40.285-001

Telefone: (71)2105-1821

E-mail: cep@bahiana.edu.br