

**FATORES GESTACIONAIS E PERINATAIS E DEFEITOS DE
DESENVOLVIMENTO DE ESMALTE NO BEBÊ**

SÃO LUÍS, MA
FEVEREIRO – 2018

ELISA MIRANDA COSTA

**FATORES GESTACIONAIS E PERIANATAIS E DEFEITOS DE
DESENVOLVIMENTO DE ESMALTE NO BEBÊ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde Coletiva.

Orientadora: Profa. Dra. Erika Barbara Abreu Fonseca Thomaz

SÃO LUÍS, MA
FEVEREIRO – 2018

COSTA, Elisa Miranda.

Fatores gestacionais e perinatais e defeitos de desenvolvimento de esmalte no bebê. / Costa, E. M. – UFMA, São Luís, 2018. 122f.

Orientadora: Profa. Dra. Erika Bárbara Abreu Fonseca Thomaz.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Maranhão, 2018.

1. Hipoplasia do Esmalte Dentário. 2. Infecções do Sistema Genital. 3. Nascimento Prematuro. 4. Quimiocina CCL5. 5. Recém-Nascido Prematuro. I. Abreu Fonseca Thomaz, Erika Bárbara. II. Título.

CDU:

**FATORES GESTACIONAIS E PERINATAIS E DEFEITOS DE
DESENVOLVIMENTO DE ESMALTE NO BEBÊ**

ELISA MIRANDA COSTA

Dissertação aprovada em _____ de _____ de _____ pela banca
examinadora constituída dos seguintes membros:

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Erika Bárbara Abreu Fonseca Thomaz
Orientadora
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dra. Fabiana Vargas Ferreira
Examinador
Universidade Federal de Minas Gerais

Profa. Dra. Judith Rafaelle Oliveira Pinho
Examinador
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Meire Coelho Ferreira
Suplente
Universidade CEUMA

Àqueles que amo incondicionalmente, minha mãe,
Maria Erlinda; minha Hortência; minha avó,
Onorina; demais parentes e amigos.

AGRADECIMENTOS

- A Deus pelo dom da vida e fortaleza serena.
- À minha mãe, por todo apoio incondicional, incentivo, cuidado e amor que me proporcionou, além de ser a grande inspiração como ser humano que eu tenho vida.
- À minha irmã pelo apoio, conselhos, cumplicidade, por me ensinar a ter foco e determinação, mesmo diante das dificuldades, além de ser a melhor e maior amiga que tenho na vida.
- A minha querida orientadora, Dra. Erika Thomaz, pela paciência, incentivo, acolhimento, aprendizado, por ser um grande exemplo, não só como professora, mas também como ser humano, pelo qual tenho grande admiração.
- Aos meus familiares, avó, avô (*in Memoriam*), padrinhos, tios e primos pela força e torcida.
- À minha dupla de faculdade Carol, pela grande amizade que pretendo levar por toda a vida, pelo apoio e por ter tornado momentos difíceis e estressantes mais suaves e até divertidos.
- À minha amiga Laís, que apesar da distância física é uma amiga sensacional e por partilhar comigo as alegrias e as angústias da vida acadêmica, me proporcionando momentos de reflexão.
- Aos meus amigos que fui ganhando ao longo da vida (Amanda, Bruna, Cris, Jéssica e Davi), que são os melhores, compreendem as minhas ausências e estão sempre me apoiando nos momentos difíceis. Vocês são simplesmente sensacionais comigo.
- A Aninha e Rafiza por fazerem parte da minha jornada acadêmica, desde a iniciação científica e por sempre me ajudarem sem esperar nada em troca. Sou muito grata a vocês;
- A todos os professores do curso de Pós-Graduação que fizeram parte diretamente desta minha trajetória acadêmica, pelos ensinamentos valiosos, especialmente Cecília, Cláudia, Rejane e Aline.
- À minha turma 2016/2018, pelo convívio e aprendizagem. Um agradecimento todo especial à Laura, Ana Patrícia, Joana, Maylla, Sara e Glauciane, pela importante parceria, pelas conversas, risadas e companheirismo ao partilhar momentos bons e difíceis.
- À UFMA, FAPEMA e CNPq por ter financiado e viabilizado esta pesquisa.

- Ao projeto Brisa, às gestantes que fizeram parte desta pesquisa.
- A todos aqueles que de algum modo participaram e/ou contribuíram para a concretização desse sonho.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Caracterização da população do estudo.....	32
Tabela 2	Carga fatorial e p-valor para verificação da validade do construto e estrutura fatorial do modelo, estimativas padronizadas.....	33
Tabela 3	Estimativas padronizadas de efeitos total, direto e indireto do modelo de predição da RANTES na gravidez sobre a incidência de Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte intrauterino em bebês (DDE-iu).....	33

ARTIGO 2

Tabela 1	Caracterização da amostra de gestantes e crianças – São Luís, Maranhão.....	43
Tabela 2	Análise de Efeito Causal: defeitos do desenvolvimento do Esmalte Infecções Bacterianas.....	44

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 1	Fluxograma da coorte pré-natal BRISA, São Luís – MA, 2010 a 2013.....	36
Figura 2	Modelo teórico considerando RANTES como preditora da cárie do DDE em crianças de 15 a 36 meses de idade.....	37-8

ARTIGO 2

Figura 1	Modelo teórico dos fatores gestacionais e perinatais.....	49
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEP	Associação Brasileira de Estudos Populacionais
BPN	Baixo Peso ao Nascer
BRISA	Coorte de Nascimento Brasileira Ribeirão Preto e São Luís
CAN	Condições Adversas ao Nascimento
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEPEC	Centro de Pesquisas Clínicas
CFI	<i>Comparative Fit Index</i>
CFP	Cargas Fatoriais Padronizadas
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DDE	Desordem de Desenvolvimento do Esmalte
FAP	Fator de Ativação Plaquetária
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FAPEMA	Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão
GACs	Glicosaminoglicanos
HUUMI	Hospital Universitário Unidade Materno Infantil
IC	Intervalo de Confiança
ICDAS	<i>International Caries Detection and Assessment System</i>
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
INF- γ	<i>Interferon- γ</i>
IPV	Índice de Placa Visível
ITU	Infecção do Trato Urinário
ITGU	Infecção do Trato Genito-Urinário
LNN	Linha Neonatal
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MEE	Modelagem com Equações Estruturais
NK	<i>Natural Killers</i>
NPT	Nascimento Pré-termo
OMS	Organização Mundial da Saúde

PRONEX	Programa de Apoio a Núcleos de Excelência
RANTES	<i>Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted</i>
RCIU	Restrição de Crescimento Intrauterino
RMSEA	<i>Root Mean Square Error of Aproximation</i>
RN	Recém-nascido
RNA _m	RNA mensageiro
SEM	<i>Structural Equations Modeling</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Th	<i>T-hleper</i>
TLI	<i>Tucker-Lewis Index</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis fator-α</i>
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
VB	Vaginose Bacteriana
WRMR	<i>Weighted Root Mean Square Residual</i>

COSTA, Elisa Miranda. **Fatores gestacionais e perinatais e defeitos de desenvolvimento de esmalte no bebê**, 2018. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 122f.

RESUMO

Os defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE) constituem anomalias estruturais do esmalte, que ocorrem durante o processo de amelogênese nos períodos pré-natal, natal e pós-natal. Ainda persistem lacunas quanto à etiologia dos DDE, porém condições adversas ao nascimento (CAN), como o baixo peso ao nascer (BPN), nascimento pré-termo (NPT) e/ou restrição de crescimento intrauterino (RCIU) têm sido apontadas como possíveis fatores de risco para esse desfecho. Alterações na homeostase do cálcio, mineral importante para formação dos dentes, diante de CAN podem fundamentar essa associação. No entanto, o desequilíbrio imunológico materno, infecções bacterianas e morbidades, como a hipertensão durante a gravidez ainda não foram estudadas como potenciais preditoras da ocorrência de DDE. Um dos principais componentes imunológicos maternos responsáveis pela embriogênese – a quimiocina RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) – ainda não foi investigado em relação ao seu papel na amelogênese. Assim, este trabalho testou a hipótese de que fatores perinatais estariam associados à ocorrência de DDE no bebê. Para isso, foram realizados dois estudos de coorte prospectiva em uma amostra de 327 gestantes e seus bebês, com dados extraídos da coorte de pré-natal – BRISA. No primeiro estudo, cujo objetivo principal foi analisar o papel da quimiocina RANTES no DDE, foi realizada análise com equações estruturais, considerando o efeito direto da RANTES em gestantes na ocorrência de DDE na criança; e o efeito indireto, mediado pelo NPT. Foi ainda avaliado o efeito da variável latente situação socioeconômica sobre o DDE na criança. Os resultados não apontaram efeito dos fatores socioeconômicos e do NPT sobre o DDE na criança, mas demonstraram que os níveis séricos da RANTES exercem efeito direto e negativo sobre a ocorrência de DDE (CFP= -0,160; P=0,021), sugerindo que o componente imunológico materno interfere no processo de amelogênese. No segundo estudo, investigou-se a associação entre infecções bacterianas maternas e a ocorrência de DDE no bebê, por meio de análise de inferência causal com escore de propensão, em amostra dessa mesma coorte. Não foi identificadas associações entre esses eventos. Conclui-se que o período gestacional precisa ser monitorado quanto aos efeitos na saúde dos dentes do bebê.

Palavras-chave: Recém-Nascido Prematuro. Nascimento Prematuro. Quimiocina CCL5. Hipoplasia do Esmalte Dentário. Infecção. Infecções do Sistema Genital.

COSTA, Elisa Miranda. **Fatores gestacionais e perinatais e defeitos de desenvolvimento de esmalte no bebê**, 2018. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 122f.

ABSTRACT

Enamel development defects (DDE) constitute structural enamel anomalies, which occur during the process of amelogenesis in the prenatal, natal, and postnatal periods. There are still gaps regarding the etiology of DDE, but adverse conditions at birth (ACB) such as low birth weight (LBW), preterm birth (NPT) and / or intrauterine growth restriction (IUGR) have been identified as possible risk factors for this outcome. Alterations in calcium homeostasis, an important mineral for tooth formation, in the face of ACB can support this association. However, maternal immune imbalance, bacterial infections and morbidities such as hypertension during pregnancy have not yet been studied as potential predictors of the occurrence of DDE. One of the major maternal immune components responsible for embryogenesis - chemokine (RANTES) (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) - has not yet been investigated for its role in amelogenesis. Thus, this paper tested the hypothesis that perinatal factors would be associated with the occurrence of DDE in the baby. For this, two prospective cohort studies were performed on a sample of 327 pregnant women and their infants, with data extracted from the prenatal cohort - BRISA. In the first study, whose main objective was to analyze the role of chemokine RANTES in DDE, a structural equation analysis was performed, considering the direct effect of RANTES in pregnant women on the occurrence of DDE in the child; and the indirect effect, mediated by TPN. The effect of the latent socioeconomic situation on DDE in the child was also evaluated. The results did not indicate the effect of socioeconomic factors and TPN on the DDE in the child, but demonstrated that the serum levels of RANTES have a direct and negative effect on the occurrence of DDE (CFP = -0.160; P = 0.021), suggesting that the component maternal immune system is involved in the process of amelogenesis. In the second study, we investigated the association between maternal bacterial infections and the occurrence of DDE in the baby, through analysis of causal inference with propensity score, in a sample of this same cohort. No associations were identified between these events. It is concluded that the gestational period needs to be monitored regarding the health effects of the baby's teeth.

Keywords: Premature Newborn. Premature Birth. Chemokine CCL5. Enamel Hypoplasia. Infection. Genital System Infections.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos.....	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1	Amelogênese e DDE.....	16
3.2	Fatores etiológicos do DDE.....	19
3.2.1	Citocinas durante a gravidez.....	19
3.2.2	Infeções Bacterianas.....	21
3.2.3	Condições gestacionais adversas ao nascimento (NPT).....	22
3.2.4	Outros fatores.....	24
4	ASPECTOS METODOLÓGICOS.....	27
4.1	Delineamento do Estudo.....	27
4.1.1	População e amostra em estudo.....	27
4.1.2	Crítérios de inclusão, não inclusão e exclusão	27
4.2	Instrumentos e técnicas de coleta de dados e variáveis do estudo.....	28
4.3	Modelos Teóricos.....	30
4.4	Análise Estatística.....	31
4.5	Considerações Éticas.....	32
5	RESULTADOS.....	34
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.	68
	ANEXO B – QUESTIONÁRIO DO PRÉ-NATAL – ENTREVISTA.....	72
	ANEXO C – QUESTIONÁRIO DO NASCIMENTO – RN.....	96
	ANEXO D – EXAME ODONTOLÓGICO.....	100
	ANEXO E - NORMAS DA REVISTA “EUROPEAN JOURNAL OF ORAL SCIENCES”	103
	ANEXO F - NORMAS DA REVISTA “CLINICAL ORAL INVESTIGATIONS”.....	104

1 INTRODUÇÃO

Os Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte (DDE) são uma anomalia da estrutura do esmalte dentário resultando em um esmalte defeituoso, afetando não só a arquitetura celular da matriz orgânica, como o processo de mineralização e maturação durante a amelogênese. Os DDE caracterizam-se pela presença de fóssulas ou sulcos na superfície dentária e também alterações de coloração (KOBAYASHI et al., 2017). Clinicamente, os DDE podem ser classificados em três tipos: opacidade demarcada, a opacidade difusa e hipoplasia. Opacidade é um defeito qualitativo envolvendo alteração na translucidez do esmalte, enquanto a hipoplasia é um defeito quantitativo associado com uma redução da espessura do esmalte (FDI, 1992).

O processo de formação do esmalte dos dentes decíduos ocorre entre a vida intra-uterina a partir (sexta semana) e o primeiro ano de vida pós-natal (COBOURNE, SHARPE, 2003; CAMPOS, CRUZ, MELLO, 2004; SEPPALA et al., 2006; RYTHÉN et al., 2010; THESLEFF, 2014). Portanto, os DDE podem ser considerados biomarcadores de estresse que ocorridos nos períodos pré, neo e pós-natais, conforme a Hipótese de Barker, na qual se estipula que os eventos ocorridos em período passado têm consequências em épocas posteriores.

Pela ótica de David Barker, os DDE representam condições ambientais adversas que repercutem nos dentes. A etiologia dos DDE ainda não está completamente elucidada, porém tem sido associada, dentre outros fatores, ao nascimento pré-termo (NPT) (JACOBSEN et al., 2014). Esta relação, entretanto, não é consenso na literatura (PITIPHAT et al., 2014; WONG et al., 2014).

A hipótese central para a associação entre NPT e DDE fundamenta-se na alteração da homeostase do cálcio, mineral importante para formação dos dentes, desde o momento da concepção até o período pós-natal (NELSON et al., 2013; ZAIDI et al., 2015). Estudos anteriores demonstraram que a ingestão materna de substâncias químicas, tais como fluoretos e tetraciclina são associados a uma maior prevalência de DDE (LUNARDELLI, PERES, 2005; NEEDLEMAN et al., 1991).

Há ainda indícios de que alterações metabólicas e nutricionais, tanto no período pré-natal, quanto pós-natal, estão associadas ao maior risco de DDE em modelos animais (VOGEL et al., 2012; YADAV et al., 2012) e em humanos (LV, GAO, 2009; SABANDAL et al., 2015). Outros autores, porém, não identificaram associações com deficiências nutricionais (PINHASI et al., 2006).

O histórico de doenças infecciosas e congênitas em crianças foi sugerido como um fator predisponente para o DDE nas dentições decídua e permanente. Mas as investigações ainda não são conclusivas (CHAVES, ROSENBLATT, OLIVEIRA, 2007; ARROW, 2009; FORD et al., 2009; BHATIA et al., 2012).

Também ainda não se sabe se as infecções no trato urogenital – vaginose bacteriana (VB) e infecção do trato urinário (ITU) – e outras infecções durante a gravidez interferem no processo de formação do esmalte do bebê. Porém, há evidências de associação entre essas infecções e o NPT (BRABANT, 2016; BRETELLE, 2016; LEE, 2015; SCHNEEBERGER, 2012; WITKIN, 2015). O NPT, por sua vez, é considerado um potencial fator de risco para a ocorrência de DDE (CORRÊA-FARIA et al., 2013; PINHO et al., 2012; VELLÓ et al., 2010). É possível, portanto, que as infecções bacterianas maternas aumentem as chances de NPT e levem à maior ocorrência de DDE na dentição decídua.

Outra questão ainda não estudada é se a resposta imunológica materna durante a gestação estaria relacionada à ocorrência de DDE. O sistema imunológico apresenta dois tipos de resposta: a inata e a adaptativa (AAGAARD-TILLERY, SILVER, DALTON, 2006). A resposta inata é responsável por uma reação não específica aos antígenos, enquanto a resposta adaptativa é extremamente específica aos antígenos (AAGAARD-TILLERY, SILVER, DALTON, 2006). Neste contexto, a modulação de quimiocinas e seus receptores controlam seletivamente o recrutamento de populações diferentes leucócitos, portanto exercem um papel relevante no equilíbrio imunológico (SYKES et al., 2011, 2012).

Portanto, as quimiocinas sistêmicas exercem papel na tolerância imunológica durante a gravidez. A associação entre RANTES e complicações da gravidez, como o NPT, foi evidenciada em modelos humanos (KRÓLAK-OLEJNIK, OLEJNIK, 2012; MARITATI, COMAR, ZANOTTA et al., 2017; NG et al., 2006) animais (TINSLEY et al., 2009). Os níveis elevados de RANTES correlacionaram-se com uma resposta Th1 (T-helper 1) exacerbada e o aumento do NPT (ATHAYDE et al., 1999). Porém a diminuição da RANTES já esteve associada a abortos espontâneos recorrentes e menor concentração no cordão umbilical foi considerado um fator associado ao NPT (KRÓLAK-OLEJNIK, OLEJNIK, 2012).

A presença de DDE na dentição decídua tem sido identificado como um fator de risco para o desenvolvimento da cárie dentária e a este evento têm sido atribuídas alterações estéticas, de sensibilidade dentária e de impacto na qualidade de vida. Portanto, é salutar conhecer a prevalência, frequência, distribuição e identificar de possíveis fatores de risco deste

agravo, para que se possam estabelecer iniciativas e a diminuição dos prejuízos advindos destes defeitos.

O presente estudo testou as seguintes hipóteses: 1) Alterações nos níveis séricos de RANTES em gestantes têm efeito direto e indireto (mediado pela ocorrência de NPT) na presença de DDE na dentição decídua dos bebês; e 2) Infecções bacterianas maternas durante a gestação podem causar DDE de origem intrauterina. Dessa forma, busca-se analisar fatores gestacionais e perinatais que possam interferir no processo de secreção e maturação do esmalte dos dentes do bebê, a exemplo dos fatores socioeconômicos, NPT e alterações dos níveis de quimiocinas reguladoras das respostas imunológicas/inflamatórias, como a RANTES.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar o papel de fatores gestacionais e perinatais nos Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte (DDE) em bebês de 15-36 meses de idade.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Caracterizar a população do estudo quanto aos fatores socioeconômicos, de saúde reprodutiva e perinatal;
- ✓ Analisar os efeitos direto e indireto da quimiocina RANTES dosada na gravidez sobre a incidência de DDE nos bebês;
- ✓ Analisar o efeito mediador do nascimento pré-termo (NPT) na associação entre a RANTES e DDE no bebê;
- ✓ Estudar o efeito das infecções bacterianas ocorridas na gravidez sobre a incidência de DDE nos bebês.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Amelogênese e DDE

Os dentes desenvolvem-se a partir de uma série de interações sucessivas e recíprocas entre epitélio dentário e mesênquima, que são mediadas por moléculas e caminhos de sinalização (PISPA, THESLEFF, 2003; THESLEFF, MIKKOLA, 2002; TUCKER, SHARPE, 2004). A formação dos dentes consiste em eventos celulares específicos que se dividem em diferentes fases (CLEVERS, 2006; TUCKER, SHARPE, 2004):

- 1) *Fase morfo-genética*: ocorre no início do estágio de campânula, principalmente, porque as células do epitélio interno cessam a divisão nas regiões das futuras cúspides e da borda incisiva, causando uma dobra no epitélio, a qual determinará a anatomia da coroa dos dentes (BHASKAR, 1978; KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004; TEN CATE, 2001);
- 2) *Fase de diferenciação*: o epitélio interno do esmalte interage com as células do tecido conjuntivo adjacente, as quais se diferenciam em odontoblastos (BHASKAR, 1978; KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004). Essa etapa é caracterizada por uma mudança na aparência das células do epitélio interno do esmalte (KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004). As células, que antes eram cuboidais e com núcleo grande e centralizado, passam a ser cilíndricas, e com o núcleo mais próximo ao extrato intermediário (BHASKAR, 1978). Essas células são denominadas pré-ameloblastos e sua diferenciação prossegue até a formação da primeira camada de matriz dentinária, quando passam a ser denominadas ameloblastos (BHASKAR, 1978);
- 3) *Fase secretora*: os ameloblastos depositam uma matriz extracelular complexa, composta de amelogenina, ameloblastina, esmalina e outras proteínas (KATOH, 2005; VEEMAN, AXELROD, MOON, 2003; OBARA, SUZUKI, TAKEDA, 2006). Em seguida, a matriz é parcialmente mineralizada e o esmalte tem uma aparência translúcida;
- 4) *Fase de maturação*: A maturação do esmalte ocorre após estar formada boa parte da espessura da matriz do esmalte na superfície incisiva ou oclusal (BURRIDGE, WENNERBERG, 2004; WRIGHT et al., 2015). Nesse período, ainda ocorre a formação da matriz do esmalte nas porções cervicais da coroa

(BHASKAR, 1978). Durante a maturação do esmalte, os ameloblastos são levemente reduzidos em comprimento e estão intimamente ligados à matriz do esmalte (ARANA-CHAVEZ, 2004). As células do extrato intermediário perdem a sua forma cuboidal e disposição regular, adquirindo um aspecto fusiforme (BHASKAR, 1978). Nesse estágio, há a diminuição do alto conteúdo inicial de amelogeninas. Essa etapa é chamada maturação pré-eruptiva, que será complementada, quando o dente irromper (BURRIDGE, WENNERBERG, 2004; WRIGHT et al., 2015); e

5) *Fase de proteção*: Nesse período é formado um revestimento epitelial estratificado do esmalte, chamado epitélio reduzido do esmalte. Sua função é proteger o esmalte maduro, separando-o do tecido conjuntivo até que o dente irrompa (BHASKAR, 1978; KATCHBURIAN, ARANA-CHAVEZ, 2004).

Cada dente tem seu desenvolvimento bem definido e que consiste de quatro a cinco estágios até alcançar a morfologia e maturação funcionais adequados (Figuras 1).

CRONOLOGIA – Formação dos Germes Dentais	
Incisivos e Caninos Decíduos	6 ^a a 8 ^a semana de vida intrauterina
1 ^o Molar Decíduo	8 ^a e 9 ^a semana de vida intrauterina
2 ^o Molar Decíduo	10 ^a e 11 ^a semana de vida intrauterina

O esmalte é um tecido com capacidade de registrar distúrbios metabólicos, durante o tempo de formação do dente (RYTHÉN et al., 2010). O esmalte dentário é um marcador biológico dos eventos metabólicos e fisiológicos ocorridos durante o período em torno do nascimento e no primeiro ano de vida (CAMPOS, CRUZ, MELLO, 2004; RYTHÉN et al., 2010). Pode-se distinguir o esmalte prenatal e pós-formado e estimar a datação de um distúrbio (SEOW).

Linhas incrementais acentuadas resultam de vários tipos de estresse, devido a causas fisiológicas ou patológicas (GUSTAFSON, 1959). A aparência morfológica difere das linhas de Retzius que são de origem desenvolvimentista (GUSTAFSON, 1959; HELMCKE, SCHULZ, SCOTT, 1963).

A linha neonatal (LNN) é encontrada em todos os dentes decíduos (esmalte e dentina), é descrita como uma estrutura hipomineralizada (MASSLE, SCHOUR, 1946). O NNL representa uma pausa de crescimento no esmalte e é visto como um marco biológico de nascimento (SCHOUR, 1936). O esmalte formado antes do LNN é chamado esmalte pré-natal

e parece ter uma estrutura mais homogênea em comparação com o esmalte pós-natal (MASSLER, SCHOUR, 1946; NORÉN, 1983).

Macroscopicamente, esmalte dental normalmente tem uma sombra uniforme de cor translúcida esbranquiçada e uma superfície lisa brilhante, no entanto, na clínica, defeitos no esmalte são freqüentemente vistos. Os defeitos de desenvolvimento do esmalte são desvios da aparência normal do esmalte, clinicamente originando da disfunção do órgão do esmalte (CLARKSON, 1989). A classificação dos defeitos baseia-se na aparência clínica macroscópica. Os três principais tipos de defeitos são opacidade demarcada, opacidade difusa e hipoplasia do esmalte (CLARKSON, 1989).

A opacidade demarcada envolve alteração na translucidez do esmalte, em vários graus. O esmalte defeituoso é de espessura normal, com superfície lisa. Apresenta limite claro e distinto de esmalte normal adjacente e pode apresentar cor branca, creme, amarela ou marrom. As lesões variam em extensão, posição na superfície do dente e distribuição na cavidade bucal (FDI, 1992).

A opacidade difusa envolve alteração na translucidez do esmalte, em vários graus. O esmalte defeituoso é de espessura normal e ao erupcionar, tem superfície relativamente lisa, e sua coloração é branca. Pode ter distribuição linear, manchada ou confluenta, sem limite claro com o esmalte normal adjacente. As linhas são brancas de opacidade que seguem as linhas de desenvolvimento dos dentes. As manchas são irregulares e sombreadas de opacidades desprovidas de margens bem definidas. O termo confluenta refere-se a manchamento difuso numa área branco-giz, estendendo-se das margens distais, e pode cobrir a superfície por inteiro ou estar restrita à área localizada (FDI, 1992).

É um defeito envolvendo a superfície do esmalte e associado com a redução localizada na espessura do esmalte. Pode ocorrer na forma de: (a) fóssulas – únicas, múltiplas, rasas ou profundas, difusas ou alinhadas, dispostas horizontalmente na superfície; (b) sulcos – únicos ou múltiplos, estreitos ou amplos (máximo de 2 mm) ou (c) ausência parcial ou total de esmalte sobre uma área considerável de dentina. O esmalte pode ser translúcido ou opaco (FDI, 1992).

Os distúrbios do desenvolvimento no esmalte são vistos tanto nas dentições primárias como permanentes e podem ter vários antecedentes etiológicos diferentes, alguns cronológicos, isto é, podem estar relacionados a um período específico durante a formação do esmalte.

3.2 Possíveis fatores etiológicos do DDE

3.2.1 Citocinas durante a gravidez

O sistema imunológico apresenta dois tipos de resposta: a inata e a adaptativa (AAGAARD-TILLERY, SILVER, DALTON, 2006). A resposta inata é responsável por uma reação não específica aos antígenos, enquanto a resposta adaptativa é extremamente específica aos antígenos (AAGAARD-TILLERY, SILVER, DALTON, 2006). Durante a gestação, há mudanças nas citocinas mediadoras dessas respostas para que o feto não seja rejeitado e o equilíbrio imunológico seja mantido (SYKES et al., 2011, 2012). Porém, esse processo é mais difícil diante de infecções sistêmicas e morbidades, como a eclâmpsia, pré-eclâmpsia e hipertensão (MATSUOKA, 2001).

As células T desempenham um papel central na imunorregulação e imunoestimulação. As células T-helper (Th) podem ser classificadas em células Th1 e Th2 (SAITO, SAKAI, 2003). A gravidez normal gera mudanças na relação Th1/Th2 em direção a reações do tipo Th2 (MIRAHMADIAN et al., 2008; SYKES et al., 2012). As citocinas relacionadas ao Tipo Th1 podem produzir um meio pró-inflamatório. O excesso de citocinas de tipo Th1 – IL-2, TNF- α , IFN- γ e RANTES – tem sido relacionado a prejuízos para o feto e associado com a pré-eclâmpsia (MIRAHMADIAN et al., 2008; SZARKA et al., 2010). As células Th2 estão envolvidas na regulação do desenvolvimento de células Th1 e a manutenção de um ambiente anti-inflamatório (SYKES et al., 2012; WARNING, MCCRACKEN, MORRIS, 2011). As células Th2 têm capacidade para proteger contra a rejeição, portanto, desempenha um papel fundamental durante a gravidez (SYKES et al., 2012; WARNING, MCCRACKEN, MORRIS, 2011).

Dentre essas citocinas com ação na relação Th1/Th2 destaca-se a RANTES, uma quimiocina com efeito durante a embriogênese. Quimiocinas são famílias de proteínas que possuem a capacidade de induzir quimiotaxia – atração celular em direção a um gradiente químico -, e desempenham um papel crítico na geração da inflamação celular em resposta aos patógenos invasores e processos patológicos associados à infecção ou a doenças imunes (ALDINUCCI, COLOMBATTI, 2014; CHARO, RANSOHOFF, 2006).

A migração leucocitária é uma das funções biológicas mais importantes para as quimiocinas (GRASSO, PAPANINI, AGÜERO et al., 2014). Além disso, as mesmas contribuem para o recrutamento leucocitário por integrinas ativadas (moléculas expressadas por leucócitos que mediam a adesão para células endoteliais e proteínas da matriz

extracelular) e promovem a migração dos leucócitos aderidos ao endotélio, através da matriz extracelular por um processo denominado haptotaxia – migração celular para um gradiente de maior adesividade (RAMHORST, GUTIÉRREZ, CORIGLIANO et al., 2007).

As quimiocinas também exercem um papel relevante como reguladores da ativação leucocitária, pois possuem um amplo espectro de ação: atração de linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos, e células NK (*natural killers*), regulação dos linfócitos, processo inflamatório, hematopoiese, imunidade antitumoral (GRASSO et al., 2014; RAMHORST et al., 2007).

A ação de quimiotaxia exercida pela RANTES é mesma compartilhada pela MCP-1 (Proteína Quimioatratante de Monócitos 1), sendo a exocitose a diferença entre estas duas moléculas, pois esse fenômeno é bem menos pronunciado na liberação de RANTES (SCHALL et al, 1988). A principal ação fisiológica da RANTES é atrair e recrutar linfócitos T CD4+ e linfócitos supressores CD8+. Portanto, age como um ativador, independente de antígeno, das células T, mediante respostas celulares como abertura dos canais de cálcio e liberação de citocinas (NG et al., 2006).

RANTES está envolvida no processo de apoptose com a despolarização celular induzida pelo influxo prolongado de cálcio (Ca⁺⁺) e liberação de citocinas inflamatórias promotoras de adesão/agregação celular, especialmente através de proteoglicanos conhecidos como glicosaminoglicanos (GACs) (APPAY, ROWLAND-JONES, 2001). O complexo da ligação dos GACs com quimiocinas é importante para a ligação das quimiocinas com seus receptores e a interação quimiocina/GACs potencializa a atividade de citocinas quimiotáticas. O receptor com maior afinidade a RANTES é o receptor CCR5 (APPAY, ROWLAND-JONES, 2001).

Em altas concentrações a RANTES induz a diminuição da afinidade da proteína tirosina quinase, sinalizando uma via celular que leva à ativação e proliferação de células T (APPAY, ROWLAND-JONES, 2001). O aumento da expressão da mesma está associado a uma ampla variedade de processos inflamatórios como rejeição de transplantes, aterosclerose, artrite, dermatites atópicas, atopias respiratórias como asma, reações de hipersensibilidade tardia, glomerulonefrite, endometriose, Doença de Alzheimer e tumores malignos (LA SALA et al., 2012).

RANTES também participa durante a gestação, das mudanças nas citocinas mediadoras das respostas imunológicas para que o feto não seja rejeitado e o equilíbrio imunológico seja mantido (SYKES et al., 2011, 2012). A interação das citocinas TNF- α e IFN- γ possui um efeito sinérgico na produção de RANTES nas células endoteliais e nos

fibroblastos evidenciando que a combinação destas duas citocinas Th1 seja um fator determinante para a regulação da sua produção pelo aumento de mRNA (RNA-mensageiro) desta quimiocina (MARFAING-KOKA et al., 1995).

A associação entre RANTES e complicações da gravidez foi evidenciada em modelos humanos e animais. Os níveis elevados de RANTES correlacionaram-se com uma resposta Th1 exacerbada. A diminuição da concentração desta quimiocina no líquido amniótico é observada com o avanço da idade gestacional e o aumento da mesma esteve associado ao nascimento pré-termo, quando comparado com pacientes a termo (ATHAYDE et al., 1999). Porém a literatura diverge, quanto aos achados relacionados a essa quimiocina, pois a diminuição da mesma já esteve associada a abortos espontâneos recorrentes e menor concentração no cordão umbilical foi considerado um fator associado ao nascimento pré-termo (KRÓLAK-OLEJNIK, OLEJNIK, 2012).

A concentração de RANTES também já esteve aumentada no líquido amniótico durante o trabalho de parto e infecção bacteriana da cavidade amniótica induzida por endotoxinas bacterianas, fato que promove a quimiotaxia de monócitos e linfócitos (ATHAYDE et al., 1999). Níveis séricos mais elevados de RANTES foram observados em recém-nascidos, cujas as mães apresentaram infecção do trato urinário, durante a gravidez (SCHLÜTTER et al., 2014). Além disso, um outro trabalho reforça esse achado de que aumento significativo da concentração sérica de RANTES em recém-nascidos esteve associado aos quadros de infecções graves (MARITATI, COMAR, ZANOTTA, 2017). Portanto, esta quimiocina pode ser considerada um marcador interessante no diagnóstico de infecções sistêmicas.

Já foi observado que, os altos níveis de progesterona presentes, durante a gravidez promovem a produção de RANTES em níveis que possam ser necessários para a indução local de uma resposta imune tolerogênica. Porém, os mecanismos moleculares que levaram à tolerância imune, os mecanismos celulares e moleculares definitivos subjacentes às interações mãe-feto ainda não estão bem estabelecidos.

Quanto a papel da RANTES na embriogênese, infecções sistêmicas e complicações adversas ao nascimento, os resultados divergentes podem ser devido às diferenças na técnica, no material biológico e no momento da dosagem.

3.2.2 Infecções Bacterianas

Duas das principais infecções bacterianas que podem ocorrer durante a gestação são a VB e as ITU. A VB é uma modificação da flora vaginal caracterizada pela diminuição dos lactobacilos, aumento do pH vaginal e da colonização de vários microorganismos anaeróbios facultativos, principalmente *Gardenerella vaginalis*, *Prevotella* sp, *Bacteroides* sp, *Mobiluncus* sp, cocos gram-positivos cocos, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* (CAUCI, 2004; KRAUSS-SILVA, 2014).

Há indício de que a VB, durante a gestação, aumenta o risco de aborto espontâneo, NPT, infecção fetal e neonatal (LEITICH et al., 2003). Um possível mecanismo para a associação entre essa infecção e NPT é a estimulação bacteriana da síntese de prostaglandinas. Isso pode ocorrer através de fosfolipase A2 e C (BEJAR, 1981) ou como um resultado de endotoxina bacteriana introduzida no fluido amniótico, estimulando as células decíduais a produzirem citocinas e prostaglandinas (COX, MACDONALD, CASEY, 1989). A VB também pode atuar de forma indireta sob o NPT, através de substâncias tais como a IL-1, TNF- α e fator de ativação plaquetária (PAF) (ROMERO et al., 1992; YOON, 2000).

Cerca de 80% das gestantes sofrem dilatação do trato urinário associada à ligeira hidronefrose, causada em parte por uma redução do tônus muscular liso, desaceleração do peristaltismo ureteral e relaxamento do esfíncter. Uma possível explicação para isso é a elevação dos níveis de progesterona circulantes (SCHNARR, SMAILL, 2008; JEYABALAN LAIN, 2007). Além disso, o aumento do útero comprime a bexiga e eleva a pressão intravesical, o que pode resultar em refluxo vésico-ureteral e retenção de urina na bexiga após a micção. Portanto, esse mecanismo anti-refluxo cria condições favoráveis para o crescimento e infecção bacteriana.

A infecção urinária pode associar-se a diversas complicações maternas, incluindo, hipertensão/pré-eclâmpsia e anemia (LOH, SIVALINGAM, 2007; SCHIEVE et al., 1994). Além disso, a infecção urinária já foi apontada como fator de risco para desfechos adversos ao nascimento – NPT, BPN e RCIU (LOH, SIVALINGAM, 2007; SCHIEVE et al., 1994).

3.2.3 Condições gestacionais adversas ao nascimento

Considera-se NPT quando a criança nasce antes das 37 semanas de gestação (KRAMER, 1987). O baixo peso ao nascer pode ser considerado, como as crianças que nascem com peso inferior a 2500 gramas. Ambas as condições neonatais são apontadas como possíveis fatores de risco para o DDE.

O último trimestre é o período gestacional em que há maior formação de reservas maternas de cálcio e fósforo (TSANG, DONOVAN, STEICHEN, 1976), portanto sugere-se, que crianças pré-termo tenham menor disponibilidade desses minerais durante a fase de maturação dentária. Então, essa condição de menor aproveitamento metabólico desses minerais pode perturbar função dos ameloblastos e a síntese do esmalte (ZAIDI et al., 2015). Porém, essa alteração da homeostase do cálcio é influenciada por fatores pré e/ou pós-natal, então, já foi proposto que esse mecanismo não é motivado apenas pela desnutrição intrauterina, mas, também, por uma série de condições médicas que podem contribuir para essa insuficiência mineral (NELSON et al., 2013).

Numa coorte prospectiva, realizada com 377 crianças observou-se que o NPT e a hospitalização, durante o primeiro ano de vida, foram fatores associados à ocorrência de DDE, porém este estudo possui perda seguimento superior a 30%, a amostra é de conveniência e avaliou o desfecho como uma variável dicotômica (WAGNER, 2016). Este resultado diverge do encontrado no trabalho de Corrêa-Faria e colaboradores (2013), no qual o maior risco de desenvolver DDE foi associado a menor idade materna e não amamentação, mas é possível que o desenho do estudo caso-controle, o pequeno tamanho e grande variabilidade da idade na amostra estudada, possam ter interferido para a não associação entre DDE e NPT.

Ao avaliar a relação entre defeitos de desenvolvimento do esmalte e o peso da criança ao nascer em 3 grupos de crianças [de muito baixo peso ao nascer (<1500 g), baixo peso ao nascer (1500-2500) e peso normal (>2500 gramas), a prevalência de DDE no grupo de muito baixo peso ao nascer foi maior em relação aos demais grupos e foi observado que quanto menor o peso ao nascer, maior a tendência de desenvolver DDE.

Foi observado num estudo caso-controle com amostra de 193 crianças que a prevalência de hipoplasia do esmalte foi maior (71%) entre as crianças nascidas com baixo peso em relação ao grupo controle (15%). Além disso, no grupo de baixo peso, os defeitos de esmalte foram associados com doenças ocorridas no período perinatal, crianças que recebem ventilação de suporte e nascidas com menos de 32 semanas de gestação.

Segundo Li (1995), ao estudar a prevalência e distribuição de hipoplasia do esmalte em 1344 crianças chinesas de 3 a 5 anos, foi observado que as crianças com BPN mostraram maior prevalência de DDE (40%), em relação às crianças com peso normal. Já Rugg-Nunn (1998) observou num estudo transversal com 390 meninos com idades entre 2, 4 e 6 anos que o BPN e presença de doenças na infância estiveram significativamente associados ao desfecho.

No estudo de Lunardelli & Peres (2006), a prevalência de defeitos foi maior no grupo de crianças com baixo peso ao nascimento (62%) quando comparada com as crianças com peso normal (46%); no entanto essa diferença não foi estatisticamente significativa.

Um estudo transversal realizado com 381 crianças, entre 3 e 5 anos observou-se que NPT e fatores sócio-econômicos não foram associados à ocorrência de DDE, porém foi associado ao BPN (CORREA-FARIA et al., 2013). Neste trabalho o desfecho foi avaliado como uma variável numérica, porém apresenta como limitação, o desenho do estudo transversal, considerado frágil para inferir associações.

Um estudo transversal realizado com 1221 crianças, com idade entre 6 e 36 meses observou-se que o BPN foi associado a maior ocorrência de hipoplasia. Porém, esse estudo apresenta algumas limitações ao não considerar na análise fatores perinatais que interferem na exposição do estudo como: hipertensão, pré-eclâmpsia, diabetes, infecções durante a gravidez (MASUMO, ÅSTRØM, 2013).

Velló e colaboradores (2010), ao investigar associação entre fatores neonatais e DDE, em 102 crianças observou-se que a baixa idade gestacional, baixo escore de Apgar, nutrição parenteral, intubação orotraqueal estiveram associados ao risco de desenvolver DDE. Além disso, o fumo materno, o BPN e idade materna foram considerados fatores de risco para o desfecho, mas não o NPT.

Numa coorte retrospectiva, na qual foram avaliadas 205 crianças entre 12-60 meses, observou-se que o NPT não foi associada com DDE, porém a frequência foi maior (PINHO et al., 2012). Esse resultado diverge dos achados de Takaoka e colaboradores (2011), no qual a frequência de DDE foi mais elevada em crianças pré-termo (TAKAOKA et al., 2011).

Percebe-se, porém, diferenças metodológicas consideráveis entre os estudos como: a escolha do desenho do estudo, o tamanho da amostra, critérios diagnósticos e abordagem analítica. A consideração de possíveis fatores de confusão nos estudos variou amplamente, isso dificulta a comparação dos resultados entre os trabalhos. Além disso, os critérios de inclusão, não inclusão e exclusão dos indivíduos estudados são muito distintos.

Além desses fatores perinatais que podem influenciar o desenvolvimento das dentições decídua e permanente, existem outras variáveis apontadas como possíveis intervenientes neste processo: a saúde materna, a ingestão de medicamentos (JACOBSEN, et al., 2013; SEOW, 2014), tabagismo e álcool (NEEDLEMAN et al., 1991).

3.2.4 Outros fatores

Fatores Socioeconômicos

A associação entre baixa situação socioeconômica e DDE tem sido explicada pela nutrição inadequada e condições médicas (CAUFIELD, LI, BROMAGE, 2012). Segundo Massoni e colaboradores (2007), o fator nutricional também exerce influência sobre o DDE, como um reflexo da condição socioeconômica do indivíduo, desde a gestação. Para esses autores, baixo nível educacional dos pais aumenta as chances de DDE na dentição decídua dos seus filhos entre 16 e 18 meses de idades.

Outro estudo com população infantil brasileira apontou que eventos adversos ao longo do curso da vida, como baixo nível socioeconômico podem estar associados com DDE (CHAVES, ROSENBLATT, OLIVEIRA, 2007).

Uso de medicamentos

Numa revisão sistemática, na qual foram incluídos trabalhos que estudaram a relação entre fármacos quimioterapêuticos, antibióticos, fármacos asmáticos, anti-epilépticos, antivirais, antifúngicos e antiparasitários e hipoplasia molar-incisivo, não foi possível realizar a metanálise, devido às diferentes metodologias utilizadas pelos pesquisadores dos estudos selecionados (SERNA et al., 2016). Portanto, em pesquisas com humanos, é difícil separar o efeito dessa variável dos efeitos das febres e infecções nas quais se utilizam esse antibiótico (SEOW, 2014). Estudos com medicamentos precisam ser vistos com cautela diante da grande possibilidade de problemas na aferição das doses, tempo de uso e interações das drogas.

Os produtos químicos e drogas medicamentosas podem afetar os ameloblastos, incluindo o flúor, tetraciclina e drogas citotóxicas. A ingestão de tetraciclina durante os períodos de formação do dente já foi associada aos manchamentos dentais e DDE (OWEN, 1963). Em alguns estudos, aponta-se que a amoxicilina pode interferir nos estágios secretores da amelogenese ou pode reduzir a expressão gênica das proteínas da matriz (como as amelogeninas) ou diminuir a atividade das proteinases que hidrolizam as proteínas da matriz (FINCHAM, MORADIAN-OLDAK, SIMMER, 1999; PAINE et al., 2000). Contudo, os mecanismos moleculares de ação ainda não são claros. Um estudo realizado em ratos, no qual se investigou os efeitos da administração crônica de amoxicilina/ácido clavulânico sobre o DDE observou que esse medicamento afeta a função dos ameloblastos, especialmente na fase da maturação (HONG et al., 2005).

A exposição durante o período pré-natal às drogas anti-epilépticas, conhecidas pelos efeitos teratogênicos, associou-se ao maior risco de desenvolver DDE nas dentições decídua e permanente, após ajuste para uso de antibiótico e fumo materno (JACOBSEN et al., 2013). Porém, o uso materno de antibacterianos, anti-alérgicos e medicamentos anti-asma durante a gravidez não foi associado à hipoplasia molar-incisivo na dentição decídua (ELFRINK, 2013).

Um estudo transversal realizado com 745 crianças, no qual foi avaliada associação entre drogas anti-asmática e opacidades difusas em primeiros molares permanentes, apontou que as crianças com prescrição de medicamentos asmáticos inalados antes dos 3 anos de idade não apresentaram um risco global aumentado de opacidades demarcadas no primeiro molar permanente, mas pareciam ter um risco aumentado de opacidades demarcadas severas (GUERGOLETTE et al., 2009). Enquanto, em um caso-controle com 140 crianças, o uso de drogas anti-asmáticas apresentou-se como um risco global para o DDE em primeiros molares permanentes, além disso as lesões hipoplásicas graves foram mais comuns nos molares afetados e a ocorrência de DDE foi significativamente maior para o sexo feminino (MASTORA et al., 2017).

O uso de anti-neoplásicos já foi associado ao maior risco de DDE. Dois trabalhos descreveram a hipoplasia do esmalte, como um evento comum em crianças que receberam o tratamento antineoplásico, enquanto, Pajari e colaboradores (1988) relataram a presença de opacidades como o defeito mais comum no esmalte. Bagattoni e colaboradores (2014) relataram que os defeitos do esmalte foram encontrados mais frequentemente em crianças tratadas com quimioterapia do que em um grupo controle.

4 ASPECTOS METODOLÓGICOS

4.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo proveniente de uma coorte do pré-natal que integra a pesquisa intitulada “Fatores etiológicos do nascimento pré-termo e consequências dos fatores perinatais na saúde da criança: coortes de nascimento em duas cidades brasileiras – BRISA” (THOMAZ et al., 2015; SILVA et al., 2016; PEREIRA et al., 2016). Esta pesquisa foi desenvolvida pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Maranhão e Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto com o propósito inicial de identificar fatores de risco para o BPN e NPT (SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2015).

A amostra de gestantes entre 22 e 25 semanas de idade gestacional foi avaliada (*baseline*) e seguida quando do nascimento dos bebês (1º seguimento) e quando os bebês tinham entre 15 e 36 meses de idade (2º seguimento).

4.1.1 População e amostra em estudo

A amostra deste estudo foi de conveniência. As gestantes foram contatadas por membros da equipe de trabalho nos serviços públicos e privados de atenção pré-natal do município de São Luís e por demanda espontânea. As gestantes eram cadastradas e agendadas para comparecer ao Centro de Pesquisas Clínicas (CEPEC) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) para a realização das entrevistas quando estivessem entre 22 e 25 semanas de gestação, período que permite melhor visualização do feto e exclusão dos casos de aborto. A coleta de dados para a coorte do pré-natal (n=1447), 1º seguimento (n=1381) e 2º seguimento (n=865) ocorreu entre fevereiro de 2010 e a março de 2013 (Figura 1).

Para o primeiro artigo, o total de bebês incluídos na coorte, 109 nasceram pré-termo, sorteando-se 218, entre os demais nascidos a termo. Dessa forma, 327 gestantes e seus bebês foram incluídos neste estudo. Foram dosados os níveis séricos de citocinas no *baseline* de todas as mães de crianças com BPN e NPT e em uma amostra de controles na proporção de 2:1. Já no segundo artigo, foi incluída, toda a amostra presente até o 2º seguimento (n=865).

4.1.2 Critérios de inclusão, não inclusão e exclusão

Foram incluídas todas as mães e seus filhos pertencentes à coorte de pré-naal BRISA, cujos bebês nasceram com menos de 37 semanas de idade gestacional e o dobro da amostra de mães/bebês nascidos a termo. Para que a gestante fosse incluída nesta coorte, era necessário que estivesse com 22 a 25 semanas de gestação por ocasião de sua entrada no estudo, para a coleta de dados, e que tivesse uma ultrassonografia obstétrica de antes da 20ª semana de gestação.

Não foram incluídos gemelares e mulheres que se recusassem a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Para o primeiro artigo, mulheres cujas citocinas não puderam ser dosadas e os bebês que não tivessem sido acompanhados por ocasião do nascimento e/ou no segundo ano de vida foram considerados como perdas.

4.1.3 Cálculo do Poder da Amostra:

ARTTIGO 1:

Estimou-se que essa amostra teria poder de 80% para identificar odds ratios significantes de 2,1, considerando-se probabilidade de erro tipo I de 5%, prevalência de 12% de exposição entre os controles.

ARTTIGO 2:

Estimou-se que uma amostra mínima de 821 sujeitos (binômio mãe-bebê) teria poder de 85% para identificar riscos relativos significantes de 1,7 considerando na proporção de 2:1 entre expostos e não expostos, prevalência de 16% de DDE na dentição decídua (PINHO *et. al*, 2011), nível de confiança de 95%, efeito de desenho (deff) de 1,2 e excesso de 20% para compensar possíveis perdas.

4.2 Instrumentos e Técnicas de Coleta de Dados e Variáveis do Estudo

Neste estudo, foram utilizados dados de três momentos distintos:

- Pré-natal (Entrevista com a gestante utilizando questionário estruturado e dosagem de citocinas séricas,):

- Idade da mãe;
- Classe econômica da família; atividade remunerada; anos de estudo da mãe; renda familiar;
- Coleta de sangue e dosagem de RANTES;
- Corrimento Vaginal;

- Infecção do Trato Urinário;
 - Sífilis;
- Nascimento (Entrevista com a puérpera utilizando questionário estruturado, coleta de dados do prontuário da mulher e do bebê):
- NPT e BPN;
 - História de hipertensão, diabetes e infecções bacterianas durante a gestação;
 - Uso de antibiótico durante a gestação;
 - Número de consultas de pré-natal;
- 2º/3º Ano de vida (Entrevista com a mãe sobre a saúde da criança utilizando questionário estruturado e exame odontológico da criança utilizando ficha clínica específica):
- Idade da criança;
 - DDE, segundo o índice de DDE modificado (FDI, 1992).

A variável resposta do presente estudo foi DDE, caracterizada pela proporção de superfícies dentárias com DDE em relação ao número total de superfícies presentes em crianças 15-36 meses de idade. Para isso, cada criança foi examinada em uma cadeira odontológica portátil, sob luz artificial, após secagem dos dentes com jatos de ar, utilizando-se sonda WHO-621 e espelho bucal, previamente esterilizados e acondicionados individualmente. Os exames odontológicos foram realizados por cinco dentistas previamente treinados ($\kappa \geq 0,8$).

Os defeitos de esmalte foram avaliados de acordo com três aspectos clínicos: hipoplasia do esmalte, opacidades difusas e opacidades demarcadas, nos terços gengival e incisal dos dentes presentes. Para essa variável será considerado o percentual de dentes com DDE, já que as crianças incluídas apresentam grande variabilidade de idade. Os códigos apresentados nas fichas foram: 0-Normal; 1-Opacidade demarcada; 2-Opacidade difusa; 3-Hipoplasia; 4-Outros defeitos; 5-Opacidade demarcada e difusa; 6-Opacidade demarcada e hipoplasia; 7-Opacidade difusa e hipoplasia; 8-Todos os três defeitos; 9-Excluídos; 10- não se aplica, pois o dente não existe; e 11-não foi possível examinar. Considerou-se DDE quando a criança apresentasse alguma dessas condições.

As variáveis explicativas que representavam as características maternas e da criança foram:

- Características sociodemográficas [idade da mãe, em anos; idade da criança, em anos; classe econômica da família, segundo a Associação Brasileira de Estudos e Pesquisas-

ABEP (A/B; C ou D/E) (ABEP, 2010); atividade remunerada (sim ou não); anos de estudo da mãe (até 8 anos e > 8 anos); renda familiar (em salários mínimos e em quintis)];

- A variável RANTES foi dosada no sangue entre 22^a e 25^a semana de gravidez. Todos os reagentes utilizados foram a partir do kit de citocinas Th1/Th2/Th17 adquiridos pela Becton Dickinson Biosciences (San José, CA, EUA). O citômetro foi calibrado de acordo com as recomendações do fabricante. Depois de uma leitura da curva padrão e a curva de amostra, os dados foram analisados com o conjunto de software FCAP (Becton Dickinson, San José, CA, EUA) e os valores são reportados como pg/mL.
- As variáveis consideradas como eventos adversos ao nascimento foram o NPT e o BPN. O nascimento pré-termo foi definido como todo recém-nascido abaixo de 37 semanas gestacionais (KRAMER, 1987), sendo avaliada a partir de ultrassonografia realizada no primeiro trimestre da gravidez. BPN foi definido como bebês nascidos com peso inferior a 2500 gramas
- Condições de saúde na gestação: 1) Hipertensão durante a gravidez (sim ou não); 2) Diabetes durante a gravidez; 3) Uso de medicamento durante a gravidez (sim ou não); 4) Número de consultas pré-natais (0-3 consultas, 4-5 consultas e 6 ou mais consultas);

4.3 Modelos Teóricos

Foram propostos dois modelos teóricos.

1º: A quimiocina RANTES é essencial para a resposta imunológica, desenvolvimento e maturação do feto, porém ainda não se sabe qual o papel da RANTES sobre a odontogênese. Porém, menores níveis séricos de RANTES já foram considerados fatores de risco para o NPT e sepse. A literatura aponta o NPT, como um fator de risco importante para a etiologia do DDE. É possível que essa quimiocina exerça efeito direto sobre o DDE e/ou indireto, mediado pelo NPT.

Para este modelo teórico, foram incluídas também os fatores sócioeconômicos e a idade da criança. Para avaliar a situação socioeconômica foi criada uma latente com as variáveis referentes a mãe (classe econômica, anos de estudo da mãe, ocupação da mãe e renda família).

2º: As infecções bacterianas durante a gestação aumentam o risco de desenvolver DDE no bebê, mesmo após ajuste para as características sociodemográficas (classe econômica e idade da mãe e da criança) e condições de saúde na gestação (doenças hipertensivas, diabetes, número de consultas pré-natais e uso de antibióticos) e BPN.

4.4 Análise Estatística

Para investigar o efeito da RANTES sobre DDE em crianças de 15 a 36 meses foi inicialmente proposto um modelo teórico, que foi testado por Modelagem por Equações Estruturais (MEE). As análises estatísticas foram realizadas por meio do software STATA/SE 14.0 (Stata Corp, College Station, Texas, EUA) e Mplus versão 7 (Muthén & Muthén, Los Angeles, EUA). Inicialmente foi realizada análise descritiva.

O modelo de equações estruturais consiste em dois sub-modelos: o modelo de mensuração, que estabelece como os constructos são medidos; e o modelo estrutural, que analisa o modelo teórico como um todo, onde as associações entre as variáveis são determinadas, estimando cargas fatoriais padronizadas. As variáveis latentes, que definem os constructos, são representadas por círculos ou elipses e as variáveis observadas são representadas por quadrados ou retângulos.

A elaboração de uma variável latente é feita no modelo de mensuração, onde os indicadores da variável latente são especificados. Uma boa variável latente apresenta validade convergente, verificado pelas cargas fatoriais padronizadas com valores elevados (superior a 0,60). Além disso, as correlações entre indicadores não devem ser excessivamente altas (> 0,85), demonstrando que cada indicador mede aspectos distintos do constructo (KLINE, 2004). Cargas fatoriais negativas indicam associação inversa e cargas positivas indicam associação direta (MARCHIONI et al., 2005).

Os coeficientes padronizados do modelo estrutural serão interpretados da seguinte forma: coeficientes com valores próximos a 0,10 indica um efeito pequeno, 0,30 efeito médio e superior a 0,50 indica um efeito forte (KLINE, 2004).

O ajuste dos modelos será analisado de acordo com os seguintes índices de qualidade de ajuste: Qui-quadrado (χ^2); erro médio quadrático de aproximação (Root Mean Square Error of Approximation – RMSEA); limite superior do intervalo de confiança de 90% do RMSEA; índices incrementais Comparative Fit Index (CFI) e Tucker-Lewis Index (TLI); e Weighted Root Mean Square Residual (WRMR). Os modelos serão considerados bem ajustados quando o valor do χ^2 for maior que 0,05; RMSEA menor que 0,5; limite superior

do IC90% do RMSEA menor que 0,08; CFI e TLI maiores que 0,90; e WRMR menor que 1,0 (COOK, KALLEN, AMTMANN, 2009).

Para investigar se as infecções bacterianas, durante a gravidez interferem no DDE dos bebês foi realizada a inferência causal. Inicialmente foi elaborado um modelo teórico de causalidade estabelecido por meio de Directed Acyclic Graphs (DAG). Nestes gráficos, foram consideradas a variável de exposição principal, dependente e confundidoras. Estabeleceu-se entre todas as variáveis relações de causa e efeito representadas por setas. Cada variável no DAG foi representada por um círculo e por cores, as quais possuem significados diferentes: em amarelo e com símbolo “►” dentro do círculo tem-se a variável exposição; em azul e com a letra “I” dentro do círculo tem-se a variável resposta; em azul tem-se a variável que é ancestral ao desfecho; e em vermelho tem-se a variável que é ancestral em relação ao desfecho e exposição, sendo as variáveis indicadas no ajuste mínimo. Para a elaboração desses modelos gráficos foi utilizado o programa Dagitty versão 3.2 (TEXTOR, HARDT, KNÜPPEL, 2011).

Para a definição do conjunto mínimo de variáveis a serem ajustadas nas análises foi considerando o critério da porta de trás (*backdoor*) (CORTES, FAERSTEIN, STRUCHINER, 2016). A estimativa do efeito das infecções bacterianas sob o DDE-iu em crianças foi realizada utilizando-se o método de pareamento por escores de propensão. Este método permite a obtenção de um grupo controle com características observáveis semelhantes às aquelas existentes no grupo de tratamento. Após a obtenção desses grupos, estimaram-se as diferenças médias entre os grupos de tratamento e de controle em relação às variáveis de resposta. Neste trabalho, a presença de infecção materna durante a gestação foi considerada como o grupo de tratamento. A estimação por escore de propensão foi conduzida usando modelo de regressão de Poisson com variância robusta. Foram consideradas significantes as variáveis com p-valor < 0,05.

4.6 Considerações Éticas

As avaliações odontológicas das crianças já estavam previstas na coorte BRISA, tendo sido já aprovado em Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HU/UFMA (parecer nº 223/2009). O exame odontológico foi realizado em cadeira odontológica, em sala climatizada, sem quaisquer procedimentos invasivos. Os responsáveis pelas crianças foram informados sobre a pesquisa e após explicações e esclarecimentos sobre o trabalho as crianças foram convidadas a participar. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi requerido antes

do início da coleta dos dados, sendo facultada a desistência sem qualquer prejuízo para as crianças ou suas mães em qualquer etapa da pesquisa. Todos os procedimentos foram efetuados de acordo com as normas de biossegurança.

5 RESULTADOS

Artigo a ser submetido na Clinical Oral Investigation:

RANTES E DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE NO BEBÊ: análise com equações estruturais de uma coorte brasileira (BRISA).

Elisa M. Costa, Erika Bárbara A.F. Thomaz, Judith Rafaela Oliveira Pinho, Cecília Cláudia Costa Ribeiro, Cláudia Maria Coelho Alves, Vanda Simões, Rosângela Batista, Ricardo Cavalli, Marco Antônio Barbieri, Heloisa Bettiol, Antonio Augusto Moura da Silva

RANTES E DEFEITOS DE DESENVOLVIMENTO DO ESMALTE NO BEBÊ: análise com equações estruturais de uma coorte brasileira (BRISA).

Resumo

Objetivo. Pouco se sabe sobre o efeito de fatores imunológicos maternos sobre a etiologia dos defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE). É possível que a quimiocina RANTES (Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted), importante para a embriogênese, tenha também efeito na amelogênese. Objetivou-se estudar o papel da quimiocina RANTES na ocorrência de DDE mediada pelo nascimento pré-termo (NPT). **Materiais e métodos.** Trata-se de um seguimento longitudinal da amostra de um estudo de caso-controle aninhado a uma coorte, na qual o binômio mãe-criança (327) foi avaliado em três momentos: pré-natal (entre 22 e 25 semanas de idade gestacional), por ocasião do nascimento do bebê e quando a criança tinha entre 15 e 36 meses de idade. As variáveis explicativas incluídas nesse estudo foram: situação socioeconômica, níveis séricos da quimiocina RANTES, NPT e idade da criança. O desfecho (DDE) foi avaliado de acordo com o índice de DDE modificado, de forma numérica. Foi realizada a análise com equações estruturais para avaliar o efeito direto e indireto dos níveis séricos de RANTES na gestante na ocorrência de DDE no bebê, estimando-se as cargas fatoriais padronizadas (CFP), considerando $\alpha=5\%$. **Resultados.** Foi observado efeito direto e negativo da RANTES sobre o desfecho (CFP=-0,160; P=0,021). Essa associação não foi mediada pelo NPT (CFP=0,007; P=0,551). **Conclusão.** A resposta imunológica materna pode ser considerada um fator potencialmente relevante para a ocorrência de DDE na dentição decídua. **Relevância Clínica.** Os achados desse estudo apontam para a necessidade de maior controle da saúde da mulher na gestação a fim de reduzir problemas no esmalte dentário do bebê.

Palavras-Chave: Recém-Nascido Prematuro. Nascimento Prematuro. Quimiocina CCL5. Hipoplasia do Esmalte Dentário.

INTRODUÇÃO

A formação da dentição decídua ocorre na vida uterina e após o nascimento do bebê¹. Durante o desenvolvimento dos dentes, uma série de fatores podem afetar a função ameloblástica e resultar em defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE)¹⁻³, podendo ser de origem intra ou extrauterina³. Portanto, os DDE podem ser considerados biomarcadores de estresse, ocorridos nos períodos pré, neo e pós-natais, conforme a Hipótese de Barker, na qual se estipula que os eventos ocorridos em período passado têm consequências em épocas posteriores⁴.

Perturbações durante os estágios de secreção, transição e maturação do esmalte dental podem levar a alterações no desenvolvimento deste tecido duro¹. Estas podem ser classificadas em três tipos: opacidade demarcada, opacidade difusa e hipoplasia⁵. Opacidade é um defeito qualitativo envolvendo alteração na translucidez do esmalte, enquanto hipoplasia é um defeito quantitativo associado a uma redução da espessura do esmalte⁵.

Fatores socioeconômicos^{6,7}, problemas nutricionais⁸, durante a infância e nascimento pré-termo (NPT)^{9,10} têm sido associados ao DDE. Uso de medicamentos, hipertensão e infecções sistêmicas durante a gravidez¹¹⁻¹³ têm sido apontados como potenciais fatores risco para desenvolver DDE. Além disso, revisão sistemática com metanálise identificou a presença de DDE como fator de risco para a ocorrência de cárie dentária¹⁴.

Apesar do crescente número de trabalhos sobre essa temática, ainda não está bem elucidado o papel da resposta imunológica materna sobre a ocorrência de DDE na criança. A RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted), uma citocina reguladora do grupo das quimiocinas, embora tenha uma ação consistente na gestação e embriogênese^{15,16}, ainda não foi estudada na odontogênese. No entanto, mesmo com alguma incerteza^{3,12,13}, o NPT é considerado um fator de risco para o DDE^{11,17,18}, podendo ser potencialmente influenciado pela ação de citocinas como a RANTES.

RANTES apresenta uma forma de agir autócrina. É produzida pelos linfócitos CD4+ e CD8+ e sua síntese é aumentada na presença de concentrações fisiológicas de progesterona^{15,16}. Um dos efeitos principais da RANTES é a indução e o recrutamento de células T reguladoras, e desempenha papel importante na inflamação, progressão do câncer e cicatrização de feridas^{19,20}. A interação entre os níveis dessa quimioquina e a remodelação óssea também tem sido estudada²¹.

Menores níveis séricos de RANTES foram considerados fatores de risco para o NPT e sepse²², porém esta quimioquina é bastante versátil, se a mesma for liberada em quantidade excessiva, isso pode interferir negativamente na gravidez¹⁹. Níveis elevados de RANTES foram associados à hipertensão na gravidez^{20,23} e a sua presença no líquido amniótico foi relacionada a eventos de infecção sistêmica¹⁹.

Estudar possíveis fatores etiológicos pré-natais do DDE, é extremamente relevante para o controle e a redução dos prejuízos advindos destes agravos, como a cárie dentária. Porém, os estudos que avaliaram a associação fatores pré-natais e DDE usaram abordagem tradicional de regressão múltipla. A modelagem de equações estruturais (MEE) é ferramenta mais adequada para estudar fenômenos complexos de multicausalidade, como o DDE^{24,25}, sendo possível explorar caminhos diretos e indiretos.

A hipótese central deste trabalho é que alterações nos níveis séricos de RANTES na gestação exercem efeito sobre o DDE de origem intrauterina na dentição decídua, mediadas pelo NPT. Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar os efeitos direto e indireto da RANTES sobre o DDE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho de Estudo

Este é um acompanhamento longitudinal da amostra de um estudo de caso-controle aninhado a uma coorte prospectiva de gestantes na cidade de São Luís-MA – coorte BRISA^{26,27}.

Participantes e Amostragem

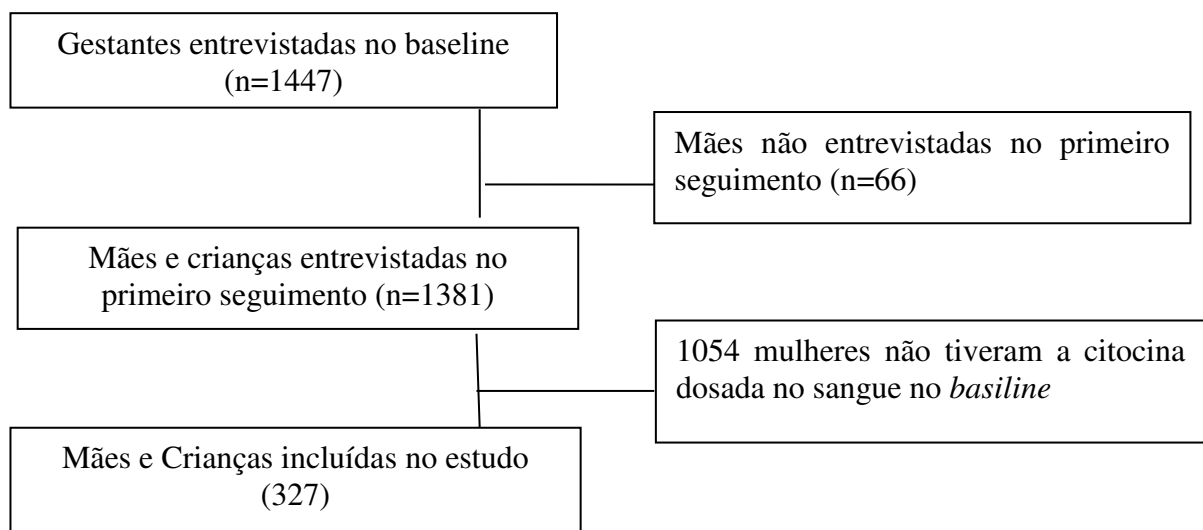
O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, sob parecer nº 223/2009. Somente participaram mulheres que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A cidade de São Luís, capital do estado do Maranhão (MA), situa-se em uma ilha localizada no litoral norte do estado, região Nordeste do Brasil, uma das regiões mais pobres do país, onde apenas 50% das residências são ligadas à rede de esgotos e 75% recebem água encanada. O Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) da cidade é 0,768, ocupando a 249ª posição no Brasil. Sua população em 2010 era de 1.014.837 habitantes e possuía renda per capita de R\$ 805,36, equivalente a U\$ 351,69²⁸.

A coleta dos dados do BRISA ocorreu em três etapas: *baseline*, de fevereiro de 2010 a junho de 2011; primeiro seguimento (T1), de janeiro a dezembro de 2010 e no segundo seguimento (T2), de setembro de 2011 a março de 2013. Na coorte original foram incluídas 1447 gestantes entre 22 e 25 semanas de idade gestacional (T0/*baseline*). Foram acompanhadas 1381 (93,94%) mulheres por ocasião do nascimento do bebê (T1). Para esse estudo, foram incluídas todas as gestantes que pariram crianças pré-termo e uma amostra obtida por sorteio casual simples sem reposição das gestantes cujos filhos nasceram a termo, na proporção de 2:1, totalizando 327 díades (gestantes e seus filhos) – 109 pré-termo e 218 a termo. Essa amostra foi reavaliada quando as crianças tinham entre 15 e 36 meses de idade (T2). (Figura 1).

Estimou-se que essa amostra teria poder de 80% para identificar odds ratios significantes de 2:1, considerando-se probabilidade de erro tipo I de 5%, prevalência de 12% de exposição entre os controles.

Figura 1: Fluxograma da coorte pré-natal BRISA, São Luís – MA, 2010 a 2013.



Fonte: O Autor, 2018.

Coleta de Dados e Variáveis

As variáveis explicativas que representavam as características maternas e da criança foram coletados no *baseline*: 1) Características sociodemográficas [classe econômica da família, segundo a Associação Brasileira de Estudos e Pesquisas-ABEP (A/B; C ou D/E)²⁸ [ABEP, 2009]; 2) Atividade remunerada da gestante (sim ou não); 3) Anos de estudo da gestante (até 8 anos e > 8 anos); 4) Renda familiar (em salários mínimos e em quintis); 5) Níveis séricos da quimiocina RANTES (categorizada segundo a mediana da amostra 7489,00 pg/ml). O processamento da quimiocina no sangue coletado, entre 22^a e 25^a semana, foi através do equipamento luminex. Todos os reagentes utilizados foram a partir do kit miliplex adquiridos pela Merck (USA). O citômetro foi calibrado de acordo com as recomendações do fabricante. Os valores são reportados como pg/mL.

No T1 foram coletadas: 1) NPT, definido como o nascimento antes de 37 semanas gestacionais²⁹, segundo a data da última menstruação.

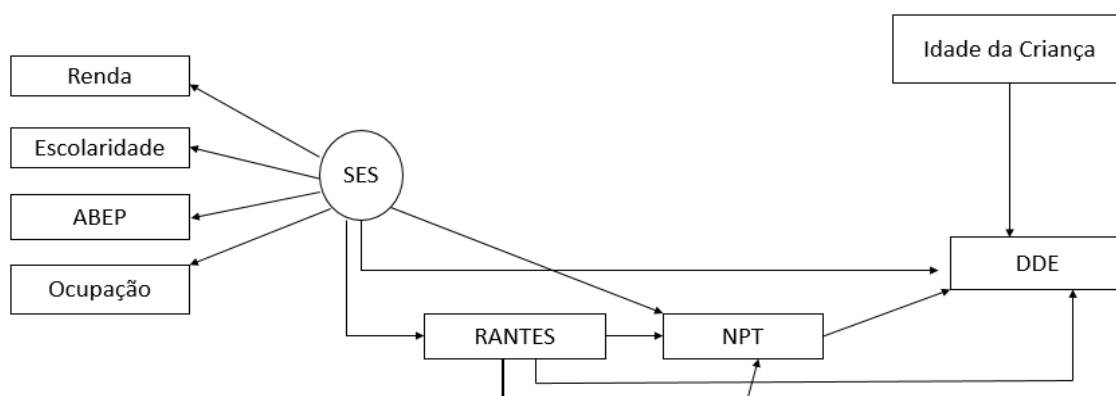
No T2 foi realizado o exame clínico odontológico para avaliação da variável resposta (DDE de origem intrauterina – DDE-iu), caracterizada pelo número presente de dentes com hipoplasia do esmalte, opacidades difusas e/ou opacidades demarcadas, segundo os critérios 1 a 8 (1-Opacidade demarcada; 2-Opacidade difusa; 3-Hipoplasia; 4-Outros defeitos; 5-Opacidade demarcada e difusa; 6-Opacidade demarcada e hipoplasia; 7-Opacidade difusa e hipoplasia; e 8-Todos os três defeitos) do índice de DDE modificado⁵. Considerou-se de origem intrauterina todos os defeitos presentes no terço incisal/oclusal dos dentes^{3,25}. Para isso, cada criança foi examinada em uma cadeira odontológica portátil, sob luz artificial, após secagem dos dentes com jatos de ar, utilizando-se sonda WHO-621 e espelho bucal, previamente esterilizados e acondicionados individualmente. Os exames odontológicos foram realizados por cinco dentistas previamente treinados ($\kappa > 0,8$).

Modelo Teórico Proposto

O modelo teórico proposto sugere que condições socioeconômicas desfavoráveis levariam a alterações na resposta imunológica materna, avaliada pela RANTES durante a gestação, aumentando o risco de NPT^{22,30}, um potencial fator de risco para DDE^{11,17,18}. Esta quimiocina afeta a resposta imunológica, desenvolvimento e maturação do feto^{16,31}, e tem sido associada ao NPT²³. Dessa forma, testam-se efeitos diretos dessa quimiocina na gravidez sobre a ocorrência de DDE-iu, bem como efeito indireto, mediado pelo NPT, ajustados para as condições socioeconômicas da família e idade da criança (Figura 2).

Para avaliar a situação socioeconômica foi criada uma latente com as variáveis referentes a mãe (classe econômica, anos de estudo da mãe, ocupação do chefe da família e renda família). As demais variáveis incluídas no modelo estão como observadas.

Figura 2. Modelo teórico considerando RANTES como preditora da cárie do DDE em crianças de 15 a 36 meses de idade.



Fonte: O Autor, 2018.

DDE: defeitos de desenvolvimento do esmalte.

NPT: nascimento pré-termo.

SES: situação sócio-econômica.

RANTES: Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted.

Processamento e Análise Estatística

Nas análises, inicialmente foram estimadas as frequências absolutas e percentuais e para as variáveis categóricas, bem como médias (\pm desvios-padrão) ou medianas (\pm desvios interquartílicos), respectivamente, para variáveis numéricas com distribuição simétrica ou assimétrica. Para isso foi utilizado o programa Stata 14.0 (Stata Corp., College Station, United States).

Para investigar o efeito da RANTES sobre DDE em crianças de 15 a 36 meses foi inicialmente proposto um modelo teórico, que foi testado por Modelagem por Equações Estruturais (MEE). As análises estatísticas foram realizadas por meio do software STATA/SE 14.0 (Stata Corp, College Station, Texas, EUA) e Mplus versão 7.0 (Muthén & Muthén, Los Angeles, EUA).

O modelo de equações estruturais consiste em dois sub-modelos: o modelo de mensuração, que estabelece como os constructos são medidos; e o modelo estrutural, que analisa o modelo teórico como um todo, onde as associações entre as variáveis são estimadas por cargas fatoriais padronizadas. As variáveis latentes, que definem os constructos, são representadas por círculos ou elipses e as variáveis observadas são representadas por quadrados ou retângulos.

A elaboração de uma variável latente é feita no modelo de mensuração, onde os indicadores da variável latente são especificados. Uma boa variável latente apresenta validade convergente, verificado pelas cargas fatoriais padronizadas com valores elevados (superior a 0,60). Além disso, as correlações entre indicadores não deve ser excessivamente alta ($> 0,85$), demonstrando que cada indicador mede aspectos distintos do constructo²⁵. Cargas fatoriais negativas indicam associação inversa e cargas positivas indicam associação direta³².

Os coeficientes padronizados do modelo estrutural serão interpretados da seguinte forma: coeficientes com valores próximos a 0,10 indica um efeito pequeno, 0,30 efeito médio e superior a 0,50 indica um efeito forte²⁵.

O ajuste dos modelos será analisado de acordo com os seguintes índices de qualidade de ajuste: Qui-quadrado (X^2); erro médio quadrático de aproximação (Root Mean Square

Error of Approximation – RMSEA); limite superior do intervalo de confiança de 90% do RMSEA; índices incrementais Comparative Fit Index (CFI) e Tucker-Lewis Index (TLI); e Weighted Root Mean Square Residual (WRMR). Os modelos serão considerados bem ajustados quando o valor do X^2 for maior que 0,05; RMSEA menor que 0,5; limite superior do IC90% do RMSEA menor que 0,08; CFI e TLI maiores que 0,90; e WRMR menor que 1,0^{33,34}.

RESULTADO

A prevalência de DDE-iu foi de 7,95%, representando 26 crianças com pelo menos um dente afetado. A média de dentes com DDE-iu foi de 0,18 ($\pm 0,85$), variando de zero a seis dentes.

Trinta e seis por cento das gestantes realizavam trabalhos manuais não especializados. A maioria da amostra pertencia à Classe C (65,14%) e possuíam entre nove e 11 anos de estudo (74,92%). A idade média da mãe foi de 25,9 anos (variando de 14 a 45) e a das crianças foi de 16,37 meses (variando de 12,3 a 36), com uma média de 9,76 dentes por criança (variando de 2 a 16). A média dos níveis séricos da citocina RANTES é de 8990,03 pg/mL (Tabela 1).

Tabela 1. Caracterização da população do estudo.

Variáveis qualitativas	n (327)	%	
Defeitos de desenvolvimento do Esmalte (DDE-IU)			
Sim	26	7.95	
Não	301	92.05	
Ocupação da mãe			
Não qualificada	82	25.08	
Manual não especializada	119	36.39	
Manual especializada	18	5.5	
Escritório	58	17.74	
Ensino Superior	20	6.12	
Gerente/Proprietário	7	2.14	
Sem informação	23	7.03	
Classe Socioeconômica			
A-B	53	16.11	
C	213	65.14	
D-E	44	13.46	
Sem informação	17	5.20	
Escolaridade Materna			
Até 4 anos	0.92	3	
5 a 8 anos	11.01	36	
9 a 11 anos	74.92	245	
12 ou mais	12.84	42	
Sem informação	0.31	1	
Variáveis quantitativas	x (dp)	med	Q1-Q3
Renda (R\$)	1431,37 (2863,40)	1210,00	722,00-2112,00
Idade da mãe	25,90 (5,69)	25,00	22,00-29,00
Idade da Criança	16,37 (2,63)	15,63	14,72-17,20
Rantes (pg/mL)	8990,03 (6512,67)	7489,00	3925,00-12330,00

O modelo apresentou bons índices de ajuste. A hipótese de igualdade entre os modelos testado e ideal não foi rejeitada. O erro médio quadrático de aproximação (Root Mean Square Error of Approximation – RMSEA) foi menor que 0,05. O limite superior do IC a 90% foi menor que 0,08. Os índices CFI e TLI apresentaram valores maiores que 0,95; e o WRMR foi menor que 1,00 (Tabela 2).

Tabela 2. Carga fatorial e p-valor para verificação da validade do construto e estrutura fatorial do modelo, estimativas padronizadas.

Índices de ajuste	Valores
Nº de parâmetros livres	27
Graus de liberdade	17
χ^2 ^a	20,869
P-valor do χ^2	0,232
RMSEA ^b	0,029
IC 90% do RMSEA ^c	0,000-0,065
CFI ^d	0,964
TLI ^e	0,941
WRMR ^f	0,609

DDE-iu: defeito de desenvolvimento do esmalte de origem intrauterina.

^aTeste Qui-Quadrado – χ^2 (referência: menor valor).

^bIntervalo de Confiança a 90% (referência: limite superior do IC90% menor que 0,08).

^cRoot Mean Square Error of Approximation – RMSEA (referência: menor que 0,05).

^dComparative Fit Index – CFI (referência: maior que 0,90).

^eTucker Lewis Index – TFI (referência: maior que 0,90).

^fWeighted Root Mean Square Residual – WRMR (referência: menor que 1,00).

Não foram identificados efeitos indiretos sobre a ocorrência de DDE-iu. Porém a RANTES apresentou efeito direto e negativo na ocorrência do DDE-iu (CFP=-0,160; P=0,021) (Tabela 3).

Tabela 3 Estimativas padronizadas de efeitos total, direto e indireto do modelo de predição dos níveis séricos de RANTES na gravidez sobre a incidência de Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte (DDE-iu).

Variáveis	Tipos de Efeito	CFP	P-valor
Efeito de SSE no DDE-iu	Total	0,057	0,452
	Indireto total	0,001	0,969
	Indiretos específicos		
	SSE →NPT→DDE-iu	0,007	0,541
	SSE→RANTES→DDE-iu	-0,006	0,654
	SSE→RANTES→NPT→DDE-iu	<0,001	0,723
	Direto	0,056	0,448
Efeito da RANTES no DDE-iu	Total	-0,153	0,029
	Indireto total	0,007	0,551
	Indiretos específicos		
	RANTES→NPT→DDE-iu	-0,007	0,551
	Direto	-0,160	0,021

DDE-iu: defeito de desenvolvimento do esmalte de origem intrauterina.

CFP: Carga fatorial padronizada

NPT: nascimento pré-termo

RANTES: Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secrete

DISCUSSÃO

Os menores níveis séricos de RANTES na gestante foram associados com maior ocorrência de DDE-*iu* na dentição temporária do bebê. No entanto, essa associação não foi explicado pelo NPT. Variáveis socioeconômicas também não explicaram o desfecho.

A associação entre RANTES, dosada na gestante, durante a 22^a e 25^a semana de gravidez, e DDE-*iu* não tem precedentes na literatura. A principal ação fisiológica da RANTES é atrair e recrutar linfócitos T CD4+ e linfócitos supressores CD8+^{15,16}, além de participar do processo de tolerância imunológica^{15,16}. Sabe-se que o íon cálcio, através do transporte, fluxo e processo de sinalização celular participa dos processos de secreção e maturação do esmalte^{35,36}. É possível que níveis mais baixos de RANTES no sangue, durante a gravidez interfiram no processo de amelogenese dos dentes, já que essa quimiocina influencia na despolarização celular induzida pelo influxo prolongado de cálcio (Ca++) e liberação de citocinas inflamatórias promotoras de adesão/agregação celular^{15,16,19,21,31}.

O fato da RANTES ter sido coletada entre a 22^a e a 25^a semana de gestação é considerado um aspecto importante neste estudo. Sabe-se que todos os dentes decíduos iniciaram o processo de mineralização do esmalte incisal/oclusal até 22^a semana de gravidez^{2,37}. Portanto o DDE, diagnosticado nos bebês, provavelmente foi influenciado por eventos estressores ocorridos, compreendendo o período em que foi dosada essa quimiocina no sangue materno. Isso possibilita uma maior precisão cronológica ao se investigar a associação entre a RANTES e o DDE.

A associação entre NPT e DDE é bastante controversa. Há relatos de que o NPT aumentaria o risco de DDE^{8,9}; enquanto outros autores não encontraram tal associação^{12,13}. Poucas evidências são oriundas de coortes com grande tamanho amostral, de base populacional e com adequada estimação da idade gestacional⁹. Diferenças na metodologia empregada para o diagnóstico do DDE e principalmente a grande amplitude na faixa etária das crianças incluída nos estudos podem enviesar os resultados. A presença de uma linha incremental distinta (linha neonatal), relacionada ao momento do nascimento, permite distinguir entre esmalte prenatal e pós-formado e também possibilita a datação dessas alterações biológicas^{37,38,39}, porém a cronologia de formação do esmalte dentário não tem sido considerada na maioria das investigações^{3,40}. Portanto, não é possível mensurar nestes estudos se o DDE foi adquirido durante o período intra-uterino ou pós-natal^{3,40}. É possível que o DDE-*iu*, investigado nesse estudo, esteja condicionado a eventos imunológicos e inflamatórios ocorridos até a sexta semana de gestação e não ao NPT, propriamente dito, na amostra estudada.

Os fatores socioeconômicos, neste trabalho, não foram apontados como fatores de risco para o DDE-*iu*. Esse resultado difere com aquilo já encontrado pela literatura^{6,7}. Porém essa associação entre baixa situação socioeconômica e a hipoplasia no esmalte tem sido explicada pela nutrição inadequada e pelas condições médicas⁴¹. Portanto, é possível que o fator nutricional também exerça influência sobre o DDE de maneira mais proximal como um reflexo da condição socioeconômica do indivíduo, desde a gestação⁷.

São algumas limitações desse estudo a amostra ser de conveniência; e a não inclusão de algumas variáveis no modelo, como a anemia e outras deficiências nutricionais maternas. Porém, a amostra apresentou poder suficiente para identificar algumas associações e a procedência da amostra de um hospital universitário na capital do Maranhão, Brasil, se por

um lado reduz a validade externa dos achados, contribui para reduzir a possibilidade de viés de confundimento.

Destaca-se nesse estudo a modelagem por equações estruturais, em que as interações entre as múltiplas exposições e desfechos são avaliadas em conjunto, permitindo investigar hipóteses etiológicas de mediação. Além disso, a seleção de DDE de origem intrauterina como desfecho permite análises mais apuradas do efeito de exposições durante o período gestacional. O desfecho foi considerado como variável discreta, aumentando o poder do estudo, enquanto a maioria das investigações considera o desfecho apenas dicotômico. O desenho de coorte é o mais adequado para analisar hipóteses etiológicas em que a exposição é um evento deletério, impossibilitando os ensaios clínicos randomizados. Por fim, a aferição do NPT, dos níveis séricos de RANTES e dos DDE de forma objetiva e padronizada permitiu a investigação mais consistente de novas hipóteses etiológicas para a ocorrência de DDE-*iu*.

CONCLUSÃO

Neste estudo, o DDE-*iu* na dentição decídua foi explicado pela diminuição dos níveis séricos da quimiocina RANTES em grávidas com 22 a 25 semanas de idade gestacional. A resposta imunológica materna pode ser considerada um fator potencialmente relevante para a ocorrência de DDE na dentição decídua, apontando para a necessidade de maior controle da saúde da mulher na gestação a fim de reduzir problemas no esmalte dentário do bebê.

CONFLITOS DE INTERESSES

Não há conflito de interesse.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Programa de Apoio a Núcleos de Excelência (PRONEX); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. M., Rythén, N., Sabel, W., Dietz, A., Robertson, J.G., Norén. Chemical aspects on dental hard tissues in primary teeth from preterm infants. *Eur. J. Oral. Sci.* 118(4) (2010) 389-395. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00755.x>
- [2]. N., Sabel. Enamel of primary teeth-morphological and chemical aspects. *Swed. Dent. J. Suppl.* 222 (2012) 1-77.
- [3]. J.R., Pinho, F.L., Filho, E.B., Thomaz, S.A., Libério, E.B., Ferreira. Are low birth weight, intrauterine growth restriction, and preterm birth associated with enamel developmental defects? *Pediatr. Dent.* 34(3) (2012) 244–8.
- [4]. G.J., Armelagos, A.H., Goodman, K.N., Harper, M.L., Blakey. Enamel hypoplasia and early mortality: Bioarcheological support for the Barker hypothesis. *Evolutionary Anthropology.* 18(6) (2009) 261-271. <https://doi.org/10.1002/evan.20239>
- [5]. F.D., Internationale. A review of the developmental defects of enamel index (DDE index): Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. *Int. Dent. J.* 42(6) (1992) 411-426.

- [6]. A.F.B., Oliveira, A.M.B., Chaves, A., Rosenblatt. The influence of enamel defects on the development of early childhood caries in a population with low socioeconomic status: a longitudinal study. *Caries. Res.* 40(4) (2006) 296-302. <http://dx.doi.org/10.1159/000093188>.
- [7]. A.C.D.T.L., Massoni, A.F.B.D., Oliveira, A.M.B., Chaves, F.C., Sampaio, A., Rosenblatt. Socioeconomic factors, nutritional risk, and enamel defects in children from João Pessoa, Paraíba State, Brazil. *Cad saude publica.* 23(12) (2007) 2928-2937. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2007001200014>.
- [8]. A.J., Rugg-Gunn, S.M., Al-Mohammadi, T.J., Butler. Malnutrition and developmental defects of enamel in 2-to 6-year-old saudi boys. *Caries. Res.*, 32(3) (1998) 181-192. <http://dx.doi.org/10.1159/000016451>
- [9]. S.W., Seow. Developmental defects of enamel and dentine: challenges for basic science research and clinical management. *Aust. Dent. J.* 59(1) (2014) 143-54. <http://dx.doi.org/10.1111/adj.12104>
- [10]. R., Masumo, A., Bårdsen, A.N., Åstrøm. Developmental defects of enamel in primary teeth and association with early life course events: a study of 6–36 month old children in Manyara, Tanzania. *BMC Oral Health*, 13(21) (2013). <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6831-13-21>
- [11]. M.A., Vello, C., Martínez-Costa, M., Catala, J., Fons, J., Brines, R., Guijarro-Martínez. Prenatal and neonatal risk factors for the development of enamel defects in low birth weight children. *Oral. Dis.* 16(3) (2010) 257-262. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01629.x>
- [12]. P., Corrêa-Faria, P.A., Martins-Júnior, R.G., Vieira-Andrade, F., Oliveira-Ferreira, L.S., Marques, M.L., Ramos-Jorge. Developmental defects of enamel in primary teeth: prevalence and associated factors. *Int. J. Paediatr. Dent.* 23(3) (2013) 173-179. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-263X.2012.01241.x>
- [13]. P., Corrêa-Faria, P.A., Martins-Junior, R.G., Vieira-Andrade, L.S., Marques, M.L., Ramos-Jorge. Perinatal factors associated with developmental defects of enamel in primary teeth: a case-control study. *Braz. Oral. Res.* 27(4) (2013) 363-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242013005000017>.
- [14]. F., Vargas-Ferreira, M.M.S., Salas, G.G., Nascimento, S.B.C., Tarquinio, C.M., Faggion. Association between developmental defects of enamel and dental caries: A systematic review and meta-analysis. *J. Dent.* 43(6) (2015) 619-628. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2015.03.011>
- [15]. B., Królak-Olejnik, I., Olejnik. Late-preterm cesarean delivery and chemokines concentration in the umbilical cord blood of neonates. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 25(9) (2012) 1810-1813. <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2012.664194>
- [16]. H., Martynowicz, A., Janus, D., Nowacki, G., Mazur. The role of chemokines in hypertension. *Adv. Clin. Exp. Med.* 23(3) (2014) 319-325.
- [17]. I.M., Schüler, S., Haberstroh, K., Dawczynski, T., Lehmann, R., Heinrich-Weltzien. Dental Caries and Developmental Defects of Enamel in the Primary Dentition of Preterm Infants: Case-Control Observational Study. *Caries. Res.* 52(1-2) (2018) 22-31. <http://dx.doi.org/10.1159/000480124>
- [18]. Y., Wagner. Developmental defects of enamel in primary teeth-findings of a regional German birth cohort study. *BMC Oral Health*, 17(10) (2016) <http://dx.doi.org/10.1186/s12903-016-0235-7>
- [19]. M., Maritati, M., Comar, N., Zanotta, S., Seraceni, A., Trentini, F., Corazza, F., Vesce, C., Contini. Influence of vaginal lactoferrin administration on amniotic fluid cytokines and its role against inflammatory complications of pregnancy. *J. Inflamm (Lond)*. 15(14) (2017). <http://dx.doi.org/10.1186/s12950-017-0152-9>

- [20]. J.H., Tinsley, V.L., Chiasson, S., South, A., Mahajan, B.M., Mitchell. Immunosuppression improves blood pressure and endothelial function in a rat model of pregnancy-induced hypertension. *Am. J. Hypertens.* 22(10) (2009) 1107-14. <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2009.125>
- [21]. Y.C., Liu, Y.T., Kao, W.K., Huang, K.Y., Lin, S.C, Wu, S.C., Hsu, S.C, Schuyler, L.Y., Li, L., Leigh, F., Lu, J., Lu. CCL5/RANTES is important for inducing osteogenesis of human mesenchymal stem cells and is regulated by dexamethasone. *Biosci Trend* 8(3) (2014) 138-143.
- [22]. E., Grasso, S., Gori, D., Papparini, E., Soczewski, L., Fernández, L., Gallino, G., Salamone, G., Martinez, M., Irigoyen, C., Ruhlmann, C.P., Leirós, R., Ramhorst. VIP induces the decidualization program and conditions the immunoregulation of the implantation process. *Mol Cell Endocrinol* 460 (2018) 63-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2017.07.006>.
- [23]. J.M., Schlütter, I., Kirkegaard, O.B., Petersen, N., Larsen, B., Christensen, D.M., Hougaard, S., Kølvråa, N., Ulbjerg. Fetal gender and several cytokines are associated with the number of fetal cells in maternal blood—an observational study. *PloS one*, 9(9) (2014) <http://dx.doi.org/e106934>. 10.1371/journal.pone.0106934.
- [24]. K.B., Kline. Principles and practice of structural equation modeling. New York: The Guilford Press, (2011).
- [25]. K.B., Kline. Principles and practice of structural equation modeling. Guilford publications, (2015).
- [26]. E.A.B.F, Thomaz, C.M.C, Alves, C.C.C., Ribeiro, R.F.L., Batista, V.M.F., Simões, R., Cavalli, A.A.M.D., Silva. Perinatal outcomes and changes in the oral cavity: Brazilian cohorts of Ribeirão Preto and São Luís. *Rev. Brasil. Epidemiol.* 18(4) (2015) 966-970. <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5497201500040023>
- [27]. A.A.M., da Silva, V.M.F., Simões, M.A., Barbieri, V.C., Cardoso, C.M.C, Alves, E.B.A.F., Thomaz. A protocol to identify non-classical risk factors for preterm births: the Brazilian Ribeirão Preto and São Luís prenatal cohort (BRISA). *Reprod. Health* 11(79) (2014). <http://dx.doi.org/10.1186/1742-4755-11-79>
- [28]. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa. Códigos e guias: CCEB—Critério de Classificação Econômica Brasil. São Paulo: ABEP; 2009. Available: <http://www.abep.org/criterio-brasil>.
- [29]. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD). Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDHM). Disponível em: <http://www.pnud.org.br/idh/IDHM.aspx?indiceAccordion=0&li=li_IDHM>. Acesso em 05 mar. 2017.
- [30]. E., Laresgoiti-servitje, N., Gómez-lópez, D.M., Olson. An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. *Hum Reprod Update.* 16(5) (2010) 510-24. <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmq007>
- [31]. N.P., Rudemiller, S.D., Crowley. The role of chemokines in hypertension and consequent target organ damage. *Pharmacol Res.* 119 (2017) 404-411. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2017.02.026>
- [32]. L.K., Muthén, B.O., Muthér. Mplus User's Guide: Statistical Analysis with Latent Variables: User's Guide. Muthén & Muthén. (2004).
- [33]. K.F., Cook, M.A., Kallen, D., Amtmann. Having a Fit: Impact of Number of Items and Distribution of Data on Traditional Criteria for Assessing IRT's Unidimensionality Assumption. *Qual. Life. Res.* 18(4) (2009) 447–460. <http://dx.doi.org/10.1007/s11136-009-9464-4>
- [34]. K., Schermelleh-Engel, H., Moosbrugger, H., Müller. Evaluating the fit of structural equation models: tests of significance and descriptive goodness-of-fit measures. *Methods. Psychol. Res. Online.* 8(8) (2003) 23–74

- [35]. E., Beniash, R.A., Metzler, R.S., Lam, P.U., Gilbert. Transient amorphous calcium phosphate in forming enamel. *J Stru Biol*, 166(2) (2009) 133-143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2009.02.001>
- [36]. R.S., Lacruz, S., Habelitz, J.T., Wright, M.L., Paine. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiol. Rev.* 97(3) (2017) 939-993. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>.
- [37]. N., Sabel, C., Johansson, J., Kühnisch, A., Robertson, F., Steiniger, J.G., Norén. Neonatal lines in the enamel of primary teeth—a morphological and scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol*, 53(10) (2008) 954-963. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2008.05.003>
- [38]. R.C., Lunt, D.B., Law. A review of the chronology of calcification of deciduous teeth. *J. Am. Dent. Assoc.* 89(3) (1974) 599-606.
- [39]. A.H., Goodman, G.J., Armelagos, J.C., Rose. The chronological distribution of enamel hypoplasias from prehistoric Dickson Mounds populations. *Am J Phys Anthropol*, 65(3) (1984) 259-266. <http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330650305>
- [40]. J.R.O, Pinho, F., Lamy, E.B.A.F., Thomaz, Z.C., Lamy, M.C.F.N., da Cruz, S.A., Lábério. Prevalência de defeitos de desenvolvimento de esmalte na dentição decídua adquiridos na vida intrauterina. *Rev. Bras. Odontol. Rio de Janeiro.* 68(1) (2011) 108-23. <http://dx.doi.org/10.18363/rbo.v68n1.p.118>
- [41]. P.W., Caufield, Y., Li, T.G., Bromage. Hypoplasia-associated severe early childhood caries—a proposed definition. *J. Dent. Res.* 91(6) (2012) 544-50.

Artigo a ser submetido na Revista European Journal of Oral Science

Infecções bacterianas maternas e Defeitos de desenvolvimento do Esmalte no Bebê: uma análise de Efeito Causal

Resumo

A etiologia dos defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE) ainda não está completamente elucidada. Objetivou-se estudar se as infecções bacterianas maternas interferem na ocorrência de DDE. Trata-se de uma coorte prospectiva, na qual o binômio mãe-criança (865) foi avaliado em três momentos: pré-natal (entre 22 e 25 semanas de idade gestacional), por ocasião do nascimento do bebê e quando a criança tinha entre 15 e 36 meses de idade. O desfecho (DDE) foi avaliado de forma numérica, segundo o índice de DDE modificado. A variável explicativa principal foi a presença de infecções bacterianas na gestação. As variáveis incluídas no ajuste foram: situação socioeconômica, baixo peso ao nascer, idade da mãe, número de consultas pré-natal, hipertensão, diabetes, uso de medicamentos durante a gravidez, e idade da criança. Para inferir causalidade, foi utilizado o escore de propensão e a regressão Poisson robusta, considerando P-valor < 0.05. Foi observado que após o ajuste mínimo, as infecções bacterianas maternas não interferem na incidência do DDE (IRR = 1.13; IC95% = 0.51-2.47). As infecções bacterianas, durante a gravidez, não causam DDE na população estudada.

Palavras-Chave: Hipoplasia do Esmalte Dentário. Infecção. Infecções do Sistema Genital. Esmalte Dentário.

Introdução

O desenvolvimento do esmalte dentário decíduo inicia-se na vida intrauterina e se completa após um ano de nascimento (1). É possível identificar uma linha neonatal, no esmalte e dentina dos dentes decíduos e permanentes, que é vista como um marco biológico de nascimento. O esmalte formado antes da linha neonatal é o intrauterino, enquanto o formado posteriormente, é considerado o extrauterino. (1,2). Portanto, os DDE podem ser considerados biomarcadores de estresse que ocorridos nos períodos pré, neo e pós-natais, conforme a Hipótese de Barker, na qual se estipula que os eventos ocorridos em período passado têm consequências em épocas posteriores(3,4,5).

A etiologia do DDE não está bem compreendida, porém tem sido associada às condições adversas ao nascimento, como o baixo peso ao nascer (6), o nascimento pré-termo (7) e a restrição de crescimento intra-uterino (8). Porém, essa relação não é consensual na literatura (9). Os fatores socioeconômicos (4,10), consumo de cigarro (6) durante a gravidez, preeclâmpsia (11), diabetes gestacional (11), uso de antiepilépticos (12), deficiências nutricionais (4,13) também têm sido apontados como potenciais fatores de risco para o DDE, na dentição decídua.

O histórico de doenças infecciosas e congênitas em crianças, como a sífilis congênita (16,17), foi sugerido como um fator predisponente para o DDE nas dentições decídua e permanente (4,14,15). Ainda não se sabe se as infecções no trato urogenital – a exemplo do corrimento vaginal (CV) e infecção do trato urinário (ITU) – durante a gravidez interferem no processo de formação do esmalte do bebê. Porém, há evidências de associação entre essas infecções bacterianas e as condições adversas ao nascimento (16-22). Poucos estudos, no entanto, avaliaram os fatores de risco para a ocorrência de DDE, diferenciando os defeitos de origem intrauterina daqueles de origem extrauterina (8,23)

A odontogênese é consequência de uma série complexa de interações de sinais celulares recíprocos entre o epitélio odontogênico e o mesênquima odontogênico derivado da crista neural, em resposta a estímulos genéticos e ambientais (24). Dado que este processo inicia-se no período in utero, exposições ambientais e a saúde materna têm potencial influência no desenvolvimento dentário do bebê. É possível, portanto, que as infecções bacterianas maternas, a exemplo de CV, ITU e sífilis, possam interferir no processo de secreção e maturação do esmalte dos dentes do bebê, aumentando a ocorrência de DDE-in utero na dentição decídua, independente de outros fatores de risco.

Este estudo busca analisar se a presença de infecções bacterianas durante a gravidez pode aumentar a ocorrência de DDE-in utero.

Materiais e Métodos

Delineamento do Estudo:

É uma coorte prospectiva de gestantes na cidade de São Luís-MA – coorte BRISA (25,26). A coleta dos dados do BRISA ocorreu em três etapas: *baseline*, de fevereiro de 2010 a junho de 2011; primeiro seguimento (T1), de janeiro a dezembro de 2010 e no segundo seguimento (T2), de setembro de 2011 a março de 2013.

Na coorte original foram incluídas 1447 gestantes entre 22 e 25 semanas de idade gestacional. Foram acompanhadas 1381 (95,85%) mulheres por ocasião do nascimento do bebê (T1). Essa amostra foi reavaliada quando as crianças tinham entre 15 e 36 meses de idade (T2), realizando-se exame odontológico em uma amostra de 865 crianças. Estimou-se que uma amostra mínima de 821 sujeitos (binômio mãe-bebê) teria poder de 85% para identificar riscos relativos significantes de 1,7 considerando na proporção de 2:1 entre expostos e não expostos, prevalência de 16% de DDE na dentição decídua (PINHO et. al, 2011), nível de confiança de 95%, efeito de desenho (deff) de 1,2 e excesso de 20% para compensar possíveis perdas.

Exposição principal:

A presença de infecções bacterianas durante a gravidez foi considerada como a exposição de interesse nesse estudo. Essa variável, categórica, foi criada a partir de três informações presentes no questionário aplicado à mãe durante o momento do nascimento (T1): ocorrência de sífilis, corrimento vaginal e infecção urinária, durante a gravidez.

Variáveis Confundidoras:

No *baseline*: 1) Características sociodemográficas [classe econômica da família, segundo a Associação Brasileira de Estudos e Pesquisas-ABEP (A/B; C ou D/E)[27]; idade da mãe e da criança, em anos];

No T1: 1) Hipertensão durante a gravidez (sim ou não); 2) Diabetes durante a gravidez; 3) Uso de medicamento durante a gravidez (sim ou não); 4) Número de consultas pré-natais (0-3 consultas, 4-5 consultas e 6 ou mais consultas); e 5) BPN, definido como bebê que nasceu com peso inferior a 2500 gramas.

Variável Dependente:

No T2 foi realizado o exame clínico odontológico para avaliação da variável resposta (DDE-*iu*), caracterizada pelo número presente de dentes com hipoplasia do esmalte, opacidades difusas e/ou opacidades demarcadas, segundo os critérios 1 a 8 (1-Opacidade demarcada; 2-Opacidade difusa; 3-Hipoplasia; 4-Outros defeitos; 5-Opacidade demarcada e difusa; 6-Opacidade demarcada e hipoplasia; 7-Opacidade difusa e hipoplasia; e 8-Todos os três defeitos) do índice de DDE modificado (27). Considerou-se de origem intrauterina, o defeito presente no terço incisal/oclusal dos dentes (8,23). Para isso, cada criança foi examinada em uma cadeira odontológica portátil, sob luz artificial, após secagem dos dentes com jatos de ar, utilizando-se sonda WHO-621 e espelho bucal, previamente esterilizados e

acondicionados individualmente. Os exames odontológicos foram realizados por cinco dentistas previamente treinados ($\kappa > 0,8$).

Crítérios de Inclusão, não Inclusão e Exclusão:

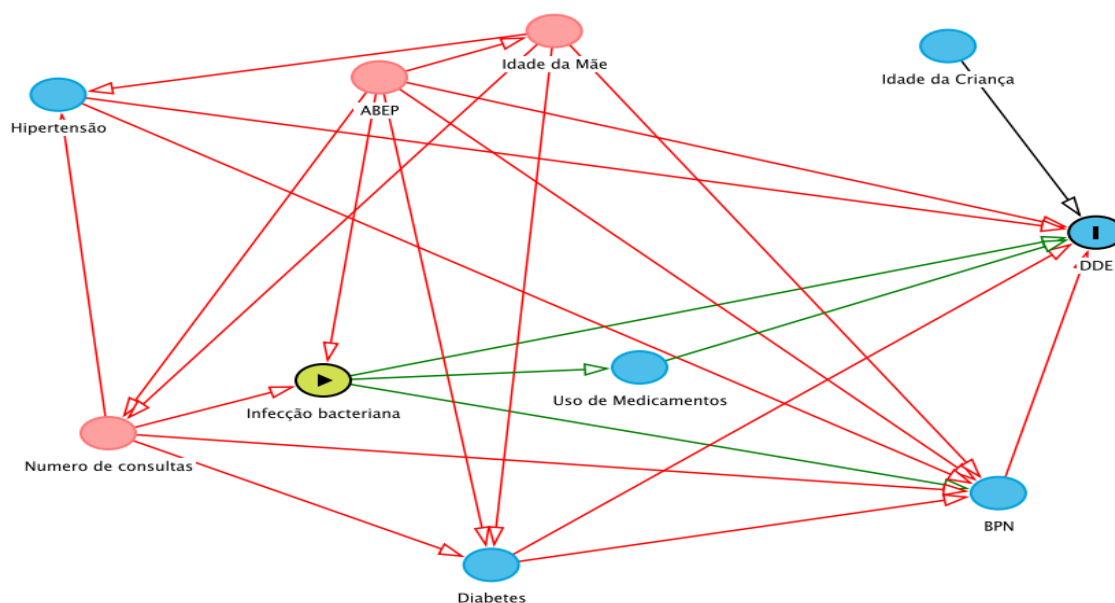
Para que a gestante fosse incluída nesta coorte (BRISA), era necessária uma ultrassonografia obstétrica antes da 20ª semana de gestação e ser recrutada para o estudo quando estivesse entre 22 e 25 semanas de idade gestacional, para a coleta de dados. Não foram incluídos gemelares. Crianças que morreram, não acompanhadas no seguimento, as que se recusaram a realizar o exame odontológico e aquelas cujas mães se recusassem a participar do estudo foram consideradas como perda.

Análise Estatística:

Foi realizada a análise descritiva das variáveis estudadas, no software STATA 14.0. As variáveis categóricas foram descritas por meio de frequências absolutas e relativas. As variáveis numéricas foram representadas por meio de média e desvio padrão.

A análise deste estudo foi realizada por meio de inferência causal para verificar o efeito da ocorrência de infecções bacterianas durante a gravidez no número de dentes com DDE. Inicialmente foi elaborado um modelo teórico de causalidade estabelecido por meio de Directed Acyclic Graphs (DAG). Nestes gráficos, foram consideradas a variável de exposição principal, dependente e confundidoras. Estabeleceu-se entre todas as variáveis relações de causa e efeito representadas por setas (Figura 1).

Figura 1: Modelo teórico dos fatores gestacionais e perinatais.



Fonte: O Autor, 2018.

Para a elaboração desses modelos gráficos foi utilizado o programa Dagitty versão 3.2 (28).

Para a definição do conjunto mínimo de variáveis a serem ajustadas nas análises foi considerando o critério da porta de trás (*backdoor*) (29). A estimativa do efeito das infecções bacterianas sob o DDE-iu em crianças foi realizada utilizando-se o método de pareamento por escores de propensão. Este método permite a obtenção de um grupo controle com características observáveis semelhantes às aquelas existentes no grupo de tratamento. Após a obtenção desses grupos, estimaram-se as diferenças médias entre os grupos de tratamento e de controle em relação às variáveis de resposta. Neste trabalho, a presença de infecção materna durante a gestação foi considerada como o grupo de tratamento. A estimação por ponderação foi conduzida. Foram consideradas significantes as variáveis com p-valor < 0,05.

RESULTADOS

A prevalência de pelo menos um dente com DDE-iu foi de 8,56%, representando 74 crianças. A média de dentes por criança com DDE-iu foi de 0,23 ($\pm 1,05$), variando de zero a dezesseis dentes.

A maioria das gestantes pertenciam à Classe C (70,22%) e relataram ter tido alguma infecção bacteriana durante a gravidez (61,488%). Apenas 2,68% relataram diabetes gestacional. A idade média das mães foi de 26,11 anos (variando de 14 a 45) e a das crianças foi de 16,37 meses (variando de 12,3 a 36) (Tabela 1).

Para análise do efeito das infecções bacterianas no DDE-iu, a classe econômica e o número de consultas durante o pré-natal foram as variáveis indicadas para o ajuste mínimo da associação. Os balanços foram atingidos através do escore de propensão (Figuras 1 e 2).

Não foi observado efeito causal entre a presença de infecções bacterianas e DDE, mesmo após a realização do ajuste mínimo (Tabela 2).

Tabela 1. Caracterização da amostra de gestantes e crianças – São Luís, Maranhão.

Variáveis qualitativas	n (1347)	%
Defeitos de desenvolvimento do Esmalte (DDE-IU)		
Sim	74	8.56
Não	791	91.44
Número de Consultas Pré-Natal		
Até 3 consultas	11	1.45
4-5 consultas	106	13.98

6 ou mais consultas	641	84.56	
Classe Socioeconômica			
A-B	124	15.01	
C	580	70.22	
D-E	122	14.77	
Baixo Peso ao Nascer			
Acima de 2500 gramas	810	94.52	
Abaixo de 2500 gramas	47	5.48	
Diabetes Gestacional			
Não	1344	97.25	
Sim	37	2.68	
Infecção Bacteriana durante a gravidez			
Sim	529	61.48	
Não	332	38.56	
Variáveis quantitativas	x (dp)	med	Q1-Q3
Idade da mãe	25,90 (5,69)	25,00	22,00-29,00
Idade da Criança	16,37 (2,63)	15,63	14,72-17,20
Nº de dentes com DDE-IU	0,23 (1,05)	0,00	0,00-0,00

Tabela 2. Análise de Efeito Causal: Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte e Infecções Bacterianas.

	Coef.	IC 95%	P-valor
Presença de Infecção ¹	-0.92	-0.23-0.49	0.202

Coef.: Coeficiente IC95%: Intervalo de Confiança 95% P-Valor < 0.05

DISCUSSÃO

Neste trabalho, a ocorrência de infecções bacterianas durante a gravidez não interferiu no risco de desenvolver DDE-iu, mesmo após balanceio dos grupos considerando a classe econômica e o número de consultas pré-natais.

Infecções bacterianas e congênitas no bebê, como a sífilis (16,17), e virais, como o sarampo (30) e varíola (30,31), já foram referidas como possíveis fatores de risco para o DDE. Porém, os estudos apresentam grande variabilidade na idade das crianças e nos

critérios de diagnóstico das exposições e do desfecho. A literatura aponta que a febre, inflamação sistêmica, presença de infecções bacterianas e virais na criança (32) e o momento do uso do medicamento – se na gestação ou após o nascimento (33-35) –, podem interferir na ocorrência de DDE. A maioria desses trabalhos, porém, apresenta amostra de conveniência e desenho de estudo transversal. Até o presente momento, foi identificado apenas um estudo no qual se investigou o papel de infecções maternas durante a gravidez na ocorrência de DDE-*iu* na dentição decídua, porém não foi observada a associação com o DDE (36). Nosso estudo está em concordância com esse estudo, pois as infecções bacterianas (CV, ITU e sífilis) não se relacionaram ao desfecho. É possível que a baixa prevalência do desfecho estudado tenha interferido nas associações encontradas, em direção da hipótese nula.

Outra possível explicação para a não associação pode ser relacionada ao adequado funcionamento da barreira placentária e ao não desenvolvimento de infecção no feto, mesmo com a infecção materna. A placenta humana é o centro funcional da unidade mãe-feto, desempenhando funções respiratória, nutritiva, excretora, endócrina e imunológica (37). Consiste no local de trocas de nutrientes e gases entre a mãe e o feto (38). É constituída por tecidos fetais derivados do saco coriônico e por tecidos maternos derivados do endométrio. A face fetal é formada pelas vilosidades coriônicas e envolve o feto durante toda a gestação, interagindo diretamente com o sistema imune materno. Essa região é ricamente vascularizada e contém os macrófagos placentários (células Hofbauer). A face materna é formada pela decídua basal e se relaciona diretamente com as vilosidades coriônicas, sendo que a maioria das trocas materno-fetais ocorrem na sua região terminal (39).

Na interface útero-placenta, há a membrana placentária que é responsável pela separação do sangue da mãe e do conceito. Sua ação consiste em uma barreira protetora e isolante, que protege o embrião de substâncias tóxicas e microorganismos infecciosos do sangue periférico materno. Ao mesmo tempo, essa barreira permite a migração de nutrientes essenciais para o desenvolvimento fetal. Alguns vírus e bactérias, entretanto, conseguem atravessar a barreira placentária e atingir a circulação fetal, favorecendo a ocorrência de infecções fetais e anomalias congênitas (40,41). Apesar do impacto devastador das infecções microbianas no desenvolvimento do feto, pouco se sabe sobre como patógenos violam a barreira placentária, durante a gravidez humana (42). Alguns autores referem que alterações estruturais e funcionais nas vilosidades coriônicas da barreira placentária podem contribuir para a transmissão vertical (43). Outros referem que a transmissão congênita depende de interações complexas entre os microorganismos, as respostas imunológicas materna e fetal e fatores placentários (44). Já foi demonstrado em modelos *in vitro* e *in vivo*, que as citocinas

IL-1 β (interleukin 1 beta) e TGF- β (transforming growth factor beta) alteram a permeabilidade seletiva da barreira placentária, na presença de corioamnionite (45,46).

Por outro lado, ainda que as prevalências autoreferidas de CV (51,6%) e ITU (27,7%) tenham sido altas, não há evidências apontando que os microorganismos relacionados a esses eventos sejam capazes de atravessar a barreira placentária e interferir no desenvolvimento fetal. Microorganismos virais, como o HIV, zika vírus, vírus do varicela zoster, vírus da rubéola, vírus da herpes citomegalovírus (49-52) – e bacterianos – como o *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Trypanosoma cruzi* (53-60) têm sido mais frequentemente estudados. Pelo nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo que avaliou empiricamente a associação entre infecções bacterianas na gestação e a presença de DDE-*iu* nos bebês. Alguns autores apontam as infecções (sem distinguir as ocorridas no período *iu* das pós-natais) como potenciais fatores de risco, em estudos de revisão da literatura (61). Outros estudaram o papel de infecções no período pós-natal na ocorrência de DDE em humanos (62-64) ou em modelo animal (65). Apenas um estudo, realizado no Brasil, em uma amostra de 222 crianças avaliadas ao nascer e com 12 a 36 meses, avaliou o papel de algumas condições pré e pós-natais na ocorrência de DDE na dentição decídua (4); e identificou associação de DDE com infecção materna durante a gestação. No entanto, os autores não classificaram os DDE de acordo com a sua posição no dente, de modo a diferenciar os defeitos de origem *iu* dos pós-natais. Além disso, não foram consideradas separadamente as infecções bacterianas das demais infecções (4). Fomos capazes de identificar evidências de associação entre infecção congênita de DDE em crianças apenas considerando o citomegalovírus (66-68).

No presente estudo, não foram identificadas crianças portadoras de sífilis congênita, mesmo nos seis casos de mulheres que referiram diagnóstico de sífilis na gestação. É provável que essas mulheres tenham iniciado precocemente o tratamento para a doença; e que as bactérias tenham sido adequadamente isoladas pela barreira placentária, não chegando a causar danos ao feto. No Brasil, o acesso ao pré-natal é universal (47). Boa parte das gestantes tiveram acesso a no mínimo seis consultas, ao longo da gravidez, quantidade preconizada pelo Ministério da Saúde (48). É possível que o maior acesso ao pré-natal nessa amostra tenha contribuído para a não instalação de infecções bacterianas mais graves, durante a gravidez, além de ter permitido que o tratamento fosse estabelecido em fases ainda precoces do desenvolvimento dentário.

Diferenças na metodologia empregada para o diagnóstico do DDE, infecções e, principalmente, diferenças na faixa etária das crianças incluída nos estudos e no período de

avaliação dos eventos dificultam a comparação dos resultados desse estudo com os demais. A presença de uma linha incremental distinta (linha neonatal), relacionada ao momento do nascimento, permite distinguir entre esmalte prenatal e pós-formado e também permite a datação dessas alterações biológicas, porém a cronologia de formação do esmalte dentário não tem sido considerada na maioria das investigações (8,23). Portanto, não é possível mensurar nos demais estudos se o DDE foi adquirido durante o período intra-uterino ou pós-natal.

São algumas limitações desse estudo a variável de exposição não ter sido avaliada por um critério diagnóstico objetivo; e a não inclusão de algumas variáveis no modelo, como a presença de outras infecções bacterianas e virais, anemia e as deficiências nutricionais maternas. Porém, são pontos fortes do estudo o desenho de coorte prospectiva, o mais adequado para analisar hipóteses etiológicas na impossibilidade de ensaios clínicos; o grande tamanho amostral, contribuindo para aumentar o poder do estudo para identificar associações.

Destaca-se, ainda, que este é o primeiro estudo sobre DDE a utilizar inferência causal, utilizando DAGs para selecionar potenciais confundidores, o que contribui para reduzir a possibilidade de viés de confundimento. Além disso, a seleção de DDE de origem intrauterina como desfecho permite análises mais apuradas do efeito de exposições, durante o período gestacional. O desfecho foi considerado como variável discreta, aumentando o poder do estudo, enquanto a maioria das investigações considera o desfecho apenas dicotômico. Por fim, a aferição do DDE-*iu* de forma objetiva e padronizada permitiu a investigação mais consistente de novas hipóteses etiológicas para a ocorrência do mesmo.

Neste estudo, o DDE-*iu* na dentição decídua não foi influenciado pela ocorrência de infecções bacterianas da mãe, durante a gestação.

REFERÊNCIAS

1. Rythén M, Sabel N, Dietz W, Robertson A, Norén JG. Chemical aspects on dental hard tissues in primary teeth from preterm infants. *Eur J Oral Sci* 2010 **118**: 389-395.
2. Berbesque JC, Doran GH. Brief communication: physiological stress in the Florida Archaic-enamel hypoplasia and patterns of developmental insult in early North American hunter-gatherers. *Am J Phys Anthropol* 2008 **136**: 351-356.
3. Sabel N. Enamel of primary teeth-morphological and chemical aspects. *Swed Dent J Suppl* 2012 **222**:1-77

4. Chaves AMB, Rosenblatt A, Oliveira OFB. Enamel defects and its relation to life course events in primary dentition of Brazilian children: a longitudinal study. *Community Dent Health* 2007 **24**: 31-6.
5. Massoni AC, Chaves AM, Rosenblatt A, Sampaio FC, Oliveira AF. Prevalence of enamel defects related to pre, peri-and postnatal factors in a Brazilian population. *Community Dent Health* 2009 **26**: 143-49.
6. Vello MA, Martínez-Costa C, Catala M, Fons J, Brines J, & Guijarro-Martínez R. Prenatal and neonatal risk factors for the development of enamel defects in low birth weight children. *Oral diseases* 2010 **16**:257-262.
7. Lunardelli SE, Peres MA. Prevalence and distribution of developmental enamel defects in the primary dentition of pre-school children. *Braz Oral Res* 2005 **19**: 144-9.
8. Pinho JR, Filho FL, Thomaz EB, et al. Are low birth weight, intrauterine growth restriction, and preterm birth associated with enamel developmental defects? *Pediatr Dent*. 2012 **34**:244–8.
9. Jacobsen PE, Haubek D, Henriksen TB, Ostergaard JR, Poulsen S. Developmental enamel defects in children born preterm: a systematic review. *Eur J Oral Sci* 2014 **122**:7-14.
10. Mackay TD, Thomson WM. Enamel defects and dental caries among Southland children. *N Z Dent J* 2005 **101**: 35-.
11. Seow WK. Enamel hypoplasia in the primary dentition: a review. *ASDC J Dent Child* 1991 **58**: 441–452.
12. Jacobsen PE, Henriksen TB, Haubek D, & Østergaard JR. (2013). Developmental enamel defects in children prenatally exposed to anti-epileptic drugs. *PloS one* 2013 **8**:e58213.
13. Rugg-Gunn AJ, Al-Mohammadi SM, Butler TJ. Malnutrition and developmental defects of enamel in 2- to 6-year-old Saudi boys. 1998 *Caries Res* **32**: 181–192.
14. Arrow P. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. *Community Dent Oral epidemiol* 2009 **37**: 405-415.

15. Tapias-Ledesma MA, Jiménez R, Lamas F, González A, Carrasco P, De Miguel AG. Factors associated with first molar dental enamel defects: a multivariate epidemiological approach. *J Dent Child* 2003 **70**: 215-220.
16. Lauc T, Fornai C, Premužić Z, Vodanović M, Weber GW, Mašić B, Šikanjić PR. Dental stigmata and enamel thickness in a probable case of congenital syphilis from XVI century Croatia. *Arch Oral Biol*, 2015 **60**: 1554-1564.
17. Ioannou S, Sassani S, Henneberg M, Henneberg RJ. Diagnosing congenital syphilis using Hutchinson's method: Differentiating between syphilitic, mercurial, and syphilitic-mercurial dental defects. *Am J Phys Anthropol*. 2016 **159**: 617-629.
18. Brabant G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2016 **45**: 1247-1260.
19. Bretelle F, Fenollar F, Baumstarck K, Fortanier C, Cocallemen JF et al. Screen-and-treat program by point-of-care of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in preventing preterm birth (AuTop trial): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 2015 16: 470.
20. Lee AC, Quaiyum MA, Mullany LC, Mitra DK, Labrique A, Ahmed P, et al. Screening and treatment of maternal genitourinary tract infections in early pregnancy to prevent preterm birth in rural Sylhet, Bangladesh: a cluster randomized trial. *BMC preg child*, 2015 **15**: 326.
21. Schneeberger C, Geerlings SE, Middleton P, Crowther CA. Interventions for preventing recurrent urinary tract infection during pregnancy. *The Cochrane Library* 2015.
22. Witkin . The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 2015 **122**: 213-218.
23. Pinho JRO et al (2011). Prevalência de defeitos de desenvolvimento de esmalte na dentição decídua adquiridos na vida intrauterina. *Rev. Bras. Odontol.* Rio de Janeiro. 68:108-23

24. Wada K, Kanazawa H, Kudo M, Kindaichi J, Miyashin M. Management of developmental enamel defects in the primary dentition. *Journal of oral science*, 2017 **59**: 457-460.
25. Thomaz EBAF, Alves CMC, Ribeiro CCC, Batista RFL, Simões VMF, Cavalli R et al . Perinatal outcomes and changes in the oral cavity: Brazilian cohorts of Ribeirão Preto and São Luís. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 2015 **18**: 966-970.
26. da Silva AAM, Simões, VMF, Barbieri, MA, Cardoso VC, Alves CMC, Thomaz EBAF. A protocol to identify non-classical risk factors for preterm births: the Brazilian Ribeirão Preto and São Luís prenatal cohort (BRISA). *Reproductive Health* **2014** **11**:79.
27. Internationale FD. A review of the developmental defects of enamel index (DDE index): Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. *Int Dent J*. 1992 **42**: 411-426.
28. Textor J, Hardt J, Knüppel S. DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. *Epidemiology*, 2011 **22**: 745.
29. Cortes TR, Faerstein E, Struchiner CJ. Use of causal diagrams in Epidemiology: application to a situation with confounding. *Cadernos de Saúde Pública* 2016, **32**:8.
30. Sönmez H, Yıldırım G, Bezgin T. Putative factors associated with molar incisor hypomineralisation: an epidemiological study. *European Archives of Paediatric Dentistry* 2013 **14**: 375-380.
31. Suckling GW, Herbison GP, Brown RH. Etiological factors influencing the prevalence of developmental defects of dental enamel in nine-year-old New Zealand children participating in a health and development study. *J Dent Res*. 1987 **66**: 1466-1469.
32. Seow WK. Developmental defects of enamel and dentine: challenges for basic science research and clinical management. *Aust Dent J*. 2014 **1**:143-54.
33. Wuollet E, Laisi S, Salmela E, Ess A, Alaluusua S. Molar-incisor hypomineralization and the association with childhood illnesses and antibiotics in a group of Finnish children. *Acta Odontol Scand* 2016 **74**:416-422.
34. Fagrell TG, Salmon P, Melin L, Norén JG. Onset of molar incisor hypomineralization (MIH). *Swed Dent J* 2013 **37**:61-70.

35. Hysi D, Kuscu OO, Droboniku E, Toti C, Xhemnica L, Caglar E. Prevalence and aetiology of Molar-Incisor Hypomineralisation among children aged 8-10 years in Tirana, Albania. *Eur J Paediatr Dent.* 2016 **17**:75-79.
36. Vargas-Ferreira F, Peres MA, Dumith SC, Thomson WM, Demarco FF. Association of Pre-Peri-and Postnatal Factors with Developmental Defects of Enamel in Schoolchildren. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 2017.
37. Oliveira LH, Xavier CC, Lana A. Changes in placental morphology of small for gestational age newborns. *Jornal de pediatria*, 2002 **78**: 397-402.
38. Cross JC. Placental function in development and disease. *Reproduction, Fertility and Development*, 2005 **18**: 71-76.
39. Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thrombosis Research*, 2004 **114**: 397-407.
40. Singh P, Agnihotri SK, Tewari MC, Kumar S, Sachdev M, Tripathi RK. HIV-1 Nef breaches placental barrier in rat model. *PloS one*, 2012 **7**: e51518.
41. Martinez J, Santiago MR, Souza DA et al. The role of the placenta in the vertical transmission of HIV-1. *Medicina (Ribeirão Preto. Online)* 2016;49(1): 80-85.
42. Arora N, Sadovsky, Y., Dermody TS, Coyne CB. Microbial vertical transmission during human pregnancy. *Cell host & Microbe*, 2017 **21**: 561-567.
43. Díaz-Luján C, Triquell MF, Castillo C, Hardisson D, Kemmerling U, Fretes RE. Role of placental barrier integrity in infection by *Trypanosoma cruzi*. *Acta tropica*, 2016 **164**: 360-368.
44. Liempi A, Castillo C, Carrillo I, Muñoz L, Droguett D, Galanti N, Kemmerling U. A local innate immune response against *Trypanosoma cruzi* in the human placenta: The epithelial turnover of the trophoblast. *Microbial pathogenesis*, 2016 **99**: 123-129.
45. Tossetta G, Paolinelli F, Avellini C, Salvolini E, Ciarmela P, Lorenzi T et al. IL-1 β and TGF- β weaken the placental barrier through destruction of tight junctions: An in vivo and in vitro study. *Placenta*, 2014 **35**: 509-516.
46. Gurevich PS, Benhur H, Shperling ID, Moldavskiĭ MI, Zusman, IN. Immunopathomorphology of the human placental barrier in the first trimester of

- pregnancy complicated by the inflammation of the birth-ways. *Arkhiv patologii*, 2005 **67**: 6-9.
47. Ben-Hur H, Gurevich P, Elhayany A, Avinoach I, Schneider DF, Zusman I. Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *International journal of molecular medicine*, 2005 **16**: 401-407.
48. Viellas EF, Domingues RMSM, Dias MAB, Gama SGND, Theme Filha MM, Costa JV. Prenatal care in Brazil. *Cadernos de saude publica* 2014 30: S85-S100.
49. Saraceni V, Domingues RMSM, Vellozo V, Lauria LDM, Dias MAB, Ratto KMN, Durovni B. Vigilância da sífilis na gravidez. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2007 **16**: 103-111.
50. Zanluca C, de Noronha L, Duartedos Santos CN. Maternal-fetal transmission of the zika virus: an intriguing interplay. *Tissue Barriers* 2017.
51. Lucenko MT, Andrievskaya IA, Dolzhikova IV. Energy Metabolism in the Placenta and the Role of Disturbances in the Development of Placental Insufficiency at an Exacerbation of Cytomegalovirus Infection. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk*, 2016 **71**: 177-182.
52. Muller WJ, Jones CA, Koelle DM. Immunobiology of herpes simplex virus and cytomegalovirus infections of the fetus and newborn. *Current immunology reviews*, 2010 **6**: 38-55.
53. Vidricaire G, Tremblay MJ. For a better understanding of the mechanisms involved in vertical transmission of HIV. *Medecine sciences: M/S*, 2004 **20**: 784-787.
54. Liempi A, Castillo C, Carrillo I, Muñoz L, Droguett D, Galanti N et al. A local innate immune response against *Trypanosoma cruzi* in the human placenta: The epithelial turnover of the trophoblast. *Microbial pathogenesis*, 2016 **99**: 123-129.
55. Díaz-Luján C, Triquell MF, Castillo C, Hardisson D, Kemmerling U, Fretes RE. Role of placental barrier integrity in infection by *Trypanosoma cruzi*. *Acta tropica*, 2016 **164**: 360-368.

56. Carrillo I, Droguett D, Castillo C, Liempi A, Munoz L, Maya JD et al. Caspase-8 activity is part of the BeWo trophoblast cell defense mechanisms against *Trypanosoma cruzi* infection. *Experimental parasitology*, 2016 **168**: 9-15.
57. Blaszkowska J, Górska K. Parasites and fungi as a threat for prenatal and postnatal human development. *Annals of parasitology*, 2014 **60**.
58. Wujcicka W, Wilczyński J, Nowakowska D. Do the placental barrier, parasite genotype and Toll-like receptor polymorphisms contribute to the course of primary infection with various *Toxoplasma gondii* genotypes in pregnant women?. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2014 **33**: 703-709.
59. Wang MF, Lai SC. Fibronectin degradation by MMP-2/MMP-9 in the serum of pregnant women and umbilical cord with *Toxoplasma gondii* infection. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2013 **33**: 370-374.
60. Castillo C, Villarroel A, Duaso J, Galanti N, Cabrera G, Maya JD, Kemmerling U. (2013). Phospholipase C gamma and ERK1/2 mitogen activated kinase pathways are differentially modulated by *Trypanosoma cruzi* during tissue invasion in human placenta. *Experimental parasitology*, 2013 **133**: 12-17.
61. Pindborg JJ. (1982). Aetiology of developmental enamel defects not related to fluorosis. *International Dental Journal*, 1982 **32**: 123-134.
62. Wong HM, Peng SM, Wen YF, King NM, McGrath CP. Risk factors of developmental defects of enamel-a prospective cohort study. *PloS one*, 2014 **9**: e109351.
63. Suckling GW, Herbison GP, Brown RH. Etiological factors influencing the prevalence of developmental defects of dental enamel in nine-year-old New Zealand children participating in a health and development study. *Journal of dental research*, 1987 **66**: 1466-1469.
64. Leviton A, Rabinowitz MM, Iverson K. Antecedents and correlates of hypoplastic enamel defects of primary incisors. *Pediatric dentistry*, 1992 **14**: 159.
65. Suckling G, Elliott DC, Thurley DC. (1983). The production of developmental defects of enamel in the incisor teeth of penned sheep resulting from induced parasitism. *Archives of Oral Biology*, 1983 **28**: 393-399.

66. Stagno S, Pass RF, Thomas JP, Navia JM, Dworsky ME. Defects of tooth structure in congenital cytomegalovirus infection. *Pediatrics*. 1982 **69**: 646-8.
67. Jaskoll T, Abichaker G, Htet K, Bringas P, Morita S, Sedghizadeh PP, Melnick M. Cytomegalovirus induces stage-dependent enamel defects and misexpression of amelogenin, enamelin and dentin sialophosphoprotein in developing mouse molars. *Cells Tissues Organs*. 2010 **192**: 221-39.
68. Jaskoll T, Abichaker G, Jangaard N, Bringas P Jr, Melnick M. Cytomegalovirus inhibition of embryonic mouse tooth development: a model of the human amelogenesis imperfecta phenocopy. *Arch Oral Biol*. 2008 **53**:405-15.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta é a primeira coorte iniciada durante a gestação que testou hipóteses etiológicas de DDE-*iu* na dentição decídua utilizando análises de equações estruturais. Esse tipo de análise permitiu uma investigação mais consistente de novas hipóteses etiológicas para a ocorrência de DDE-*iu*.

Neste trabalho foi observado o efeito direto e negativo da quimictona RANTES sobre o DDE. Porém, essa associação não foi mediada pelo NPT.

A resposta imunológica materna pode ser considerada um fator etiológico relevante para a ocorrência de DDE na dentição decídua. Esses achados apontam para a necessidade de maior controle da saúde da mulher na gestação a fim de reduzir problemas no esmalte dentário do bebê.

Infecções maternas ocorridas durante a gestação não foram causas independentes de DDE-*iu* na dentição decídua de crianças entre 15 e 36 meses de idade.

Os achados desse estudo apontam para a necessidade de maior controle da saúde da mulher na gestação a fim de reduzir problemas no esmalte dentário do bebê.

REFERÊNCIAS

AAGAARD-TILLERY, Kjersti M.; SILVER, Robert; DALTON, J. Immunology of normal pregnancy. **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**, v. 11, n. 5, p. 279-95, 2006.

ALDINUCCI, D.; COLOMBATTI, A. The Inflammatory Chemokine CCL5 and Cancer Progression. **Mediators Inflamm.**, v. 2014, n. 292376, 12p., 2014.

ALIJOTAS-REIG, J.; LLURBA, E.; GRIS, J. M. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. **Placenta**, v. 35, n. 4, p. 241-8, 2014.

APPAY, V.; ROWLAND-JONES, S. L. RANTES: a versatile and controversial chemokine. **Trends Immunol**, v. 22, n. 2, p. 83-7, Fev. 2001.

ARROW, Peter. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. **Community dentistry and oral epidemiology**, v. 37, n. 5, p. 405-15, 2009.

ATHAYDE, N. et al. A role for the novel cytokine RANTES in pregnancy and parturition. **Am J Obstet Gynecol**, v. 181, n. 4, p. 989-94, Oct 1999.

BAGATTONI, S. et al. Oral health and dental late adverse effects in children in remission from malignant disease. A pilot case-control study in Italian children. **European journal of paediatric dentistry: official journal of European Academy of Paediatric Dentistry**, v. 15, n. 1, p. 45-50, 2014.

Bhaskar SN. **Histologia e embriologia oral de Orban**. São Paulo: Artes Médicas; 1978.

BEJAR, Raul et al. Premature labor. II. Bacterial sources of phospholipase. **Obstetrics & Gynecology**, v. 57, n. 4, p. 479-82, 1981.

BRABANT, G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth. **Journal de gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction**, v. 45, n. 10, p. 1247-60, 2016.

BRETELLE, Florence et al. Screen-and-treat program by point-of-care of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in preventing preterm birth (AuTop trial): study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 16, n. 1, p. 470, 2015.

BURRIDGE, Keith; WENNERBERG, Krister. Rho and Rac take center stage. **Cell**, v. 116, n. 2, p. 167-79, 2004.

CAMPOS, Vera; CRUZ, Roberval de Almeida; MELLO, Hilton Souchois A. **Diagnóstico e tratamento das anomalias da odontogênese**. Ed. Santos, 2004.

CAUCI, Sabina. Vaginal immunity in bacterial vaginosis. **Current infectious disease reports**, v. 6, n. 6, p. 450-6, 2004.

CHAVES, A. M. B.; ROSENBLATT, A.; OLIVEIRA, O. F. B. Enamel defects and its relation to life course events in primary dentition of Brazilian children: a longitudinal study. **Community dental health**, v. 24, n. 1, p. 31, 2007.

CHARO, I. F.; RANSOHOFF, R. M. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. **N Engl J Med.**, v. 354, n. 6, p. 610-21, 2006.

CLARKSON, J. Review of terminology, classifications, and indices of developmental defects of enamel. **Adv Dent Res.**, v. 3, n. 2, p. 104-9, 1989.

CLEVERS, Hans. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease. **Cell**, v. 127, n. 3, p. 469-80, 2006.

CAUFIELD, P. W.; LI, Y.; BROMAGE, T. G. Hypoplasia-associated severe early childhood caries—a proposed definition. **Journal of dental research**, v. 91, n. 6, p. 544-50, 2012.

CORRÊA-FARIA, PATRÍCIA et al. Developmental defects of enamel in primary teeth: prevalence and associated factors. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 23, n. 3, p. 173-9, 2013.

COBOURNE, Martyn T.; SHARPE, Paul T. Tooth and jaw: molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. **Archives of oral biology**, v. 48, n. 1, p. 1-14, 2003.

CORREA-FARIA et al. Factors associated with the development of early childhood caries among Brazilian preschoolers. **Brazilian oral research**, v. 27, n. 4, p. 356-62, 2013.

CORTES, Taísa Rodrigues; FAERSTEIN, Eduardo; STRUCHINER, Claudio José. Use of causal diagrams in Epidemiology: application to a situation with confounding. **Cadernos de saude publica**, v. 32, n. 8, 2016.

COOK, Karon F.; KALLEN, Michael A.; AMTMANN, Dagmar. Having a fit: impact of number of items and distribution of data on traditional criteria for assessing IRT's unidimensionality assumption. **Quality of Life Research**, v. 18, n. 4, p. 447-60, 2009.

COX, S. M.; MACDONALD, P. C.; CASEY, M. L. Cytokines and prostaglandins in amniotic fluid of preterm labor pregnancies: decidual origin in response to bacterial toxins (lipopolysaccharide {LPS} and lipoteichoic acid {LTA}). In: **36th Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation**. 1989. p. 16.

DA SILVA, Antônio Augusto Moura et al. A protocol to identify non-classical risk factors for preterm births: the Brazilian Ribeirão Preto and São Luís prenatal cohort (BRISA). **Reproductive health**, v. 11, n. 1, p. 79, 2014.

DE BRITO PEREIRA, Thaís Basso et al. Regulatory cytokine expression and preterm birth: case-control study nested in a cohort. **PloS one**, v. 11, n. 8, p. e0158380, 2016.

ELFRINK, M. E. C. et al. Mineral content in teeth with Deciduous Molar Hypomineralisation (DMH). **Journal of dentistry**, v. 41, n. 11, p. 974-8, 2013.

FDI WORKING GROUP et al. A review of the developmental defects of enamel index (DDE index): Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. **Int Dent J**, v. 42, n. 6, p. 411-26, 1992.

FINCHAM, A. G.; MORADIAN-OLDAK, J.; SIMMER, J. P. The structural biology of the developing dental enamel matrix. **Journal of structural biology**, v. 126, n. 3, p. 270-99, 1999.

FORD, D. et al. A controlled study of risk factors for enamel hypoplasia in the permanent dentition. **Pediatric dentistry**, v. 31, n. 5, p. 382-8, 2009.

GRASSO, E. et al. VIP contribution to the decidualization program: regulatory T cell recruitment. **J Endocrinol.**, v. 221, p. 121-31, 2014.

GOLDENBERG, Robert L.; HAUTH, John C.; ANDREWS, William W. Intrauterine infection and preterm delivery. **New England journal of medicine**, v. 342, n. 20, p. 1500-07, 2000.

GUERGOLETTE, R. P. et al. Prevalence of developmental defects of enamel in children and adolescents with asthma. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 4, p. 295-300, 2009.

GUSTAFSON, A. G. A morphological investigation of certain variations in the structure and mineralization of human dental enamel. **Odontologisk Tidsskrift**, p. 365-466, 1959.

HELMCKE, J.-G.; SCHULZ, L.; SCOTT, D. B. Querstreifung der menschlichen Schmelzprismen. **Deutsche Zahnärztl. Z**, v. 18, p. 569-575, 1963.

HONG, Liang et al. Association of amoxicillin use during early childhood with developmental tooth enamel defects. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 159, n. 10, p. 943-8, 2005.

JACOBSEN, Pernille E. et al. Developmental enamel defects in children prenatally exposed to anti-epileptic drugs. **PloS one**, v. 8, n. 3, p. e58213, 2013.

JACOBSEN, Pernille E. et al. Developmental enamel defects in children born preterm: a systematic review. **European journal of oral sciences**, v. 122, n. 1, p. 7-14, 2014.

JEYABALAN, Arundhathi; LAIN, Kristine Y. Anatomic and functional changes of the upper urinary tract during pregnancy. **Urologic Clinics of North America**, v. 34, n. 1, p. 1-6, 2007.

KATOH, Masaru. WNT/PCP signaling pathway and human cancer. **Oncology reports**, v. 14, n. 6, p. 1583-8, 2005.

Katchburian E, Arana-Chavez VE. **Histologia e embriologia oral**. 2.ed. São Paulo: Panamericana Guanabara Koogan; 2004.

KLIN, R. B. **Principles and practice of structural equation modeling**. 2nd Ed. New York: Guilford Press, 2004.

KOBAYASHI, Tatiana Yuriko; VITOR LLR, CARRARA CFC et al. Dental enamel defect diagnosis through different technology-based devices. **International dental journal**, 2017.

KRAMER, Michael S. Intrauterine growth and gestational duration determinants. **Pediatrics**, v. 80, n. 4, p. 502-11, 1987.

KRÓLAK-OLEJNIK, Barbara; OLEJNIK, Igor. Late-preterm cesarean delivery and chemokines concentration in the umbilical cord blood of neonates. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 25, n. 9, p. 1810-3, 2012.

KRAUSS-SILVA, Leticia et al. Basic vaginal pH, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis: prevalence in early pregnancy and risk of spontaneous preterm delivery, a prospective study in a low socioeconomic and multiethnic South American population. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 14, n. 1, p. 107, 2014.

LA SALA, G. B. et al. Protein microarrays on midtrimester amniotic fluids: a novel approach for the diagnosis of early intrauterine inflammation related to preterm delivery. **Int J Immunopathol Pharmacol.**, v. 25, n. 4, p. 1029-40, 2012.

LARESGOITI-SERVITJE, Estibalitz et al. An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. **Human reproduction update**, v. 16, n. 5, p. 510-24, 2010.

LEE, Anne C. C. et al. Screening and treatment of maternal genitourinary tract infections in early pregnancy to prevent preterm birth in rural Sylhet, Bangladesh: a cluster randomized trial. **BMC pregnancy and childbirth**, v. 15, n. 1, p. 326, 2015.

LEITICH, Harald et al. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 189, n. 1, p. 139-47, 2003.

LOH, Keng Yin; SIVALINGAM, Nalliah. Urinary tract infections in pregnancy. **Malaysian family physician**, v. 2, n. 2, p. 4, 2007.

LUNARDELLI, Sandra Espíndola; PERES, Marco Aurélio. Prevalence and distribution of developmental enamel defects in the primary dentition of pre-school children. **Brazilian oral research**, v. 19, n. 2, p. 144-49, 2005.

LV, Ping; GAO, X. J. [Phenotype analysis and the molecular mechanism of enamel hypoplasia]. **Journal of Peking University. Health sciences**, v. 41, n. 1, p. 121-3, 2009.

MASSLER, M.; SCHOUR, I. Growth of the child and the calcification pattern of the teeth. **Am J Orthod Oral Surg**, v. 32, p. 495-517, 1946.

MARFAING-KOKA, A. et al. Regulation of the production of the RANTES chemokine by endothelial cells. Synergistic induction by IFN-gamma plus TNF-alpha and inhibition by IL-4 and IL-13. **J Immunol**, v. 154, n. 4, p. 1870-8, Feb 1995.

MARITATI, Martina et al. Influence of vaginal lactoferrin administration on amniotic fluid cytokines and its role against inflammatory complications of pregnancy. **Journal of Inflammation**, v. 14, n. 1, p. 5, 2017.

MASSONI, Andreza Cristina de Lima Targino et al. Socioeconomic factors, nutritional risk, and enamel defects in children from João Pessoa, Paraíba State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. 12, p. 2928-37, 2007.

MASUMO, Ray; BÅRDSSEN, Asgeir; ÅSTRØM, Anne Nordrehaug. Developmental defects of enamel in primary teeth and association with early life course events: a study of 6–36 month old children in Manyara, Tanzania. **BMC Oral Health**, v. 13, n. 1, p. 21, 2013.

MASTORA, A. et al. Developmental defects of enamel in first permanent molars associated with use of asthma drugs in preschool aged children: A retrospective case-control study. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 18, n. 2, p. 105-11, 2017.

MATSUOKA, Takashi et al. Increase of cord blood cytokine-producing T cells in intrauterine infection. **Pediatrics International**, v. 43, n. 5, p. 453-7, 2001.

MIRAHMADIAN, Mahroo et al. Association of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-10 Gene Polymorphisms in Iranian Patients with Pre-eclampsia. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 60, n. 2, p. 179-85, 2008.

NEEDLEMAN, Howard L. et al. Antecedents and correlates of hypoplastic enamel defects of primary incisors. **Pediatric dentistry**, v. 14, n. 3, p. 158-66, 1991.

NELSON, S. et al. Increased enamel hypoplasia and very low birthweight infants. **Journal of dental research**, v. 92, n. 9, p. 788-94, 2013.

NG, Pak C. et al. Early prediction of sepsis-induced disseminated intravascular coagulation with interleukin-10, interleukin-6, and RANTES in preterm infants. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1181-9, 2006.

NORÉN, J. G. Enamel structure in deciduous teeth from low-birth-weight infants. **Acta Odontol Scand**, v. 41, p. 355-62, 1983.

OBARA, Nobuko; SUZUKI, Yuko; TAKEDA, Masako. Gene expression of β -catenin is up-regulated in inner dental epithelium and enamel knots during molar tooth morphogenesis in the mouse. **Cell and tissue research**, v. 325, n. 1, p. 197-201, 2006.

OWEN, L. N. The effects of administering tetracyclines to young dogs with particular reference to localization of the drugs in the teeth. **Archives of oral biology**, v. 8, n. 6, p. 715-19, 1963.

PAINÉ, Michael L. et al. Enamel biomineralization defects result from alterations to amelogenin self-assembly. **Journal of structural biology**, v. 132, n. 3, p. 191-200, 2000.

PAJARI, Ulla; LANNING, Marjatta; LARMAS, Markku. Prevalence and location of enamel opacities in children after anti-neoplastic therapy. **Community dentistry and oral epidemiology**, v. 16, n. 4, p. 222-6, 1988.

PITIPHAT, W. et al. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. **European journal of oral sciences**, v. 122, n. 4, p. 265-70, 2014.

PISPA, Johanna; THESLEFF, Irma. Mechanisms of ectodermal organogenesis. **Developmental biology**, v. 262, n. 2, p. 195-205, 2003.

PINHASI, R. et al. Morbidity, rickets and long-bone growth in post-medieval Britain—a cross-population analysis. **Annals of human biology**, v. 33, n. 3, p. 372-89, 2006.

PINHO, J. R. O. et al. Are low birth weight, intrauterine growth restriction, and preterm birth associated with enamel developmental defects?. **Pediatric dentistry**, v. 34, n. 3, p. 244-8, 2012.

RAMHORST, Rosanna et al. Implication of RANTES in the modulation of alloimmune response by progesterone during pregnancy. **American journal of reproductive immunology**, v. 57, n. 2, p. 147-52, 2007.

ROBINSON, C. et al. Control of crystal growth during enamel maturation. **Connective tissue research**, v. 22, n. 1-4, p. 765-71, 1989.

ROBINSON, Colin et al. The developing enamel matrix: nature and function. **European Journal of Oral Sciences**, v. 106, n. S1, p. 282-91, 1998.

ROMERO, Roberto; MAZOR, Moshe. Infection and preterm labor. **Clinical obstetrics and gynecology**, v. 31, n. 3, p. 553-84, 1988.

ROMERO, Roberto et al. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 166, n. 5, p. 1576-87, 1992.

SABANDAL, Martin M. I. et al. Review of the dental implications of X-linked hypophosphataemic rickets (XLHR). **Clinical oral investigations**, v. 19, n. 4, p. 759-68, 2015.

SAITO, Shigeru; SAKAI, Masatoshi. Th1/Th2 balance in preeclampsia. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 59, n. 2, p. 161-73, 2003.

SASAKI, T.; TAKAGI, M.; YANAGISAWA, T. Structure and function of secretory ameloblasts in enamel formation. **Ciba Found Symp**, v. 205, n. 32, p. 46-50, 1997.

SADOWSKY, Drew W. et al. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 195, n. 6, p. 1578-89, 2006.

SCHALL, T. J. et al. A human T cell-specific molecule is a member of a new gene family. **J Immunol**, v. 141, n. 3, p. 1018-25, Aug 1988.

SCHIEVE, Laura A. et al. Urinary tract infection during pregnancy: its association with maternal morbidity and perinatal outcome. **American Journal of Public Health**, v. 84, n. 3, p. 405-10, 1994.

SCHNARR, J.; SMAILL, F. Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections in pregnancy. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 38, n. 2, p. 50-7, 2008.

SCHOUR, I. The neonatal line in enamel and dentin of the human deciduous teeth and first permanent molar. **Jour. A.D.A.**, v. 23, n. 10, p. 1946-55, 1936.

SEOW, W. K. Developmental defects of enamel and dentine: challenges for basic science research and clinical management. **Australian Dental Journal**, v. 59, n. 1, p. 143-54, 2014.

SEPPALA, Maisa et al. Tooth development: 1. Generating teeth in the embryo. **Dental update**, v. 33, n. 10, p. 582-591, 2006.

SCHLÜTTER, Jacob Mørup et al. Fetal gender and several cytokines are associated with the number of fetal cells in maternal blood—an observational study. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e106934, 2014.

SCHNEEBERGER, Caroline et al. Interventions for preventing recurrent urinary tract infection during pregnancy. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 11, 2012.

SERNA, Clara et al. Drugs related to the etiology of molar incisor hypomineralization: a systematic review. **The Journal of the American Dental Association**, v. 147, n. 2, p. 120-30, 2016.

SILVA, Antônio Augusto Moura da, et al. A protocol to identify non-classical risk factors for preterm births: the Brazilian Ribeirão Preto and São Luís prenatal cohort (BRISA). **Reproductive Health**, v. 11, p. 79, 2014.

SILVA, Antônio Augusto Moura da, et al. Changes in perinatal health in two birth cohorts (1997/1998 and 2010) in São Luís, Maranhão State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 31, n. 7, p. 1437-50, jul. 2015.

SIMMER, J. P. et al. Hypomaturation enamel defects in Klk4 knockout/LacZ knockin mice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 28, p. 19110-21, 2009.

SÖNMEZ, H.; YILDIRIM, G.; BEZGIN, T. Putative factors associated with molar incisor hypomineralisation: an epidemiological study. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 14, n. 6, p. 375-80, 2013.

SYKES, Lynne et al. Targeting immune activation in the prevention of preterm labour. **European Obstetrics and Gynaecology**, v. 6, n. 2, p. 100-06, 2011.

SYKES, Lynne et al. The Th1: th2 dichotomy of pregnancy and preterm labour. **Mediators of Inflammation**, v. 2012, 12p, 2012.

SZARKA, András et al. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. **BMC Immunology**, v. 11, n. 1, p. 1, 2010.

TAKAOKA, Liliana Aparecida Mendonça Vespoli et al. Enamel defects in the complete primary dentition of children born at term and preterm. **Pediatric dentistry**, v. 33, n. 2, p. 171-6, 2011.

Ten Cate AR. Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001

TEXTOR, Johannes; HARDT, Juliane; KNÜPPEL, Sven. DAGitty: a graphical tool for analyzing causal diagrams. **Epidemiology**, v. 22, n. 5, p. 745, 2011.

THESLEFF, Irma; MIKKOLA, Marja. The role of growth factors in tooth development. **International Review of Cytology**, v. 217, p. 93-135, 2002.

THESLEFF, I. Current understanding of the process of tooth formation: transfer from the laboratory to the clinic. **Australian dental journal**, v. 59, n. s1, p. 48-54, 2014.

THOMAZ, Érika Bárbara Abreu Fonseca et al. Desfechos perinatais e alterações na cavidade bucal: coortes brasileiras de Ribeirão Preto e São Luís. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 18, n. 4, p. 966-970, 2015.

TERMINE, J. D. et al. U. Properties of dissociatively extracted fetal tooth matrix proteins. I. Principal molecular species in developing bovine enamel. **Journal of Biological Chemistry**, v. 255, n. 20, p. 9760-8, 1980.

TSANG, R. C.; DONOVAN, E. F.; STEICHEN, J. J. Calcium physiology and pathology in the neonate. **Pediatric Clinics of North America**, v. 23, n. 4, p. 611-26, 1976.

TUCKER, Abigail; SHARPE, Paul. The cutting-edge of mammalian development; how the embryo makes teeth. **Nature reviews. Genetics**, v. 5, n. 7, p. 499, 2004.

WAGNER, Yvonne. Developmental defects of enamel in primary teeth-findings of a regional German birth cohort study. **BMC Oral Health**, v. 17, n. 1, p. 10, 2016.

VEEMAN, Michael T.; AXELROD, Jeffrey D.; MOON, Randall T. A second canon: functions and mechanisms of β -catenin-independent Wnt signaling. **Developmental cell**, v. 5, n. 3, p. 367-77, 2003.

VELLÓ, M. A. et al. Prenatal and neonatal risk factors for the development of enamel defects in low birth weight children. **Oral Diseases**, v. 16, n. 3, p. 257-62, 2010.

VOGEL, P. et al. Amelogenesis imperfecta and other biomineralization defects in Fam20a and Fam20c null mice. **Veterinary Pathology Online**, p. 998-1017, 2012.

WANG, Alice; RANA, Sarosh; KARUMANCHI, S. Ananth. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. **Physiology**, v. 24, n. 3, p. 147-58, 2009.

WARNING, Julia C.; MCCRACKEN, Sharon A.; MORRIS, Jonathan M. A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. **Reproduction**, v. 141, n. 6, p. 715-24, 2011.

WITKIN, Steven S. The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 122, n. 2, p. 213-8, 2015.

WRIGHT, John Tim; CARRION, I. A.; MORRIS, C. The molecular basis of hereditary enamel defects in humans. **Journal of dental research**, v. 94, n. 1, p. 52-61, 2015.

WONG, Hai Ming et al. Risk factors of developmental defects of enamel-a prospective cohort study. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e109351, 2014.

YADAV, Manisha C. et al. Enzyme replacement prevents enamel defects in hypophosphatasia mice. **Journal of bone and mineral research**, v. 27, n. 8, p. 1722-34, 2012.

YOON, Bo Hyun et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 183, n. 5, p. 1124-9, 2000.

ZAIDI, Iram et al. Preterm Birth: A Primary Etiological Factor for Delayed Oral Growth and Development. **International Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 8, n. 3, p. 215, 2015.

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

NOME DA PESQUISA: Fatores etiológicos do nascimento pré-termo e consequências dos fatores perinatais na saúde da criança: coortes de nascimentos em duas cidades brasileiras.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. Dr. Antônio Augusto Moura da Silva
TELEFONES PARA CONTATO: (98) 33019681/33019675/88072963.

PATROCINADORES FINANCEIROS DA PESQUISA: FAPESP, CNPq, FAPEMA

OBJETIVOS DA PESQUISA:

Somos um grupo de pesquisadores da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e estamos realizando uma pesquisa para entender as consequências do nascimento antes do tempo (premature) para a saúde das crianças no seu primeiro ano de vida. Essa pesquisa está sendo realizada em Ribeirão Preto, estado de São Paulo, e em São Luis, estado do Maranhão. Para isso, precisamos de algumas informações tanto de bebês nascidos antes do tempo como de bebês nascidos no tempo normal, para comparação. Convidamos você a participar desta pesquisa e pedimos que autorize a participação do seu bebê, que já foi avaliado por nós na ocasião do nascimento.

Este é um formulário de consentimento, que fornece informações sobre a pesquisa. Se concordar em participar e permitir que seu bebê participe da pesquisa, você deverá assinar este formulário.

Antes de conhecer a pesquisa, é importante saber o seguinte:

- Você e seu bebê estão participando voluntariamente. Não é obrigatório participar da pesquisa.
- Você pode decidir não participar ou desistir de participar da pesquisa a qualquer momento.

Esta pesquisa está sendo conduzida com mulheres que deram à luz nos hospitais das duas cidades, Ribeirão Preto e São Luis. Este é o terceiro momento deste grande estudo: algumas mulheres foram avaliadas durante o pré-natal e logo após o parto, outras somente após o parto e agora gostaríamos de ter a participação voluntária de todas as mães e bebês que participaram dos momentos anteriores. Portanto, gostaríamos que você participasse novamente como voluntária, nos ajudando neste estudo.

Resaltamos que, da mesma forma que foi muito importante a sua participação nos outros momentos da pesquisa, sua participação agora é muito importante para que as informações obtidas possam contribuir para o conhecimento mais completo da sua saúde e de seu bebê.

O QUE DEVO FAZER PARA EU E MEU BEBÊ PARTICIPARMOS DESTA PESQUISA?

Se você concordar em participar desta pesquisa, você responderá a algumas perguntas sobre amamentação, uso de remédios, alimentação, doenças e seu bebê será examinado para avaliar o crescimento físico e o desenvolvimento por meio de atividades adequadas para a idade do bebê. Serão realizados exames clínicos (medidas de peso, altura, circunferência da cabeça e da barriga), laboratoriais (coleta de sangue) e exame dos dentes para nos fornecer informações mais completas sobre a saúde de seu bebê.

- Questionários:

A. Você responderá a um questionário com seus dados de identificação e endereço atualizados. O questionário perguntará sobre amamentação e a saúde da criança, dentição, uso de medicamentos, vacinação, gastos com saúde, hábitos de vida, informações sobre sua saúde e seus dados pessoais e sociais.

B. No próprio questionário haverá uma parte de avaliação sobre o desenvolvimento e a saúde da criança com perguntas referentes a convulsões (crises), uso de medicamentos, asma, alergias e outras doenças.

C. Você irá responder a um questionário sobre sua saúde após o parto, com perguntas sobre métodos para evitar gravidez, se tem perda de urina após o parto e sobre uso de cigarro e álcool.

D. Você responderá a um questionário com perguntas sobre a alimentação de seu bebê nas 24 horas antes da entrevista.

E. Seu bebê será examinado para verificarmos como ele está crescendo. Ele será medido deitado, pesado em uma balança, e a circunferência da cabeça e da barriga serão medidas com fita métrica.

F. Também será avaliado o seu peso e pediremos que você nos informe, se souber, a altura e o peso do pai do bebê.

- Exames laboratoriais:

A. Pretendemos coletar um pouco de sangue de seu bebê (quantidade equivalente a uma colher de sobremesa) com material descartável e por pessoas experientes, para verificar presença de anticorpos que sugiram que seu bebê tem algum tipo de alergia e também se tem alguma variação genética que pode favorecer doenças no futuro, como alergia, obesidade, pressão alta e alterações no crescimento.

B. Pretendemos coletar um pouco de sangue seu (quantidade equivalente a uma colher de sobremesa) com material descartável e por pessoas experientes, para verificar presença de variação genética que pode favorecer doenças como dor na barriga, perda de urina e depressão.

C. Como a quantidade de indivíduos que serão examinados neste estudo é muito grande, não será possível realizar todas as dosagens sanguíneas ao mesmo tempo. Para isso o sangue terá que ser estocado por algum tempo até a realização dos exames. Pedimos a você permissão para que o sangue do bebê seja guardado por tempo indeterminado, visto que o próprio estudo e outros que têm sido feitos podem trazer novos conhecimentos sobre o assunto e pode haver necessidade de realização de novos testes com o sangue estocado. No entanto, novos testes somente serão realizados após aprovação do novo projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa das instituições envolvidas no projeto, que decidirá se você deverá ser convocada ou não para autorizar os novos testes. Você será informada dos resultados dos novos testes que porventura sejam feitos, caso eles apresentem alguma alteração.

D. Também vamos avaliar se seu bebê está se desenvolvendo bem. Nesse exame, algumas atividades serão propostas ao bebê com brinquedos e outros objetos, e durante a realização delas iremos observá-lo e anotar suas reações e seu comportamento.

QUAIS SÃO OS RISCOS DA PESQUISA?

Os profissionais que realizarão as entrevistas e os exames são treinados para as tarefas. Os questionários podem conter algumas perguntas que lhe causem incômodo ao responder. As medidas de peso, comprimento e circunferência da cabeça e da barriga causam desconforto mínimo. A coleta de sangue pode causar algum

desconforto, sangramento e/ou mancha roxa no local em que a agulha perfura a pele. Em casos raros, podem ocorrer deismaios ou infecção. Entretanto, tomaremos todos os cuidados para que isso não ocorra.

HÁ VANTAGENS EM PARTICIPAR DESTA PESQUISA?

A avaliação no primeiro ano de vida poderá detectar se seu bebê está se desenvolvendo bem, mesmo que ele tenha nascido prematuro, que tenha tido infecção pelo citomegalovirus, que foi pesquisada com a coleta da saliva ao nascer. Qualquer alteração que for detectada, relacionada a essas doenças, o seu bebê será encaminhado para tratamento.

Além disso, a sua participação vai nos ajudar a entender alguns problemas de saúde que poderão ser prevenidos no futuro. O sigilo de todas as informações será garantido, nenhum dado que permita sua identificação será fornecido. Quando este estudo acabar, os resultados serão discutidos com outros pesquisadores e divulgados para que muitas pessoas se beneficiem desse conhecimento, mas sem identificar as mães e os bebês participantes do estudo.

E A CONFIDENCIALIDADE?

Os registros referentes a você e ao bebê permanecerão confidenciais. Você e o bebê serão identificados por um código, e suas informações pessoais contidas nos registros não serão divulgadas sem sua expressa autorização. Além disso, no caso de publicação deste estudo, não serão utilizados seus nomes ou qualquer dado que os identifiquem.

As pessoas que podem examinar seus registros são: o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, a equipe de pesquisadores e os monitores da pesquisa.

O QUE FAÇO EM CASO DE DUVIDAS OU PROBLEMAS?

Para solucionar dúvidas relativas a este estudo ou a uma lesão relacionada a pesquisa, entre em contato com os Profs. Drs: Antonio Augusto Moura da Silva ou Vanda Maria Ferreira Simoes ou Rosângela Fernandes Lucena Batista (98) 33019681/33019675/88072963.

Para obter informações sobre seus direitos e os direitos de seu bebê como objeto de pesquisa, entre em contato com: Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão pelo telefone (98) 2109-1230.

Se você entendeu a explicação e concorda voluntariamente em participar deste estudo, por favor, assine abaixo. Uma cópia ficará com você e a outra com o pesquisador responsável. A participação é voluntária e você pode deixar a pesquisa em qualquer momento, sem ter que dar qualquer justificativa para tal.

Agradecemos muito a sua colaboração.

ASSINATURAS

Nome do voluntário: _____

Assinatura do voluntário: _____

Data: ____ / ____ / _____

Nome do Pesquisador: _____

Assinatura do Pesquisador: _____

Data: ____/____/____

Nome da Testemunha: _____

Assinatura da Testemunha: _____

Data: ____/____/____

ANEX B – QUESTIONÁRIO DO PRÉ-NATAL ENTREVISTA

QUESTIONÁRIO DO PRÉ-NATAL
ENTREVISTA**BLOCO A – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO**

1A. Número de identificação: -----

1ª caseta: 1 Ribeirão Preto
2 São Luís2ª caseta: 1 Pré-natal
2 Nascimento
3 1º ano3ª caseta: M. Avaliação no pré-natal
A. Avaliação no nascimento RN 1
B. Avaliação no nascimento RN 2
C. Avaliação no nascimento RN 3
D. Avaliação no nascimento RN 44ª e 5ª casetas: OM. Questionário da mãe
OC. Questionário do RN
SC. Saliva da criança
CO. Cordão umbilical

6ª à 9ª casetas: número sequencial para cada cidade

NUMERO

2A. Cidade:

1. Ribeirão Preto2. São LuísCIDADEP

3A. Data da Entrevista (DDMMWAAAA): __/__/____

DATAENTP

Entrevistador (a): _____

4A. Nome completo da gestante (não abreviar):

NOMEG

5A. Data de nascimento da gestante (DDMM/AAAA):

__/__/____

DNGEST

6A. Idade da gestante __

99. Não sabe

IDADEG

7A. Data da ultrasonografia do recrutamento

(DDMMWAAAA): __/__/____

DATUSR

99999999. Não sabe8A. Idade gestacional pela ultrasonografia do
recrutamento: __ semanas

IDGESTUSR

99. Não sabe

9A. Idade gestacional atual (pela USG):

__ semanas

IDGESTAT

99. Não sabe

BLOCO B – DADOS DE CONTATO

1B. Qual o seu endereço completo? _____

Telefone residencial: _____ Outro telefone: _____ celular: _____

2B. Para facilitar futuros contatos, a sra. poderia nos fornecer o nome, relação de parentesco ou amizade, endereço e telefone fixo ou celular de parentes ou pessoas próximas com quem a sra. tem contato frequente?

Nome da pessoa: _____

Parentesco/Amizade: _____

Endereço: _____

Telefone residencial: _____ Telefone comercial: _____ celular: _____

Nome da pessoa: _____

Parentesco/Amizade: _____

Endereço: _____

Telefone residencial: _____ Telefone comercial: _____ celular: _____

3B. A sra. poderia nos fornecer o endereço e o telefone do seu trabalho?

Endereço: _____

Telefone comercial: _____ Telefone comercial: _____

4B. Se a sra. pretende mudar de cidade, poderia nos informar o nome, endereço e o telefone de contato de algum parente ou alguém que more próximo à sua nova residência?

Nome da pessoa: _____

Endereço: _____

Telefone residencial: _____ Telefone comercial: _____ celular: _____

BLOCO C – DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS

1C.A sra. sabe ler e escrever?

1. Sim
 2. Não
 9. Não sabe

LERG

2C.A sra. frequenta ou frequentou escola?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 7C
 9. Não sabe

ESCOLO

3C.Qual o último curso que a sra. frequentou ou frequenta?

1. Alfabetização de jovens e adultos
 2. Ensino fundamental ou 1o grau
 3. Ensino médio ou 2o grau
 4. Superior graduação incompleto Passe para a questão 5C
 5. Superior graduação completo Passe para a questão 5C
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

CURSOG

4C.Qual a série que a sra. frequenta ou até que série a sra. estudou?

1. Primeira
 2. Segunda
 3. Terceira
 4. Quarta
 5. Quinta
 6. Sexta
 7. Sétima
 8. Oitava
 88. Não se aplica
 99. Não sabe

SEREG

5C.A sra estava estudando quando ficou grávida?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 7C
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

ESTUDGRAY

6C. A sra. parou de estudar porque ficou grávida?

1. Sim
 2. Não
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

PARQUEST

7C. Qual a situação conjugal atual da sra.?

1. Casada
2. União consensual (Mora junto)
3. Solteira
4. Separada/desquitada/divorciada
5. Viúva
9. Não sabe

SITCONG

8C. Quantas pessoas vivem atualmente na casa onde a sra. mora? (Considere apenas as pessoas que estão morando na casa há pelo menos 3 meses, e que não são temporários, como um tio que está temporariamente vivendo com a sra. por menos de 3 meses ou visitante). __

99. Não sabe

PESSOASP

9C. A sra. mora atualmente com o marido ou companheiro?

1. Sim
2. Não
9. Não sabe

MORACOMP

10C. A sra. mora atualmente com filhos (biológicos ou não)?

1. Sim
2. Não Passe para a questão 12C
9. Não sabe

MORAFILHOP

11C. Caso sim, com quantos filhos? __

88. Não se aplica
99. Não sabe

QTILHOSP

12C. De onde vem a água da casa usada para beber?

1. Rede pública/água encanada
2. Poço artesiano
3. Poço/cacimba
5. Outro _____
4. Rio/riacho/lagoa
9. Não sabe

AGUABEBER

13C. Quantos cômodos têm na sua casa? _____ cômodos

99. Não sabe

COMODOS

14C. Quantos cômodos servem como dormitório?
_____ cômodos

9. Não sabe

DORMITOR

15C. A sra. exerce alguma atividade remunerada dentro ou fora de casa?

1. Sim
2. Não Passe para a questão 19C
9. Não sabe

ATIVREMP

16C. Qual a sua ocupação (o que faz atualmente no trabalho)?

88. Não se aplica

99. Não sabe

OCUPG

17C. Qual a sua relação de trabalho?

1. Trabalha por conta própria

2. Assalariado ou empregado

3. Dono de empresa-empregador

4. Faz bico

8. Não se aplica

9. Não sabe

RELAOP

18C. A sra. parou de trabalhar porque ficou grávida?

1. Sim

2. Não

8. Não se aplica

9. Não sabe

PAROUTRAB

19C. Quem é a pessoa da família com maior renda atualmente?
(considerar chefe da família aquele de maior renda)

1. A entrevistada **Passar para a questão 28C**

2. Companheiro

3. Mãe

4. Pai

5. Avó

6. Avô

7. Madrasta

8. Padrasto

9. Tia

10. Tio

11. Irmã

12. Irmão

13. Outro _____

99. Não sabe

CHEFEP

20C. Qual o sexo da pessoa da família com maior renda?

1. Masculino

2. Feminino

8. Não se aplica

9. Não sabe

SEXOCHEFEP

21C. Qual a idade da pessoa da família com maior renda (anos completos)? --

88. Não se aplica

99. Não sabe

IDOCHEFEP

22C. Essa pessoa sabe ler e escrever?

1. Sim
 2. Não
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

LERCHEFEP

23C. Essa pessoa frequenta ou frequentou escola?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 26C
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

ESCOHEFEP

24C. Qual foi o último curso que essa pessoa frequentou ou frequenta?

1. Alfabetização de jovens e adultos
 2. Ensino fundamental ou 1º grau
 3. Ensino médio ou 2º grau
 4. Superior graduação incompleto Passe para a questão 26C
 5. Superior graduação completo Passe para a questão 26C
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

CURSOHEFEP

25C. Qual a série que essa pessoa frequenta ou até que série frequentou?

1. Primeira
 2. Segunda
 3. Terceira
 4. Quarta
 5. Quinta
 6. Sexta
 7. Sétima
 8. Oitava
 88. Não se aplica
 99. Não sabe

SERIECHEFEP

26C. Qual a ocupação atual (ou no que trabalha) a pessoa com a maior renda da família? (Descreva a ocupação. Caso seja aposentado, colocar a última atividade que exerceu).

88. Não se aplica
 99. Não sabe

OCUPCHEFEP

27C. Qual a relação de trabalho do chefe da família?

1. Trabalha por conta própria
 2. Assalariado ou empregado
 3. Dono de empresa-empregador
 4. Faz bico
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

RELCHIEFEP

28C. No mês passado quanto ganharam as pessoas da família que trabalham?

1ª pessoa R\$ _____

2ª pessoa R\$ _____

3ª pessoa R\$ _____

4ª pessoa R\$ _____

5ª pessoa R\$ _____

A família tem outra renda? _____

Renda total R\$ _____

99999. Não sabe

RENDAPP

Quantos itens abaixo a família possui? (circule a resposta)

	Quantidade de itens				
	0	1	2	3	4 ou mais

29C. Televisão em cores	0	1	2	3	4
-------------------------	---	---	---	---	---

TELEVISIOP

30C. Rádio	0	1	2	3	4
------------	---	---	---	---	---

RADIOP

31C. Banheiro	0	4	5	6	7
---------------	---	---	---	---	---

BANHEIROP

32C. Automóvel	0	4	7	9	9
----------------	---	---	---	---	---

AUTOMOVELP

33C. Empregada mensalista	0	3	4	4	4
---------------------------	---	---	---	---	---

EMPREGADAP

34C. Máquina de lavar	0	2	2	2	2
-----------------------	---	---	---	---	---

MAQLAVARP

35C. Videocassete ou DVD	0	2	2	2	2
--------------------------	---	---	---	---	---

DVDP

36C. Geladeira	0	4	4	4	4
----------------	---	---	---	---	---

GELADEIRAP

37C. Freezer (apanho independente ou parte da geladeira duplo)	0	2	2	2	2
--	---	---	---	---	---

FREEZERP

38C. Grau de instrução da pessoa com maior renda

Analfabeto/Primário incompleto/ Até 3ª Série Fundamental	0
Primário completo/ Até 4ª Série Fundamental/Ginásial incompleto	1
Ginásial completo/ Fundamental completo/Colegial incompleto	2
Colegial completo/ Médio completo/Superior incompleto	4
Superior completo	8

INSTRUCADP

BLOCO D – HÁBITOS DE VIDA

Agora vamos conversar um pouco sobre o consumo de bebida alcoólica.

10. Durante a gravidez, a sra. tomou cerveja?

1. Sim2. Não Passe para a questão 5D9. Não sabe

CERVEJAG

2D. Quantos dias por semana? _

8. Não se aplica9. Não sabe

DIACERVG

3D. Quanto tomava por dia (número de vasilhas) _ _

88. Não se aplica99. Não sabe

QTCERVG

4D. Qual o tipo de vasilha?

1. Copo comum (200ml)2. Lata (350ml)3. Garrafa pequena (300ml) – long neck4. Garrafa (600-720ml)5. Outro8. Não se aplica9. Não sabe

TIPOCERVG

5D. Durante a gravidez a sra tomou vinho?

1. Sim2. Não Passe para a questão 9D9. Não sabe

VINHOQ

6D. Quantos dias por semana? _

8. Não se aplica9. Não sabe

DIAVINHOQ

7D. Quanto tomava por dia (número de vasilhas) _ _

88. Não se aplica99. Não sabe

QTVINHOQ

8D. Qual o tipo de vasilha?

1. Copo comum (200ml)
2. Cálice ou taça (400 ml)
3. Garrafa pequena (300ml)
4. Garrafa (600-720ml)
5. Outro
8. Não se aplica
9. Não sabe

TIPOVNHOG

9D. Durante a gravidez a sra. tomou algum outro tipo de bebida como uísque, vodka, gim, rum, cachaça, caipirinha, batida?

1. Sim
2. Não **Passar para a questão 13D**
9. Não sabe

DESTG

10D. Quantos dias por semana? _

8. Não se aplica
9. Não sabe

DIATESTG

11D. Quanto tomava por dia (número de vasilhas) _ _

88. Não se aplica
99. Não sabe

OTDESTG

12D. Qual o tipo de vasilha?

1. Copo comum (200ml)
2. Cálice, taça (400 ml)
3. Martelo, copo de pinga (100ml)
4. Lata (350ml) refrigerar
5. Garrafa pequena (300ml)
6. Garrafa (600-720ml)
7. Outro
8. Não se aplica
9. Não sabe

TIPODESTG

13D. Durante a gravidez com que frequência a sra. consumiu cinco ou mais unidades de bebida alcoólica em uma única ocasião?

1. Todos os dias
2. Quase todos os dias
3. 1 a 4 vezes na semana
4. 1 a 3 vezes por mês
5. Raramente
6. Nunca
8. Não se aplica
9. Não sabe

FREQEES

Agora vamos conversar um pouco sobre o hábito de fumar.

14D. A sra. fumou ou fuma durante esta gravidez?

1. Sim
 2. Não **Passa para questão 16D**
 9. Não sabe

FUMOGRAVP

15D. Quantos cigarros a sra. fuma ou fumou por dia durante a gravidez? ___

88. Não se aplica
 99. Não sabe

QTFUMOP

Agora vamos conversar um pouco sobre o consumo de bebidas com cafeína

16D. Desde que ficou grávida a sra. tem tomado café (café preto, café instantâneo tipo nescafé ou capuccino)?

1. Sim
 2. Não **Passa para a questão 20D**
 9. Não sabe

CAFE

17D. Quantos dias por semana a sra. toma café? _

8. Não se aplica
 9. Não sabe

DIASCAFE

18D. Quantas vezes por dia a sra. toma café? __

88. Não se aplica
 99. Não sabe

VEZESCAFE

19D. Qual o tipo de vasilha em que a sra. costuma tomar café?

1. xícara de chá
 2. xícara de cafézinho
 3. meia taça
 4. copo comum – 200 ml
 5. outro _____
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

TIPOCAFE

20D. Desde que ficou grávida a sra. tem tomado chá (chá mate, chá preto, chá verde, chá amarelo, chá branco ou outro)?

1. Sim
 2. Não **Passa para a questão 24D**
 9. Não sabe

CHA

21D. Quantos dias por semana a sra. toma chá? _

8. Não se aplica
 9. Não sabe

DIASCHA

22D. Quantas vezes por dia a sra. toma chá? __

88. Não se aplica
 99. Não sabe

VEZESCHA

23D. Qual o tipo de vasilha em que a sra. costuma tomar chá?

1. xícara de chá
 2. xícara de cafézinho
 3. meia taça
 4. copo comum – 200 ml
 5. outro _____
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

TIPOCHA

24D. Desde que ficou grávida a sra. tem tomado refrigerantes (coca-cola ou Pepsi-cola)?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 28D
 9. Não sabe

REFRI

25D. Quantos dias por semana a sra. toma refrigerante? _

8. Não se aplica
 9. Não sabe

DIASREFRI

26D. Quantas vezes por dia a sra. toma refrigerante? __

88. Não se aplica
 99. Não sabe

VEZESREFRI

27D. Qual o tipo de vasilha em que a sra. costuma tomar refrigerante?

1. xícara de chá
 2. xícara de cafézinho
 3. meia taça
 4. copo comum – 200 ml
 5. outro _____
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

TIPOREFRI

28D. Desde que ficou grávida a sra. tem tomado bebidas com chocolate?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 32D
 9. Não sabe

CHOCOLATE

29D. Quantos dias por semana a sra. toma bebidas com chocolate? _

8. Não se aplica
 9. Não sabe

DIASCHOCO

30D. Quantas vezes por dia a sra. toma bebidas com chocolate? __

88. Não se aplica
 99. Não sabe

VEZESCHOCO

31D. Qual o tipo de vasilha em que a sra. costuma tomar bebidas com chocolate?

1. xícara de chá
 2. xícara de cafézinho
 3. meia taça
 4. copo comum – 200 ml
 5. outro _____
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

TIPOCHOCO

32D. Desde que ficou grávida a sra. tem comido alimentos com chocolate?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 1E
 9. Não sabe

ALCHOCO

33D. Quantos dias por semana a sra. come chocolate? _

8. Não se aplica
 9. Não sabe

DIASALCHO

34D. Quantas vezes por dia a sra. come chocolate? _ _

88. Não se aplica
 99. Não sabe

VEZESALCHO

BLOCO E – DADOS DO COMPANHEIRO

Caso o companheiro seja a pessoa com maior renda ou não more junto com a gestante, passe para a questão 1F.

1E. Qual a idade do companheiro atual? _ _

88. Não se aplica – não tem companheiro atual
 99. Não sabe

IDCOMP

2E. O seu companheiro sabe ler e escrever?

1. Sim
 2. Não
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

LERCOMP

3E. O seu companheiro frequenta ou frequentou escola?

1. Sim
 2. Não Passe para a questão 6E
 8. Não se aplica
 9. Não sabe

ESCCOMP

4E. Qual o último curso que seu companheiro frequentou ou frequenta?

1. Alfabetização de jovens e adultos
2. Ensino fundamental ou 1o grau
3. Ensino médio ou 2o grau
4. Superior graduação incompleto Passe para a questão 6E
5. Superior graduação completo Passe para a questão 6E
8. Não se aplica
9. Não sabe

CURSOCOMPP

5E. Qual a série que seu companheiro frequenta ou até que série estudou?

1. Primeira
2. Segunda
3. Terceira
4. Quarta
5. Quinta
6. Sexta
7. Sétima
8. Oitava
88. Não se aplica
99. Não sabe

SERIECOMPP

6E. O seu companheiro está trabalhando no momento?

1. Sim
2. Não Passe para a questão 1F
8. Não se aplica
9. Não sabe

TRABCOMPP

7E. Qual a ocupação atual (ou no que trabalha) o seu companheiro atual? (Descreva a ocupação. Caso seja aposentado, colocar a última atividade que exerceu).

-
88. Não se aplica
 99. Não sabe

OCUPCOMPP

8E. Qual a relação de trabalho do seu companheiro?

1. Trabalha por conta própria
2. Assalariado ou empregado
3. Dono de empresa-empregador
4. Faz bico
8. Não se aplica
9. Não sabe

RELCOMPP

BLOCO F – DADOS DA SAÚDE SEXUAL E REPRODUTIVA

1F. Com quantos parceiros do sexo masculino a sra. já teve relação sexual? --

99. Não sabe

NPARCEIROS

2F. Algum parceiro sexual masculino já disse à sra. que teve doença sexualmente transmissível (doença venérea)?

1. Sim

2. Não Passe para a questão 4F

9. Não sabe

DST

3F. Caso o parceiro já tenha lhe dito, qual o nome da (s) doença(s)?

88. Não se aplica

99. Não sabe

NOMEDST

4F. Algum dos parceiros sexuais masculinos já lhe disse ser HIV positivo ou ter AIDS?

1. Sim

2. Não

9. Não sabe

HIV

5F. A sra. já foi chamada por algum serviço de saúde por ter tido relação sexual com alguma pessoa com doença sexualmente transmissível?

1. Sim

2. Não Passe para a questão 7F

9. Não sabe

SSDST

6F. Caso tenha sido chamada, qual o nome da (s) doença(s)?

88. Não se aplica

99. Não sabe

NOMESSDST

7F. No ano anterior a essa gravidez, a sra. estava usando algum método contraceptivo?

1. Sim

2. Não Passe para a questão 10G

9. Não sabe

METODO

8F. Caso sim, qual o método contraceptivo que a sra. estava usando? (pode marcar mais de uma opção)?

1. Caminha somente

2. Caminha/ espermicida

3. Diafragma somente

4. Diafragma/ Espermicida

5. Espermicida somente

6. Esponja

7. DIU
 8. Pílulas orais
 9. Tabela/método (calendário, temperatura)
 10. Coito interrompido
 11. Ducha vaginal
 12. Injetáveis
 13. Outros
 88. Não se aplica
 99. Não sabe
- QUALMETODO

BLOCO G – CARACTERÍSTICAS DA GESTAÇÃO ATUAL, DO PRÉ-NATAL E HIPERTENSÃO

Pergunte se a gestante dispõe do cartão da gestante e se está de posse do mesmo. Confirme as respostas no cartão

10. A sra tem cartão da gestante?
 1. Sim
 2. Não
 8. Não se aplica – não fez pré-natal
 9. Não sabe
- CARTAO
20. Qual a data da sua última menstruação (DD/MM/AAAA)?
 __/__/____
 9999999. Não sabe
- DUMP
30. Caso não saiba o dia, informar o mês e o ano (MM/AAAA)?
 88888. Não se aplica
 99999. Não sabe
- MESANOUMP
40. Qual o seu peso antes de engravidar? _____. kg
 9999. Não sabe
- PESOANTESP
50. Qual a sua altura antes de engravidar? _____. cm
 9999. Não sabe
- ALTURAANTP
60. A sra está fazendo pré-natal?
 1. Sim
 2. Não **Passar para a questão 110**
 9. Não sabe
- PNP
70. Qual a data da primeira consulta pré-natal (DDMM/AAAA)? __/__/____
 8888888. Não se aplica
 9999999. Não sabe
- DT1CPNP
80. Em que mês de gravidez a sra. iniciou as consultas de pré-natal? __
 88. Não se aplica
 99. Não sabe
- MESTCPNP

98. Quantas consultas de pré-natal a sra. fez no 1º trimestre de gestação? ___		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	QTCPN1TP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
100. Onde a sra. está realizando o pré-natal nesta gestação?		
1. <input type="checkbox"/> SUS (posto de saúde, hospital universitário)		
2. <input type="checkbox"/> Plano de Saúde		
3. <input type="checkbox"/> Particular		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	LOCALPN	<input type="checkbox"/>
110. A sra. tem hipertensão (pressão alta) fora da gestação diagnosticada por médico ou enfermeiro?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTF	<input type="checkbox"/>
120. A sra. tem hipertensão (pressão alta) na gestação atual?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTG	<input type="checkbox"/>
130. A mãe da sra. tem hipertensão crônica (pressão alta)?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTM	<input type="checkbox"/>
140. A mãe da sra. teve hipertensão (pressão alta) na gestação?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTMG	<input type="checkbox"/>
150. O pai da sra. tem hipertensão crônica (pressão alta)?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTP	<input type="checkbox"/>
160. O(s) irmão(s) ou irmã(s) da sra. têm hipertensão crônica (pressão alta)?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passar para a questão 180		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTH	<input type="checkbox"/>
170. Caso sim, quantos irmãos ou irmãs têm hipertensão crônica (pressão alta)? _____ irmãos ou irmãs		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	HIPERTHQ	<input type="checkbox"/>

18G. A(s) sua(s) irmã(s) tiveram hipertensão (pressão alta) na gestação?

1. Sim

2. Não **Passar para o bloco H**

9. Não sabe **HIPERTIG**

19G. Caso sim, quantas irmãs tiveram hipertensão (pressão alta) na gestação? _____ irmã

8. Não se aplica **HIPERTIGG**

9. Não sabe

BLOCO H – EXPOSIÇÃO A METAIS

1H. Alguém que vive na sua casa trabalha em fábrica de tintas, adubos, vidro, cerâmica, plástico, conserto de baterias ou galvanoplastia (revestimento de metais)?

1. Sim

2. Não

9. Não sabe **FABTINTA**

2H. Tem alguma fábrica ou indústria perto da casa da sra.?

1. Sim

2. Não **Passar para a questão 4H**

9. Não sabe **FABRICA**

3H. Caso sim, qual é a distância da fábrica para a casa da sra.?
(estimativa por quarteirões) __

00. No mesmo quarteirão

88. Não se aplica

99. Não sabe **DISTFABRICA**

4HA sra. reformou ou pintou a sua casa recentemente ?

1. Sim

2. Não

9. Não sabe **PINTOUCASA**

5HA sra. tem alguma atividade de lazer/hobby como pintura, cerâmica, pesca ou tiro com arma de fogo?

1. Sim

2. Não

9. Não sabe **LAZER**

6HA sra. come peixe, marisco ou camarão?

1. Sim

2. Não **Passar para a questão 8H**

9. Não sabe **PEXE**

7H.Caso sim, qual é a frequência?

1. Uma vez na semana
2. Mais de uma vez na semana
3. Uma vez ao mês
4. 2 a 3 vezes ao mês
5. Diariamente
8. Não se aplica
9. Não sabe

FREPEIXE

8H.A sra. consumiu peixe, camarão ou marisco nos últimos 2 dias?

1. Sim
2. Não
9. Não sabe

PEIXE2D

9H.A sra. toma remédios, chás, energéticos, vitaminas?

1. Sim
2. Não **Passar para a questão 25H**
9. Não sabe

REM

Caso tome, qual o nome do remédio e qual o mês de início e de término? Se continua usando, anotar que está em uso?

10H.Remédio

-
88. Não se aplica
 99. Não sabe

REM1

11H. Mês da gestação de início_

00. Usa desde antes da gravidez
88. Não se aplica
99. Não sabe

IREM1

12H. Mês da gestação de término_

10. Ainda usa
88. Não se aplica
99. Não sabe

TREM1

13H.Remédio

-
88. Não se aplica
 99. Não sabe

REM2

14H. Mês da gestação de início _		
00. <input type="checkbox"/> Usa desde antes da gravidez		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
15H. Mês da gestação de término _	IREM2	
10. <input type="checkbox"/> Ainda usa		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	TREM2	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
16H. Remédio		
<hr/>		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	REM3	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
17H. Mês da gestação de início _		
00. <input type="checkbox"/> Usa desde antes da gravidez		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	IREM3	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
18H. Mês da gestação de término _		
10. <input type="checkbox"/> Ainda usa		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	TREM3	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
19H. Remédio		
<hr/>		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	REM4	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
20H. Mês da gestação de início _		
00. <input type="checkbox"/> Usa desde antes da gravidez		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	IREM4	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
21H. Mês da gestação de término _		
10. <input type="checkbox"/> Ainda usa		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	TREM4	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
22H. Remédio		
<hr/>		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	REM5	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
23H. Mês da gestação de início _		
00. <input type="checkbox"/> Usa desde antes da gravidez		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	IREM5	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

24H. Mãe da gestação de término _		
10. <input type="checkbox"/> Ainda usa		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
25H. A sra. usa chidetes?	TREMS	
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para a questão 27H		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
26H. Caso sim, com que frequência?	CHICLETE	
1. <input type="checkbox"/> Diariamente		
2. <input type="checkbox"/> Ocasionalmente		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
27H. A sra. tem dentes com restaurações (obturações) de metal (amálgama)?	FREQCHC	
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para a questão 29H		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
28H. Caso sim, há quanto tempo? _ _ anos	RESTAURA	
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
29H. A sra. usa tintura, tonalizante ou descolorante de cabelo?	TRESTAURA	
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para a questão 31H		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
30H. Caso sim, com que frequência?	TINTURA	
1. <input type="checkbox"/> Diariamente		
2. <input type="checkbox"/> Ocasionalmente		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
31H. A sra. tem horta em casa?	FREQTINT	
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para o BLOCO I		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
32H. Caso sim, a sra. come as verduras da sua horta?	HORTA	
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe		<input type="checkbox"/>
	COMEVERD	

35H. Qual a água que a sra. usa para irrigar a sua horta?

1. Água da torneira
2. Água do poço
3. Outra: _____
8. Não se aplica
9. Não sabe

AGUAHORTA

BLOCO I – SAÚDE BUCAL

Agora vamos fazer algumas perguntas sobre sua saúde bucal (condições de seus dentes e gengivas) e sobre a utilização de serviços de odontologia.

11. Tente se lembrar como era a sua saúde bucal antes da gravidez. Antes desta gravidez, como a sra. considerava a sua saúde bucal?

1. Excelente
2. Muito boa
3. Boa
4. Razoável
5. Ruim
9. Não sabe

SBUCAL

21. Desde que começou esta gravidez, a sra. percebeu alguma mudança na condição de suas gengivas (ficaram inflamadas (inchadas) ou passaram a sangrar durante a escovação ou mesmo sem tocar nelas)?

1. Sim
2. Não
9. Não sabe

GENGIVA

31. Desde que começou esta gravidez a sra. percebeu alguma mudança na condição de seus dentes (apareceram novas cáries nos dentes ou as cáries antigas ficaram piores)?

1. Sim
2. Não
9. Não sabe

DENTE

41. Antes dessa gestação, algum dentista alguma vez disse que a sra. precisaria fazer tratamento para a gengiva?

1. Sim
2. Não
9. Não sabe

DENTISTA



BLOCO J – QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ-versão curta)

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gastou fazendo atividade física na ÚLTIMA SEMANA. As perguntas incluem as atividades que você fez no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor, responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder às questões lembre que:

- Atividades físicas VIGOROSAS OU PESADAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

Para responder às perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez:

- 1.J. Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?
 0. Nenhum _____ dias por SEMANA IPAQ1
- 2.J. Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?
 Horas __ Minutos __ IPAQ2
- 3.J. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)?
 0. Nenhum _____ dias por SEMANA IPAQ3
- 4.J. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?
 Horas __ Minutos __ IPAQ4
- 5.J. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS OU PESADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cuidar do jardim, carregar pesos pesados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração?
 0. Nenhum _____ dias por SEMANA IPAQ5
- 6.J. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas ou pesadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?
 Horas __ Minutos __ IPAQ6

BLOCO K – ESCORE DE BLOCK (GORDURAS)

Pense agora a respeito dos seus hábitos alimentares no último ano. Aproximadamente, com que frequência você consome cada um dos alimentos abaixo. (Se não consumir, marcar a primeira opção).

Alimentos	1 vez ou menos ao mês	2 a 3 vezes ao mês	1 a 2 vezes por semana	3 a 4 vezes por semana	5 ou mais vezes por semana		
1K. Hambúrguer, cheeseburger ou bauru	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG1	<input type="checkbox"/>
2K. Bife ou carne assada	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG2	<input type="checkbox"/>
3K. Frango frito	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG3	<input type="checkbox"/>
4K. Salacha, cachorro quente, salame	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG4	<input type="checkbox"/>
5K. Presunto, mortadela e embudidos	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG5	<input type="checkbox"/>
6K. Maionese comum	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG6	<input type="checkbox"/>
7K. Margarina ou Manteiga	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG7	<input type="checkbox"/>
8K. Ovos	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG8	<input type="checkbox"/>
9K. Bacon ou linguiça	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG9	<input type="checkbox"/>
10K. Queijos e requeijão	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG10	<input type="checkbox"/>
11K. Leite integral	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG11	<input type="checkbox"/>
12K. Batata frita	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG12	<input type="checkbox"/>
13K. Salgadinhos de pacote, pipoca	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG13	<input type="checkbox"/>
14K. Sorvetes	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG14	<input type="checkbox"/>
15K. Bolachas, doces de padaria, bolos, pastéis, massas folhadas	0. <input type="checkbox"/>	1. <input type="checkbox"/>	2. <input type="checkbox"/>	3. <input type="checkbox"/>	4. <input type="checkbox"/>	BLOCKG15	<input type="checkbox"/>

BLOCO L – EXAME CLÍNICO

1L. Peso (medida): ___ _ _Kg	PESO	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
2L. Percentual de gordura corporal: ___ _ _%	PGORDURA	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3L. Altura (medida): ___ _ _cm	ALTURA	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
4L. Pressão arterial sistólica 1ª. medida: ___ _ _mmHg	PAS1	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
5L. Pressão arterial sistólica 2ª. medida: ___ _ _mmHg	PAS2	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
6L. Pressão arterial diastólica 1ª. medida: ___ _ _mmHg	PAD1	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
7L. Pressão arterial diastólica 2ª. medida: ___ _ _mmHg	PAD2	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
8L. Pulso: ___ _ _ batimentos por minuto	PULSO	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

MATERIAL BIOLÓGICO E EXAMES DA GESTANTE

9L. Foi feita coleta de sangue?		<input type="checkbox"/>
1. <input type="checkbox"/> Sim	SANGUE	
2. <input type="checkbox"/> Não		
10L. Foi feita coleta de urina?		<input type="checkbox"/>
1. <input type="checkbox"/> Sim	URINA	
2. <input type="checkbox"/> Não		
11L. Foi feita coleta de secreção vaginal?		<input type="checkbox"/>
1. <input type="checkbox"/> Sim	SECVAG	
2. <input type="checkbox"/> Não		
12L. Foi feito exame odontológico?		<input type="checkbox"/>
1. <input type="checkbox"/> Sim	ODONTO	
2. <input type="checkbox"/> Não		
13L. Foi feita ultrassonografia?		<input type="checkbox"/>
1. <input type="checkbox"/> Sim	USGP	
2. <input type="checkbox"/> Não		

ANEXO C – QUESTIONÁRIO DO NASCIMENTO – RN



QUESTIONÁRIO DO NASCIMENTO - RN

Generated by Foxit PDF Creator © Foxit Software
<http://www.foxitsoftware.com> For evaluation only.

BLOCO A – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

1A. Número de identificação: _____

1ª cidade: 1 Ribeirão Preto

2 São Luís

2ª cidade: 1 Pré-natal

2 Nascimento

3 1º ano

3ª cidade: M. Avaliação no pré-natal

A. Avaliação no nascimento RN 1

B. Avaliação no nascimento RN 2

C. Avaliação no nascimento RN 3

D. Avaliação no nascimento RN 4

4ª e 5ª cidades: OM. Questionário da mãe

OC. Questionário do RN

SC. Saliva da criança

CO. Cordão umbilical

6ª à 9ª. cidades: número seqüencial para cada cidade

NUMERO

O O O O O O O O O O

2A. Cidade:

1. Ribeirão Preto2. São Luís

CIDADE

O

3A. Data da Entrevista (DDMMAAAA):

__/__/____

DATAENT

O O O O O O O O O O

4A. Entrevistador (a): _____

5A. Data do nascimento do RN (DDMM/AAAA):

__/__/____

DATANASC

O O O O O O O O O O

6A. Caso tenha nascido mais de um filho, indique qual a seqüência de nascimento desse RN?

1.O 1º

2.O 2º

3.O 3º

4.O 4º

5.O 5º

8.O Não se aplica

9.O Não sabe

ORDEMNASC

O

7A. Qual o sexo do recém-nascido?

1.O Masculino

2.O Feminino

9.O Não sabe

SEXO

O

8A. Como nasceu o filho da sra.?

1.O Vivo

2.O Morto

9.O Não sabe

NASC

O

9A. Qual foi a apresentação do bebê na hora do parto?		
1.O Cefálica		
2.O Pélvica		
3.O Transversa		
9.O Não sabe	APRESENT	<input type="radio"/>
Caso o RN tenha nascido morto, passe para o Bloco B		
10A. Qual nome a sra. pretender dar ao seu bebê?		
_____	NOME	
11A. O RN apresentou algum problema de saúde? (perguntar para a mãe e anotar do prontuário)		
1. <input type="radio"/> Sim		
2. <input type="radio"/> Não Passe para a questão 17A		
8. <input type="radio"/> Não se aplica		
9. <input type="radio"/> Não sabe	PROBLEMA	<input type="radio"/>
Caso tenha apresentado problema, nos diga qual foi.		
12A. Problema		

88. <input type="radio"/> Não se aplica		<input type="radio"/>
99. <input type="radio"/> Não sabe	PROB1	<input type="radio"/>
13A. Problema		

88. <input type="radio"/> Não se aplica		<input type="radio"/>
99. <input type="radio"/> Não sabe	PROB2	<input type="radio"/>
14A. Problema		

88. <input type="radio"/> Não se aplica		<input type="radio"/>
99. <input type="radio"/> Não sabe	PROB3	<input type="radio"/>
15A. Problema		

88. <input type="radio"/> Não se aplica		<input type="radio"/>
99. <input type="radio"/> Não sabe	PROB4	<input type="radio"/>
16A. Problema		

88. <input type="radio"/> Não se aplica		<input type="radio"/>
99. <input type="radio"/> Não sabe	PROB5	<input type="radio"/>

17A. Após o nascimento, quando saiu da sala de parto, o RN foi para:

1. Berço ao lado da mãe
2. Berçário
3. Cama da mãe
4. UTI Neonatal
5. Outro _____
8. Não se aplica
9. Não sabe

LOCALRN

BLOCO B – DADOS DO PRONTUÁRIO

1B. Horário de nascimento do RN: __: __: __

HORANASC

2B. Apgar 1º minuto: __

99. Não avaliado

APGAR1

3B. Apgar 5º minuto: __

99. Não avaliado

APGAR5

4B. Em caso de nascido morto:

1. Antes do parto
2. No momento do parto
8. Não se aplica
9. Não sabe

TIPONASCIM

5B. O RN apresentou algum defeito congênito (malformação)?

1. Sim
2. Não Passe para a questão 7B
9. Não sabe

DEFCONG

6B. Qual foi o tipo de defeito apresentado pelo RN?

1. Gastroquise
2. Onfalocele
3. Defeitos do tubo neural - meningocele
4. Defeitos do tubo neural - encefalocele
5. Trato genito-urinário - unilateral
5. Trato genito-urinário - bilateral
6. Cardíaco. Qual? _____
7. Outro _____

88. Não se aplica

TIPODEFCONG

99. Não sabe

ANTROPOMETRIA DO RN

7B. Peso do RN: _-_-_- g

9999. Não avaliado

PESONASC

8B. Comprimento: _-_- cm

999. Não avaliado

COMPNASC

9B. Perímetro cefálico: _-_- cm

999. Não avaliado

PCNASC

10B. Peso da placenta: _-_-_- g

9999. Não avaliado

PLACENTA

MATERIAL BIOLÓGICO DO RN

11B. Foi feita coleta de tecido do cordão umbilical?

1. Sim

2. Não

CORDAO

12B. Foi feita coleta de saliva?

1. Sim

2. Não

SALIVA

EXAME ODONTOLÓGICO

		Superior								Inferior							
		54	53	52	51	61	62	63	64	74	73	72	71	81	82	83	84
Dentes presentes																	
Código	0-ausente; 1-presente 2 - não foi possível examinar																
Erupção																	
Código	00-idade em meses 77- dente ausente 88-não sabe																
IPV (alto ou)	V																
	P																
	M																
	D																
Código	0-ausente; 1-presente 2 - não foi possível examinar 7- não se aplica																
Cárie (dyad)	V																
	P																
	M																
	D																
	O																
Código	0-Camada esmalte (sem alteração na translucidez e brilho); 1-Lesão ativa em esmalte sem solução de continuidade (opaca e rugosa); 2-Lesão ativa em esmalte com microcavidade; 3-Lesão ativa cavada (cavidade em esmalte ou dentina visível a olho nu e com amolecimento à sondagem); 4-Lesão não- cavada inactive (lisa e brilhante); 5-Lesão inactive em esmalte com microcavidade; 6-Lesão cavada inactive (cavidade visível a olho nu em esmalte ou dentina, com com brilho e endurecida); 7-não se aplica porque o dente não existe; 8-não foi possível examinar.																
DDE																	
	1/2 mm																
	1/2 mm.																
Código	0-Normal; 1-Opacidade demarcada; 2-Opacidade difusa; 3-Hipoplasia; 4-Outros defeitos; 5-Opacidade demarcada e difusa; 6-Opacidade demarcada e hipoplasia; 7-Opacidade difusa e hipoplasia; 8-Todos os três defeitos; 9-Excluídos; 10- não se aplica pois o dente não existe; e 11-não foi possível examinar.																

ANEXO E- NORMAS DA REVISTA “EUROPEAN JOURNAL OF ORAL SCIENCES”

European Journal of
Oral Sciences

Author Guidelines

Aims and Scope – The *European Journal of Oral Sciences* (EJOS) is a bimonthly international peer-reviewed non-profit journal in continuous publication since 1893. EJOS publishes original research papers within clinical dentistry, on all basic science aspects of structure, chemistry, developmental biology, physiology and pathology of relevant tissues, as well as on microbiology, biomaterials, and the behavioral sciences as they relate to dentistry. EJOS features *Original Articles, Reviews, Focus Articles, Short Communications and Letters to the Editor*.

The average time from submission to first editorial decision (reject or to peer review) is less than 1 wk, and from acceptance to publication is 4–8 wk.

There are no page charges, no page limits, and colour illustrations are printed free of charge.

Submission – Authors are urged to consult the full Author Guideline at the journal home page prior to submission. Manuscripts should be submitted online at the submission site linked through the <http://wileyonlinelibrary.com/journal/eos>. Full instructions and support are available on the website, and a *user ID* and *password* can be obtained at the first visit.

The corresponding author will serve on behalf of all co-authors as the correspondent with the Editorial Office during the submission and review process. When submitting a manuscript, the corresponding author does so in the understanding that the manuscript has not been published before; that it is not being considered for publication elsewhere; that it has as been read and approved by all authors; and that all authors agree to the submission of the manuscript to the *European Journal of Oral Sciences*. Fragmentation of research into ‘least publishable units’ is discouraged.

Copyright – Upon acceptance of a manuscript, the corresponding author will receive an email with instructions on how to complete the license agreement on behalf of all authors as this is a prerequisite for publication of the article.

Manuscript format and style – A manuscript comprises a Main Document, Table documents (if relevant), Figures (if relevant) and Supplemental Information (if relevant). The Main document comprises Title page, Abstract, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgments, Conflict of Interests, References, and Figure legends arranged in that order.

The *whole* manuscript should be double-spaced, paginated, and submitted in correct English. The beginning of paragraphs should be properly marked with an indent. Avoid end-of-line hyphens. Authors whose native language is not English are *strongly advised to obtain assistance from someone proficient in scientific English*. Manuscripts not submitted in the proper format or in poor English may be returned without review.

Title page – The title page should contain the following information in the order given: i) article title; ii) authors’ full names (without degrees or titles); iii) authors’ institutional affiliations including city and country; iv) a running title, not exceeding 40 letters and spaces; v) name, professional address, telephone, and professional e-mail address of the corresponding

author. The title should be concise but informative, include animal species used (if appropriate) and should not include any non-standard acronyms or abbreviations. The Journal does not favour titles of affirmative or interrogative character.

Abstract page – A separate abstract page should contain the following: i) authors’ surnames and initials; ii) title of manuscript; iii) the abbreviation *Eur J Oral Sci*; iv) the word Abstract followed by a summary of the complete manuscript; v) up to five key words (MeSH terms); vi) name, address and professional e-mail address of the corresponding author.

The Abstract should be short and concise, without headings and not divided into paragraphs, and with a maximum of 200 words. It should not contain any non-standard acronyms or abbreviations.

Material and methods – Procedures should be described in sufficient detail to make it possible to repeat the study. Subheadings may be used to improve clarity. When applicable, details regarding Ethical Approval and acquisition of Informed Consent should be stated. In human experimentation, Informed Consent from individuals must have been given.

Reports of randomized trials must conform to the CONSORT guidelines (www.consort-statement.org) and will be evaluated in light of these recommendations.

Sources of supply of commercial products should be given with the address (town, state and country) in parenthesis. Correct unit abbreviations should be used (e.g. “yr”, “wk”, “d”, “h”, “min”, “s” and “ μ m” rather than “years”, “weeks”, “days”, “hrs”, “minutes”, “sec” and “ μ ”, respectively). For abbreviations of physical and chemical units and symbols, designation of isotopically labelled compounds, and abbreviations which may

be used without definition, the *Biochemical Journal* web site www.biochemj.org/bj/bji2a.htm#NOMENCLATURE is a valuable resource. Scientific names of bacteria, binomials in italics, must be given in full when first mentioned. Subsequent mention may abbreviate genus, taking care that this abbreviation is unambiguous (*Staph.* or *Strep.* instead of *S.*).

If a manuscript describes original nucleotide/amino acid sequence data, these should be submitted to GenBank by the authors and the accession numbers included in the manuscript.

Authors of papers published in the Journal are obliged to honor any reasonable request by qualified investigators for unique propagative materials, such as cell lines, hybridomas, DNA clones and antibodies that are described in the paper.

Results – The Results section should clearly and concisely report findings, as a rule in the past tense, without subjective comments and reference to previous literature. Double documentation of data in text, tables or figures is not acceptable. The Results section may have subheadings.

Discussion – The Discussion section presents the interpretation of the findings; this is the only proper section for subjective comments. Authors are strongly urged to avoid undue repetition of what has already been reported in Results. Subheadings are not acceptable.

ANEXO F- NORMAS DA REVISTA “CLINICAL ORAL INVESTIGATIONS”

Clinical Oral Investigations

Instructions for Authors

TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections:

- Original articles
- Invited reviews
- Short communications – with up to 2000 words and up to two figures and/or tables
- Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact:

Professor Dr. M. Hannig
 University Hospital of Saarland
 Department of Parodontology and Conservative Dentistry
 Building 73
 66421 Homburg/Saar
 Germany
 Email: eic.hannig@uks.eu

MANUSCRIPT SUBMISSION

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Further Useful Information

please follow the link below

- [Further Useful Information](#)
- [Springer Author Academy](#)

TITLE PAGE

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title

- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

- Objectives (stating the main purposes and research question)
- Materials and Methods
- Results
- Conclusions
- Clinical Relevance

These headings must appear in the abstract.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

TEXT

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

- [LaTeX macro package \(zip, 181 kB\)](#)

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

REFERENCES

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].

2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

- Journal article
Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738.
<https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>
Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:
Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329
 - Article by DOI
Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*.
<https://doi.org/10.1007/s001090000086>
 - Book
South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London
 - Book chapter
Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257
 - Online document
Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb.
<http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007
 - Dissertation
Trent JW (1975) *Experimental acute renal failure*. Dissertation, University of California
- Always use the standard abbreviation of a journal’s name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see
- [ISSN.org LTWA](http://www.issn.org/LTWA)
If you are unsure, please use the full journal title.
For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.
 - [EndNote style \(zip, 2 kB\)](#)
Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer’s LaTeX macro package.

TABLES

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

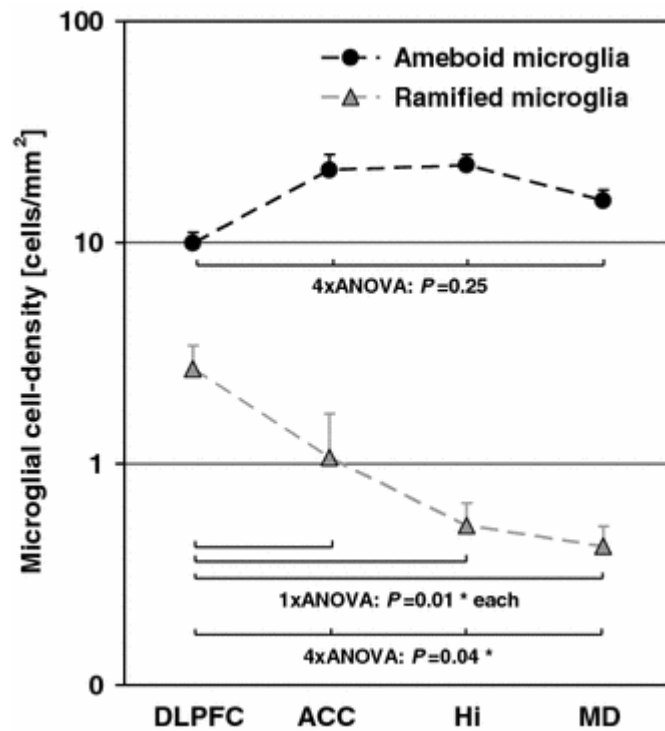
ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.

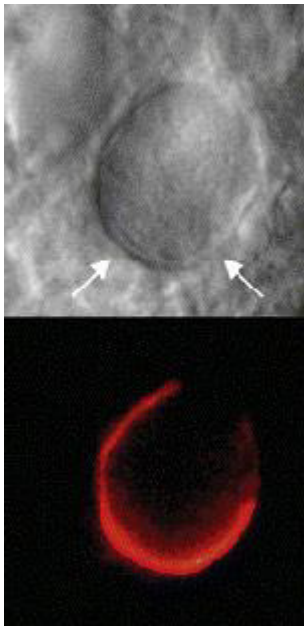
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



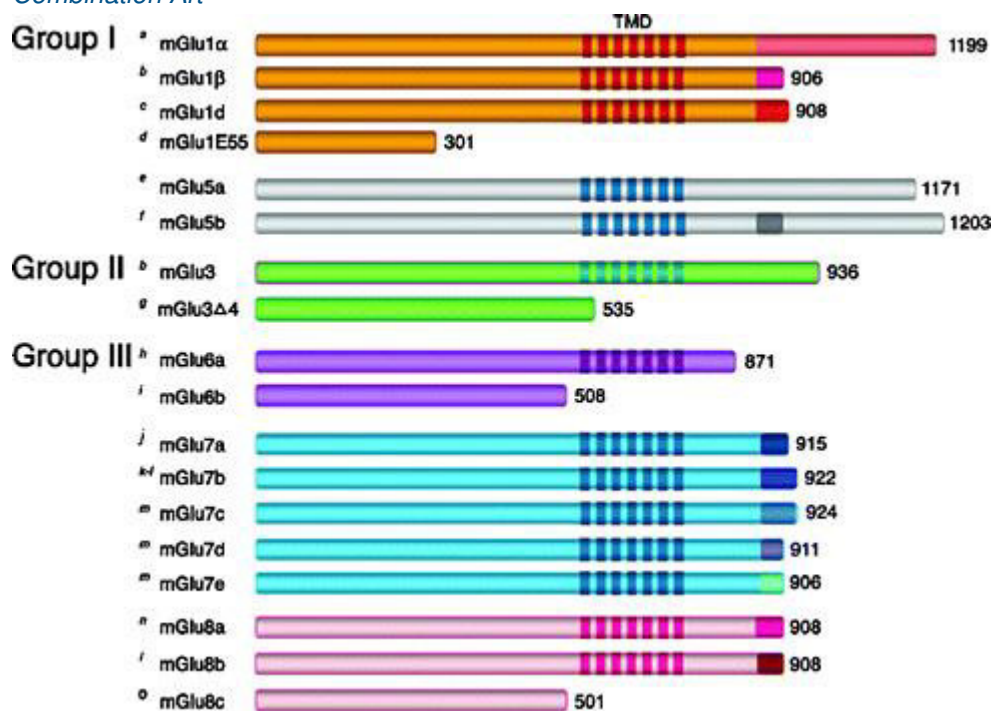
- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to

check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- Figures should be submitted separately from the text, if possible.
- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".
- Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

ENGLISH LANGUAGE EDITING

ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

- The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).
- A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).
- No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

- Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.
- Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.
- Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are **not** accepted **after** acceptance of a manuscript.
- Adding and/or deleting authors and/or changing the order of authors **at revision stage** may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the reason for the change(s) and the contribution role(s) of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.
- Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.
- Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief’s implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.
- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is **maintained on the platform**, watermarked “retracted” and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.
- The author’s institution may be informed.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found

- [here](#):

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

Please make sure to submit all Conflict of Interest disclosure forms together with the manuscript.

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

RESEARCH INVOLVING HUMAN PARTICIPANTS AND/OR ANIMALS

1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

The following statements should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.”

For retrospective studies, please add the following sentence:

“For this type of study formal consent is not required.”

2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists).

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

Ethical approval: “All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.”

If applicable (where such a committee exists): “All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.”

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

“This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors.”

“This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.”

INFORMED CONSENT

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:

Informed consent: “Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.”

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should be included:

“Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.”

RESEARCH DATA POLICY

The journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature’s list of repositories and research data policy.

- [List of Repositories](#)
- [Research Data Policy](#)

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

- [DataCite](#)

Springer Nature provides a research data policy support service for authors and editors, which can be contacted at researchdata@springernature.com.

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.

- [Helpdesk](#)

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer’s web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

- [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](#)

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

OPEN CHOICE

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer’s online platform SpringerLink.

- [Open Choice](#)

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

- [Find more about the license agreement](#)