

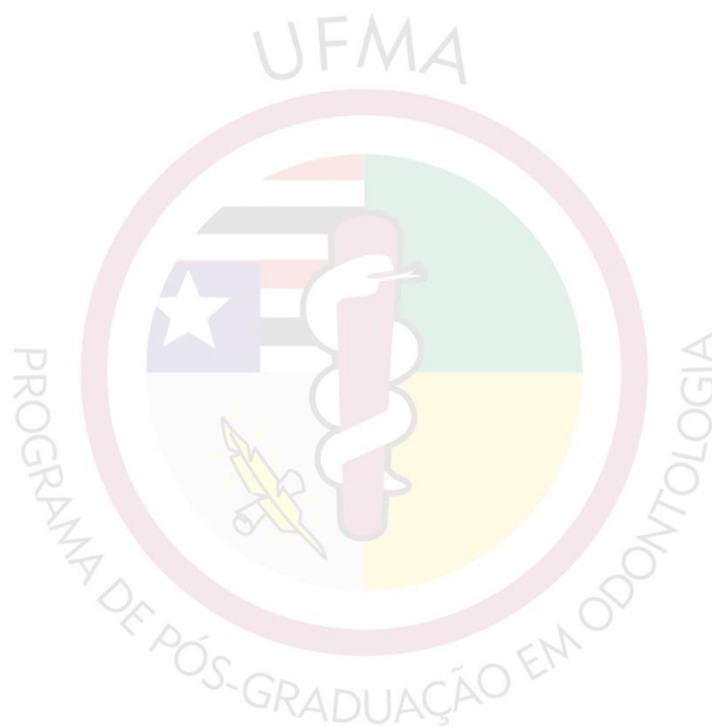


UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
DOUTORADO



MAYRA MOURA FRANCO

**RELAÇÕES ENTRE PARÂMETROS  
CLÍNICOS E SÉRICOS DE  
DOENÇAS/ALTERAÇÕES  
INFLAMATÓRIAS CRÔNICAS E  
DOENÇAS PERIODONTAIS EM  
ADOLESCENTES**



São Luís

2016

**MAYRA MOURA FRANCO**

**RELAÇÕES ENTRE PARÂMETROS CLÍNICOS E SÉRICOS DE  
DOENÇAS/ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS CRÔNICAS E DOENÇAS  
PERIODONTAIS EM ADOLESCENTES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Odontologia como parte dos requisitos para a  
obtenção do título de Doutora em Odontologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Bruno Braga Benatti.

**São Luís**

**2016**

Franco, Mayra Moura

Relações entre parâmetros clínicos e séricos de doenças/alterações inflamatórias crônicas e doenças periodontais em adolescentes. / Mayra Moura Franco. – São Luís - MA, 2016.  
105f.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Braga Benatti

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2016.

1. Síndrome Metabólica. 2. Lipocalina-2. 3. Doenças periodontais. 4. Adolescente. I. Título.

**MAYRA MOURA FRANCO**

**RELAÇÕES ENTRE PARÂMETROS CLÍNICOS E SÉRICOS DE  
DOENÇAS/ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS CRÔNICAS E DOENÇAS  
PERIODONTAIS EM ADOLESCENTES**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Doutorado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 19/12/2016, considerou a candidata:

(    ) APROVADA

(    ) REPROVADA

**BANCA EXAMINADORA**

1) Examinador (a):

2) Examinador (a):

3) Examinador (a):

4) Examinador (a):

5) Presidente:

Aos meus pais, Bismarina e Franco.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por esta realização.

Aos meus pais, Bismarina e Franco, pelo apoio e incentivo constantes.

Aos meus irmãos, Iury e Nayra, pela compreensão e apoio.

A toda minha família, que sempre torceram pelo meu sucesso.

Aos coordenadores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Prof<sup>a</sup>. Dra. Cecilia Claudia Costa Ribeiro e Prof. Dr. Darlon Martins pela dedicação ao mesmo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Braga Benatti, por ter me dado a oportunidade de ser sua orientada de Mestrado e Doutorado, pela confiança depositada no meu trabalho e pelos ensinamentos partilhados e pela contribuição imprescindível para o desenvolvimento deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Cecilia Claudia Costa Ribeiro, por todo o ensinamento transmitido e pela grande contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

À Cadidja Dayane, amiga de Turma do Doutorado e parceira em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho, pelos conhecimentos compartilhados. Muita obrigada!

Ao grupo ADOLESCER: nutricionistas e aos alunos de Iniciação Científica da Odontologia, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos Técnicos do Laboratório de Bioquímica do Curso de Odontologia, Ivaldo e Thaís, por toda ajuda na realização dos testes laboratoriais.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos, por todas as sugestões e contribuições durante a defesa de Qualificação deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Às Prof<sup>as</sup>. Dras. Adriana Vasconcelos e Ivone Santana, pelos ensinamentos e pelas palavras de carinho.

Aos colegas de Pós-Graduação, Vandilson, Consuelo, Anna Clara, Cadidja Dayane, Gisele, Camila, Rogério, Cláudio, Ana Karla, Fábila, Karla Janilee e Allana, por todos os momentos de convivência e companheirismo.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Josinéia Coelho, Noêmia Magalhães, Ludmila Moraes e Mariana Lima, pelo apoio e ajuda em vários momentos do curso.

Aos adolescentes, que aceitaram participar da pesquisa e pela colaboração. Obrigada!

Aos meus amigos, Alessandra Reis, Roberta Brito e Cláudio Junior, por todas as palavras de incentivo e carinho. Obrigada pela grande amizade!

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA, pela bolsa concedida durante o Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Programa de Apoio a Núcleos Emergentes (PRONEM) e à FAPEMA pelo apoio financeiro para a execução da pesquisa.

A todos que, contribuíram, direta ou indiretamente, com a minha formação pessoal e profissional. Muito Obrigada!

*“O homem faz de si a imagem de seus sonhos”.*

Helena Blavatski

## RESUMO

A doença periodontal (DP) é uma doença inflamatória, que envolve os tecidos de proteção e sustentação dos dentes e está relacionada com uma alterada resposta imuno-inflamatória do hospedeiro. As possíveis associações da doença periodontal com doenças sistêmicas crônicas e outros agravos têm sido alvo de grande interesse nos últimos anos. É plausível que essas associações são o resultado de fatores de risco comuns e não relacionados causalmente e ainda que estas relações possam acontecer de forma bidirecional. Várias são as possíveis associações com a doença periodontal: doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, doença renal crônica e artrite reumatoide. Nesse contexto, a síndrome metabólica (SM) e seus componentes também têm sido associados com a doença periodontal, entretanto, os mecanismos que ligam essas alterações ainda precisam ser elucidados. Por sua vez, a NGAL (lipocalina associada à gelatinase neutrofílica), também conhecida por lipocalina-2, é uma glicoproteína da família lipocalinas (pequenas proteínas extracelulares), importantes na defesa do corpo contra várias doenças e tem sido estudada como um biomarcador para doenças sistêmicas, como doença renal aguda e crônica, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias intestinais. Nos tecidos periodontais, poucos trabalhos já avaliaram a NGAL e essas relações ainda não estão bem estabelecidas. A maior parte desses trabalhos que estudaram a possível associação das doenças periodontais e agravos sistêmicos e alterações inflamatórias foi realizada em pacientes adultos. Sendo assim, estudar essas relações em adolescentes pode ajudar a compreender os mecanismos e a progressão dessas alterações. Dessa forma, o Capítulo I desta Tese, Associação dos componentes da síndrome metabólica com os parâmetros da doença periodontal em adolescentes, teve o objetivo de avaliar a associação dos componentes da síndrome metabólica e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes de 17-18 anos. Trata-se de estudo observacional representativo de escolares matriculados na rede pública de São Luís – MA, com amostragem aleatória em 3 estágios (escola, turma e alunos), de janeiro de 2014 a julho de 2016 (n=365). Foi aferida a profundidade de sondagem (PS) e o sangramento à sondagem (SS) em seis sítios de todos os dentes, exceto terceiros molares. As variáveis componentes da SM, pressão arterial, HDL colesterol (HDL-C), triglicerídeos, razão cintura-quadril e índice de massa corporal (IMC) foram analisadas em associação com a extensão da doença periodontal (SS / PS) e avaliadas como variáveis discretas (número de sítios com SS e o número de sítios com PS  $\geq$  4 mm). Primeiro, uma análise bivariada foi realizada entre os componentes da síndrome metabólica e

cada desfecho periodontal. Em seguida, os modelos foram ajustados para sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar. Os coeficientes estimados foram calculados em modelos de regressão de Poisson e expressos como as razões de médias (RM) e intervalos de confiança de 95% (IC95%), com nível de significância de 5% ( $\alpha = 0,05$ ). No modelo ajustado, HDL-C (RM 1,20,  $p < 0,001$ ; RM 1,47,  $p < 0,001$ ), triglicerídeos (RM 1,11,  $p = 0,001$ ; RM 1,54,  $p < 0,001$ ), pressão diastólica (RM 1,84,  $p < 0,001$ ; RM 1,76,  $p < 0,001$ ), razão cintura-quadril (RM 12,07,  $p < 0,001$ ; RM 5,86,  $p = 0,024$ ) e IMC (RM 1,67  $p < 0,001$ ; RM 2,33,  $p < 0,001$ ) foram associados ao número de sítios com sangramento à sondagem e ao número de sítios com PS  $\geq 4$  mm, respectivamente. Assim, componentes da síndrome metabólica, em particular os ligados a padrões alimentares inadequados, estão associados de forma individual e independente à atividade de doença periodontal e destruição tecidual em adolescentes. E o Capítulo II, Níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes, teve o objetivo de verificar a relação entre os níveis séricos de NGAL e parâmetros da doença periodontal em adolescentes de 17 e 18 anos. Trata-se de estudo observacional representativo de escolares matriculados na rede pública de São Luís – MA, com amostragem aleatória em 3 estágios (escola, turma e alunos), de janeiro de 2014 a julho de 2016 ( $n=281$ ). Foram avaliados os seguintes parâmetros periodontais: sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínica (NIC), em seis sítios de todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares. O teste T de Student independente foi selecionado para comparar as médias dos níveis séricos de NGAL entre adolescentes de acordo com os seguintes parâmetros: 1) sangramento à sondagem (presença de pelo menos 15% de sítios com SS); 2) PS (presença de pelo menos um dente com PS  $\geq 4$  mm em um ou mais sítios); 3) NIC (presença de pelo menos um dente com NIC  $\geq 4$  mm em um ou mais sítios). Os níveis séricos de NGAL foram correlacionados com a extensão da doença periodontal usando o coeficiente de Pearson (correlação linear de Pearson) de acordo com os seguintes parâmetros: número de sítios com SS, número de sítios com PS  $\geq 4$  mm e número de sítios com NIC  $\geq 4$  mm. Além disso, os níveis séricos de NGAL foram analisados em associação com a extensão da doença periodontal (SS, PS e NIC) e avaliados como variáveis discretas. Primeiro, uma análise bivariada foi realizada. Em seguida, os modelos foram ajustados para sexo, renda familiar e fumo. Os coeficientes estimados foram calculados em modelos de regressão de Poisson e expressos como as razões de médias (RM) e intervalos de confiança de 95% (IC95%). O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) e os dados foram analisados utilizando o software Stata (versão 14.0). A média dos níveis séricos de NGAL foi significativamente maior nos adolescentes que apresentaram:

15% ou mais de sítios com SS ( $p = 0,002$ ); pelo menos um dente com PS  $\geq 4$  mm ( $p < 0,001$ ); pelo menos um dente com NIC  $\geq 4$  mm ( $p < 0,001$ ). A NGAL apresentou correlações positivas e significativas com os seguintes parâmetros periodontais: número de sítios com sangramento à sondagem ( $r = 0,188$ ;  $p = 0,001$ ), número de sítios com PS  $\geq 4$  mm ( $r = 0,250$ ,  $p = 0,001$ ), e número de sítios com NIC  $\geq 4$  mm ( $r = 0,303$ ,  $p < 0,001$ ). Na análise multivariada, os tercis mais elevados de NGAL foram significativamente associados com SS (RM = 1,52, IC = 1,37-1,69,  $p < 0,001$ ), PS (RM = 1,76, IC = 1,38-2,24,  $p < 0,001$ ) e NIC (RM = 2,93, IC = 2,05-4,19,  $p < 0,001$ ). A inflamação sistêmica, aqui marcada por níveis mais elevados de NGAL, está associada a parâmetros de doença periodontal em adolescentes. Nesse sentido, a doença periodontal pode ser uma condição clínica na cavidade bucal, que reflete a inflamação sistêmica e / ou o risco futuro de doenças crônicas.

**Palavras-chave:** Síndrome Metabólica. Lipocalina-2. Doenças periodontais. Adolescente.

## ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is an inflammatory disease, which involves protection and support tissues of the teeth and is related to an impaired immune host-response. The possible associations of periodontal disease with chronic systemic diseases and other diseases have been of great interest in recent years. It is plausible that these associations are the result of common and non-causally related risk factors and even though these relationships may occur bidirectionally. There are several possible associations with periodontal disease: cardiovascular diseases, diabetes mellitus type 2, chronic kidney disease and rheumatoid arthritis. In this context, the metabolic syndrome (MS) and its components have also been associated with periodontal disease, however, the mechanisms that link these alterations still need to be elucidated. In turn, NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin), also known as lipocalin-2, is a glycoprotein of the lipocalin family (small extracellular proteins), important in the defense of the body against various diseases and has been studied as a biomarker for systemic diseases such as acute and chronic kidney disease, cardiovascular diseases and inflammatory bowel diseases. In periodontal tissues, few studies have evaluated NGAL and these relationships are still not well established. Most of these studies that studied the possible association of periodontal diseases and systemic diseases and inflammatory disorders were performed in adult patients. Therefore, studying these relationships in adolescents may help to understand the mechanisms and progression of these changes. Thus, the Chapter I, Association of components of metabolic syndrome with periodontal disease parameters in adolescents, evaluated the association of the components of metabolic syndrome and periodontal disease parameters in adolescents aged 17-18 years. This is a representative observational study of students of public schools in São Luís - MA, with random sampling in 3 stages (school, class and students) from January 2014 to July 2016 (n = 365). Probing depth (PD) and bleeding on probing (BOP) were measured at six sites per teeth, except third molars. The variables components of MS, blood pressure, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides, waist-hip ratio and body mass index (BMI) were analyzed in association with the extent of periodontal disease (BOP and PD) and assessed as discrete variables (number of sites with BOP and the number of sites with PD  $\geq$  4 mm). First, a bivariate analysis was performed between components of metabolic syndrome and each periodontal outcome. Next, the models were adjusted for sex, adolescent's skin color, maternal education level and household income. The estimated coefficients were

calculated in Poisson regression models and expressed as the means ratio (MR) and 95% confidence intervals (95% CI), with significance level of 5% ( $\alpha = 0.05$ ). In adjusted models HDL-C (MR 1.20,  $p < 0.001$ ; MR 1.47,  $p < 0.001$ ), triglycerides (MR 1.11,  $p = 0.001$ ; MR 1.54,  $p < 0.001$ ), diastolic blood pressure (MR 1.84,  $p < 0.001$ ; MR 1.76,  $p < 0.001$ ), waist-hip ratio (MR 12.07,  $p < 0.001$ ; MR 5.86,  $p = 0.024$ ) and BMI (MR 1.67  $p < 0.001$ ; MR 2.33,  $p < 0.001$ ) were associated with the number of sites with BOP and with the number of sites with  $PD \geq 4$  mm, respectively. Thus, components of the metabolic syndrome, in particular those linked to inadequate dietary patterns, are individually and independently associated with and periodontal disease activity and tissue destruction in adolescents. And Chapter II, Serum NGAL levels and periodontal disease parameters in adolescents, verified the relationship between serum levels of NGAL and periodontal disease parameters in adolescents aged 17 and 18 years. This is a representative observational study of students of public schools in São Luís - MA, with random sampling in 3 stages (school, class and students) from January 2014 to July 2016 ( $n=281$ ). The following periodontal parameters were evaluated: bleeding on probing (BOP), probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL) at six sites per teeth, except third molars. The mean of serum NGAL levels of adolescents were compared using the Independent Student's t-test according to the following parameters: 1) bleeding on probing (the presence of at least 15% of sites with BOP); 2) PD (the presence of at least one tooth with  $PD \geq 4$  mm in one or more sites); 3) CAL (the presence of at least a tooth with  $CAL \geq 4$  mm in one or more sites). Serum NGAL levels were correlated to the extent of periodontal disease using the Pearson's coefficient (Pearson's linear correlation) according to the following parameters: the number of sites with bleeding on probing, the number of sites with  $PD \geq 4$  mm and the number of sites with  $CAL \geq 4$  mm. In addition, serum NGAL levels were analysed in association with the extent of periodontal disease (BOP, PD and CAL) and assessed as discrete variables. First, a bivariate analysis was performed. Next, the models were adjusted for sex, household income and smoke. The estimated coefficients were calculated in Poisson regression models and expressed as the means ratio (MR) and 95% confidence intervals (95% CI). The significance level applied in all analyses was 5% ( $\alpha = 0.05$ ), and data were analysed using Stata software (version 14.0). The mean of serum NGAL levels were significantly higher in adolescents who presented: 15% or more sites with BOP ( $p = 0.002$ ); at least one tooth with  $PD \geq 4$  mm ( $p < 0.001$ ); at least one tooth with  $CAL \geq 4$  mm ( $p < 0.001$ ). NGAL had significant and positive correlations with the following periodontal parameters: the number of sites with bleeding on probing ( $r = 0.188$ ;  $p = 0.001$ ), the number of sites with  $PD \geq 4$  mm ( $r = 0.250$ ,  $p = 0.001$ ), and number of sites with  $CAL \geq 4$  mm ( $r =$

0.303,  $p < 0.001$ ). In the multivariate analysis, the highest tertiles of NGAL were significantly associated with BOP (MR=1.52, CI=1.37-1.69,  $p < 0.001$ ), PD (MR=1.76, CI=1.38-2.24,  $p < 0.001$ ) and CAL (MR=2.93, CI=2.05-4.19,  $p < 0.001$ ). Systemic inflammation, here marked by higher levels of NGAL, is associated with periodontal disease parameters in adolescents. In this sense, periodontal disease may be a clinical marker/condition in the oral cavity reflecting systemic inflammation and/or future risk for chronic diseases.

**Keywords:** Metabolic Syndrome. Lipocalin-2. Periodontal diseases. Adolescent.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESUMO.....</b>                                                                                                                    | <b>vii</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                                                                 | <b>x</b>   |
| <br>                                                                                                                                  |            |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                             | <b>1</b>   |
| <b>2 CAPÍTULO I - Associação dos componentes da síndrome metabólica com os parâmetros da doença periodontal em adolescentes .....</b> | <b>5</b>   |
| <b>3 CAPÍTULO II - Níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes .....</b>                             | <b>22</b>  |
| <b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                                                    | <b>41</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                              | <b>42</b>  |
| <b>APÊNDICE A – Questionário sociodemográfico, história médica e odontológica e hábitos de vida .....</b>                             | <b>47</b>  |
| <b>APÊNDICE B – Ficha de exame periodontal .....</b>                                                                                  | <b>59</b>  |
| <b>APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</b>                                                                  | <b>60</b>  |
| <b>ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa .....</b>                                                         | <b>64</b>  |
| <b>ANEXO B – Diretrizes para publicação no Periódico Clinical Oral Investigations .....</b>                                           | <b>67</b>  |
| <b>ANEXO C – Diretrizes para publicação no Periódico Journal of Clinical Periodontology.....</b>                                      | <b>79</b>  |

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1. 1 Doença periodontal**

A doença periodontal é uma doença inflamatória, que envolve os tecidos de proteção e sustentação dos dentes e está relacionada com uma prejudicada resposta imunoinflamatória do hospedeiro (HOLTFRETER et al., 2013), sendo que a periodontite é um considerada um importante problema de saúde pública, pois reduz a qualidade de vida, reduz a função mastigatória, pode levar a perda de dentes e ainda é uma doença crônica com possível impacto sobre a saúde (BAEHNI; TONETTI, 2010; EKE et al., 2012).

A destruição dos tecidos periodontais é mediada pela inflamação (MCCAULEY; NOHUTCU, 2002; TAUBMAN et al., 2007; GRAVES, 2008). Os macrófagos, juntamente com os neutrófilos, são responsáveis pela fagocitose e digestão de microorganismos e substâncias estranhas através de receptores de superfície que reconhecem e ligam certas moléculas de superfície de bactérias, como os lipopolissacarídeos - LPS (MEDZHITOV; JANEWAY, 1997). Estes receptores são os componentes-chave para distinguir entre o hospedeiro e o invasor e são definidos como receptores de reconhecimento de patógenos, chamados receptores tipo toll (TLR), que regulam a apoptose, a inflamação e as respostas imunológicas (ANDERSON, 2000).

Além disso, na presença de LPS ocorre a destruição de tecidos indiretamente pela ativação de células de defesa do hospedeiro (linfócitos, macrófagos e leucócitos polimorfonucleares - PMNs), que por sua vez produzem e liberam mediadores inflamatórios, tais como a interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), prostaglandinas e enzimas (PAGE, 1991; PAGE et al., 1997). Entre as enzimas proteolíticas derivadas de células do hospedeiro, as metaloproteinases de matriz (MMPs) apresentam um papel importante na destruição dos tecidos periodontais, mediando a degradação da matrix extracelular (BIRKEDAL-HANSEN, 1993). As células epiteliais também podem produzir essas enzimas, o que pode facilitar a migração e extensão lateral do epitélio juncional e a subsequente perda de ligação do tecido conjuntivo (RYAN; GOLUB, 2000).

### **1. 1 Doença periodontal e síndrome metabólica**

As possíveis associações da doença periodontal com doenças sistêmicas crônicas e outros agravos têm sido alvo de grande interesse nos últimos anos (LINDEN et al., 2013).

Nesse sentido, as evidências epidemiológicas que ligam as doenças periodontais à progressão de doenças sistêmicas, como doenças cardiovasculares e diabetes mellitus, parecem estar associadas com o fato de que bactérias e seus produtos e mediadores inflamatórios podem entrar no sangue e disseminar-se sistematicamente com um impacto mensurável na inflamação sistêmica. No entanto, é plausível que essas associações são o resultado de fatores de risco comuns e não relacionados causalmente (VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013) e ainda que estas relações possam acontecer de forma bidirecional (HAN et al., 2010; WAHID et al., 2013; BASCONES-MARTÍNEZ; MUÑOZ-CORCUERA M; BASCONES-ILUNDAIN, 2015)

Várias são as possíveis associações com a doença periodontal: doenças cardiovasculares (AMABILE et al., 2008; BUHLIN et al., 2009; LOCKHART et al., 2012; DIETRICH et al., 2013); diabetes mellitus tipo 2 (DEMMER et al., 2008; MEALEY et al., 2008; CHÁVARRY et al., 2009; LALLA et al., 2011); doença renal crônica (D'AIUTO et al., 2004; CRAIG et al., 2008; WAHID et al., 2013; YOSHIHARA et al., 2016); artrite reumatóide (PISCHON et al., 2008; DETERT et al., 2010; CHOI et al., 2016). Apesar dessas associações epidemiológicas, os mecanismos que podem explicar essas relações permanecem desconhecidos. No entanto, já foram formuladas algumas hipóteses, incluindo uma susceptibilidade comum e a presença de uma inflamação sistêmica com aumento da circulação de citocinas e mediadores inflamatórios (SEYMOUR et al., 2007).

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por inúmeras desordens, que envolvem hiperglicemia/hiperinsulinemia, obesidade, dislipidemias e hipertensão (CAMERON et al., 2004; ALBERTI, ZIMMET, SHAW, 2006) e várias são as definições propostas. Os critérios estabelecidos pelo National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III, 2001) são um dos mais utilizados: glicemia em jejum ( $\geq 110$  mg/dL); HDL colesterol (HDL  $< 40$  mg/dL/ homens e  $< 50$  mg/dL/ mulheres); triglicerídeos ( $\geq 150$  mg/dL); pressão arterial (sistólica  $\geq 130$  mmHg ou diastólica  $\geq 85$  mmHg); obesidade (circunferência da cintura  $\geq 102$  / homens e  $\geq 88$  mulheres).

Sabe-se que a SM e seus componentes também têm sido associados com a doença periodontal: resistência à insulina (SAITO et al., 2004; GENCO et al., 2005); dislipidemias (KATZ et al., 2002; NIBALI et al., 2007); hipertensão (HAN et al., 2010; RIVAS-TUMANYAN et al., 2013) e obesidade (SAITO et al., 2007; SUVAN et al., 2011). Entretanto, os mecanismos que ligam essas alterações ainda precisam ser elucidados. NESBITT et al. (2010) considera a inflamação crônica como a base para a associação entre a doença periodontal e síndrome metabólica que pode ser ligada através de uma via

fisiopatológica comum. Além disso, tem sido relatado que a associação entre periodontite e síndrome metabólica pode ser bidirecional (HAN et al., 2010), ou seja, os marcadores inflamatórios em vários componentes da SM podem regular o processo inflamatório periodontal e a inflamação periodontal persistente pode agravar os componentes inflamatórios da SM (GURAV, 2014).

Poucos trabalhos têm analisado uma possível relação entre a síndrome metabólica e doenças periodontais em pacientes jovens, o que seria importante para ajudar a compreender o início dessas inter-relações. Além disso, a relação entre a doença periodontal e risco cardiovascular futuro pode ter seu início ainda na adolescência, tendo como fator comum a síndrome metabólica presente nessa fase da vida.

## **1. 2 Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL)**

A lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL) é uma glicoproteína da família lipocalinas (pequenas proteínas extracelulares), importantes na defesa do corpo contra várias doenças, que se ligam principalmente a moléculas hidrofóbicas tais como ferro, ácidos graxos, prostaglandinas, esteróides e metaloproteinases de matriz (AKERSTROM, FLOWER, SALIER, 2000). A NGAL é um componente essencial do sistema imunitário inato antimicrobiano, está presente em neutrófilos e em vários outros tecidos (NASIOUDIS, WITKIN, 2015). Assim, a NGAL pode ser encontrada em um grande número de tecidos, como cólon, útero, traqueia, pulmão, estômago, próstata e glândula salivar (COWLAND, BORREGAARD, 1997). Uma maior concentração de NGAL tem sido observada nas células renais tubulares, células epiteliais intestinais, células do estômago e células hepáticas, em resposta a estímulos nocivos, que incluem infecção ou isquemia (MISHRA et al., 2003; ALPÍZAR-ALPÍZAR et al., 2009; YOO et al., 2013; XU et al., 2015).

Dessa forma, a NGAL tem sido estudada como um biomarcador para doenças sistêmicas, como doença renal aguda e crônica (DEVARAJAN, 2008; HAASE et al., 2009; NISHIDA et al., 2010), doenças cardiovasculares (HELANOVA et al., 2014) e doenças inflamatórias intestinais (OIKONOMOU et al., 2012; JANAS et al., 2014). Está ligada a uma gelatinase neutrofílica (uma enzima do grupo das metaloproteinases de matriz - 92 kDa gelatinase) (KJELDSEN et al., 1993), é liberada por neutrófilos ativados, em pequenas concentrações por células epiteliais, células renais tubulares e hepatócitos (FLO et al., 2004), além de estar presente em células endoteliais e macrófagos, estando correlacionado com parâmetros inflamatórios (HELANOVA et al., 2014).

Já nos tecidos periodontais, a NGAL já foi encontrada em tecidos gengivais de pacientes jovens e adultos (WESTERLUND et al; 1996). Além disso, BONDY-CAREY et al. (2013) relataram uma maior produção de NGAL induzida por *Porphyromonas gingivalis* na presença de neutrófilos em um “modelo de doença periodontal” e MORELLI et al. (2014), observaram maiores níveis salivares de NGAL em pacientes que possuíam 1 ou mais sítios com PS > 3 mm e 50% de sítios com sangramento à sondagem em comparação com pacientes saudáveis. Porém essas relações ainda não estão bem estabelecidas. Além disso, estudar a NGAL relacionada com a doença periodontal, não somente em nível local, em adolescentes, pode ajudar a compreender como esses fenômenos podem estar associados a doenças crônicas no futuro.

## **2. CAPÍTULO I**

(Artigo a ser submetido ao periódico Clinical Oral Investigations)

### **Associação dos componentes da síndrome metabólica com os parâmetros da doença periodontal em adolescentes**

### **Association of components of metabolic syndrome with periodontal disease parameters in adolescents**

Running title: Metabolic syndrome and periodontal disease

Mayra Moura Franco<sup>1</sup>, Cecilia Claudia Costa Ribeiro<sup>2</sup>, Cadidja Dayane Sousa do Carmo<sup>1</sup>, Deborah Rackel Caldas da Rocha<sup>3</sup>, Bruno Braga Benatti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Odontologia II, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

<sup>3</sup>Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

#### **Autor para correspondência:**

Bruno Braga Benatti

Universidade Federal do Maranhão, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Campus do Bacanga- Avenida dos Portugueses, s/n; CEP 65085-580; São Luís – MA; Brasil. Telefone: (98) 981047777

E-mail: bbbenatti@gmail.com

#### **Agradecimentos**

Agradecemos aos diretores das escolas, aos pais/responsáveis dos adolescentes e aos adolescentes que participaram deste estudo. Agradecemos também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 403315/2012-3) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

## RESUMO

*Objetivo:* Avaliar a associação dos componentes da síndrome metabólica (SM) e parâmetros da doença periodontal em adolescentes.

*Materiais e métodos:* Trata-se de estudo transversal de base populacional, com adolescentes de 17-18 anos (n = 365). Profundidade de sondagem (PS) e sangramento à sondagem (SS) foram avaliados em seis sítios por dente. Regressão de Poisson foi realizada para as variáveis pressão arterial, HDL colesterol (HDL-C), triglicerídeos, razão cintura-quadril e índice de massa corporal (IMC) em associação com o número de sítios com SS e número de sítios com PS  $\geq 4$  mm. As razões de médias (RM) e o intervalo de confiança (IC 95%), com nível de significância de 5%, foram calculados.

*Resultados:* Nos modelos ajustados HDL-C (RM 1,20, p <0,001; RM 1,47, p <0,001), triglicerídeos (RM 1,11, p = 0,001; RM 1,54, p <0,001), pressão diastólica (RM 1,84, p <0,001; RM 1,76, p <0,001), razão cintura-quadril (RM 12,07, p <0,001; RM 5,86, p = 0,024) e IMC (RM 1,67 p <0,001; RM 2,33, p <0,001) foram associados com o número de sítios com SS e com o número de sítios com PS  $\geq 4$  mm, respectivamente.

*Conclusão:* Alguns componentes da síndrome metabólica estão associados de forma individual e independente à atividade da doença periodontal e destruição tecidual em adolescentes.

*Relevância Clínica:* Os componentes da síndrome metabólica estão associados aos parâmetros da doença periodontal em adolescentes. Nesse sentido, a doença periodontal pode ser um marcador/condição clínica na cavidade bucal, refletindo a inflamação sistêmica e/ou o risco futuro de doenças crônicas.

**Palavras-chave:** Componentes da Síndrome Metabólica, Parâmetros da Doença Periodontal, Adolescente, Inflamação.

## ABSTRACT

*Objective:* To evaluate the association of components of metabolic syndrome (MS) and periodontal disease parameters in adolescents.

*Materials and methods:* This cross-sectional population-based study included adolescents aged 17-18 years old (n = 365). Probing depth (PD) and bleeding on probing (BOP) were measured at six sites per teeth. Poisson regression was performed for the variables blood pressure, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides, waist-hip ratio and body mass index (BMI) in association with the number of sites with BOP and the number of sites with PD  $\geq 4$  mm. Means ratio (MR) and confidence interval (95% CI), with a significance level of 5%, were calculated.

*Results:* In adjusted models HDL-C (MR 1.20, p <0.001; MR 1.47, p <0.001), triglycerides (MR 1.11, p = 0.001; MR 1.54, p <0.001), diastolic pressure (MR 1.84, p <0.001; MR 1.76, p <0.001), waist-hip ratio (MR 12.07, p <0.001; MR 5.86, p = 0.024) and BMI, (MR 1.67 p <0.001; MR 2.33, p <0.001) were associated with the number of sites with BOP and with the number of sites with PD  $\geq 4$  mm, respectively.

*Conclusion:* Some components of the metabolic syndrome are individually and independently associated to periodontal disease activity and tissue destruction in adolescents.

*Clinical Relevance:* Metabolic syndrome components are associated with periodontal disease parameters in adolescents. In this sense, periodontal disease may be a clinical marker/condition in the oral cavity reflecting systemic inflammation and/or future risk for chronic diseases.

Keywords: Metabolic Syndrome Components, Periodontal Disease Parameters, Adolescent, Inflammation.

## INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica é caracterizada por hiperglicemia, obesidade, hipertrigliceridemia, baixos níveis de HDL colesterol/HDL-C (lipoproteínas de alta densidade) e hipertensão [1, 2]. E essa condição pode estar relacionada ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares [3,4] e diabetes mellitus tipo 2 [4-6].

Nesta perspectiva, também há evidências crescentes ligando a periodontite ao diabetes [7-9] e às doenças cardiovasculares [10, 11]. A doença periodontal é uma doença infecciosa-inflamatória, que envolve os tecidos de proteção e de suporte dos dentes, está relacionada a uma resposta imune-inflamatória alterada do hospedeiro [12] e é conhecida por diminuir a função mastigatória, podendo levar à perda dentária e redução da qualidade de vida [13].

Alguns estudos também demonstraram uma associação entre doença periodontal e síndrome metabólica (SM). Um maior risco para doença periodontal foi observado em mulheres com idade entre 40 e 79 anos que apresentaram maior número de componentes alterados da síndrome metabólica [14]. D'Aiuto et al. [15] também demonstraram associação entre periodontite avançada e síndrome metabólica em indivíduos com 45 anos ou mais, enquanto indivíduos com dois ou mais componentes da SM apresentaram maior prevalência de doença periodontal, enfatizando que a SM e especialmente baixos níveis de HDL colesterol foram associados com a doença periodontal [16]. Um estudo longitudinal com 760 homens (idade média de 61 anos) relatou que a síndrome metabólica aumentava o risco para a presença de profundidade de sondagem (PD)  $\geq 5$  mm e nível de inserção clínica (NIC)  $\geq 5$  mm, sugerindo que distúrbios metabólicos que compõem a SM podem ter um papel no desenvolvimento ou agravamento da periodontite [17]. Além disso, uma revisão sistemática com metanálise apresentou evidências da associação entre síndrome metabólica e doença periodontal [18].

No entanto, alguns aspectos ainda precisam ser esclarecidos, como a direção e o início dessa associação. Pode-se supor que essa associação seja bidirecional [19], ou seja, marcadores inflamatórios em diversos componentes da SM podem regular o processo inflamatório periodontal e a inflamação periodontal persistente pode piorar os componentes inflamatórios da SM [20]. A relação entre síndrome metabólica e doença periodontal é predominantemente observada em pacientes adultos e/ou idosos.

Entretanto, a SM pode já estar presente em pacientes mais jovens [21-24]. Nesse sentido, seria plausível que uma possível relação entre a síndrome metabólica e as doenças periodontais em adolescentes pudesse ajudar a entender o início dessas inter-relações. Um estudo que realizou o exame periodontal parcial da boca encontrou um aumento na razão de chance para gengivite entre adolescentes de 12 a 18 anos que tinham três ou mais componentes da síndrome metabólica alterados, especialmente baixos níveis de HDL colesterol [25].

Assim, é razoável supor que a relação entre doença periodontal e risco futuro cardiovascular possa começar durante a adolescência, com a síndrome metabólica como um fator comum. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a associação dos componentes da síndrome metabólica e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Desenho do estudo e participantes**

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (protocolo nº 441.226). O consentimento informado foi obtido de todos os participantes que foram incluídos no estudo.

Trata-se de um estudo transversal de base populacional, com adolescentes de 17 a 18 anos matriculados na rede estadual de ensino da cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. A amostragem aleatória complexa foi realizada em três estágios, de janeiro de 2014 a julho de 2016.

No primeiro estágio (escola), foram identificadas todas as escolas estaduais de ensino médio da zona urbana (N = 52) e randomizadas para selecionar uma amostra de 13 escolas, utilizando dados obtidos da Secretaria de Educação do Estado do Maranhão (SEDUC). No segundo estágio (classe), a randomização baseou-se em dados de cada escola amostral, selecionando apenas as turmas de Ensino Médio das escolas selecionadas anteriormente, obtendo 39 turmas da amostra, 3 turmas por escola. Alunos que tinham 17 ou 18 anos de idade nessas classes (N = 2.030) foram considerados elegíveis para o estudo. No terceiro estágio (aluno), os alunos elegíveis foram randomizados das classes selecionadas (n = 522).

Cinquenta e cinco adolescentes foram excluídos com base nos critérios de exclusão: usuários de aparelhos ortodônticos (n = 52) e grávidas (n = 3). Dos adolescentes que preencheram os critérios de inclusão (n = 467), 13,2% não concordaram em participar do

estudo (n = 62). Da amostra inicial de 405 adolescentes, 365 realizaram o exame de sangue, constituindo a amostra final.

### **Coleta de dados**

Um questionário estruturado foi aplicado por meio de entrevistas com adolescentes e incluiu informações sobre condições de saúde, fatores socioeconômicos e dados demográficos (sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar).

As medidas antropométricas foram realizadas por dois nutricionistas. Para a obtenção do peso corporal, utilizou-se balança portátil TANITA® com precisão de 100g e capacidade de 150 kg. Para medir a estatura foi utilizado um estadiômetro portátil (Altuxata®) com precisão de 1,0 cm. Durante o processo de calibração, diferenças de até 1 cm de altura e 100 g de peso corporal foram consideradas aceitáveis entre as medidas dos avaliadores. O índice de massa corporal (IMC) é a razão entre o peso corporal (kg) e a altura (m<sup>2</sup>). Para medir a circunferência da cintura, utilizou-se uma fita antropométrica flexível (Sanny®, São Paulo, SP, Brasil), obtida no topo da cicatriz umbilical, e a leitura foi realizada no momento final da expiração, com o cuidado de evitar a compressão tecidual. Esta mesma fita foi usada para medir o perímetro do quadril. A pressão arterial (mmHg) dos adolescentes foi medida na posição sentada utilizando um monitor automático de pressão arterial (Microlife, São Paulo, Brasil), duas vezes para uso da média das leituras. Amostras de sangue foram coletadas dos adolescentes após um jejum de 10 a 12 horas para determinar HDL colesterol, triglicerídeos e glicemia.

O exame periodontal foi realizado em todos os dentes existentes, com exceção dos terceiros molares, para avaliação de seis sítios (disto-vestibular, médio-vestibular, mesio-vestibular, disto-lingual, médio-lingual e mesio-lingual). Um espelho dental e uma sonda milimetrada Williams (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) foram utilizados durante as avaliações clínicas. Cada voluntário foi examinado na escola em um consultório odontológico portátil. Os seguintes parâmetros foram avaliados: sangramento à sondagem (SS), verificado pela presença ou ausência de sangramento após sondagem; profundidade de sondagem (PS), que foi definida como a distância da margem gengival ao ponto apical do fundo do sulco gengival ou bolsa (em mm). A profundidade de sondagem indica a condição periodontal atual e o sangramento à sondagem indica inflamação em curso e está associado a um risco aumentado de dano futuro aos tecidos periodontais [26]. Dois dentistas calibrados avaliaram os parâmetros periodontais em um estudo piloto (n = 20). A confiabilidade Kappa

interexaminadores foi de 0,79 para PS. O coeficiente de correlação intraexaminador também foi calculado para PS (0,87) utilizando o índice Kappa.

### **Variáveis do estudo**

Os componentes da síndrome metabólica foram considerados como variável de exposição e foram utilizados os critérios adaptados do ‘National Cholesterol Education Program’s Adult Treatment Panel III’ (NCEP-ATP III 2001) e da Organização Mundial de Saúde (WHO 1999). Os componentes avaliados foram os seguintes: glicemia em jejum ( $\geq 110$  mg/dL); HDL colesterol (HDL  $<40$  mg/dL/ homens e  $<50$  mg/dL/ mulheres); triglicerídeos ( $\geq 150$  mg/dL/); pressão arterial (sistólica  $\geq 130$  mmHg ou diastólica  $\geq 85$  mmHg); obesidade (índice de massa corporal - IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>; razão cintura-quadril).

O desfecho foi a extensão da doença periodontal, avaliada como variáveis discretas: número de sítios com SS e o número de sítios com PS  $\geq 4$  mm.

As seguintes variáveis foram consideradas potenciais fatores de confundimento: sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar. A escolaridade materna foi definida como 1 para  $\leq 4$  anos de estudo, 2 para 5 a 8 anos, 3 para 9 a 11 anos ou 4 para  $\geq 12$  anos. A renda familiar em reais, baseada no salário mínimo (agosto de 2014) foi categorizada como:  $< 1$  salário mínimo mensal, 1 a  $< 3$  salários mínimos, 3 a  $< 5$  salários mínimos ou  $\geq 5$  salários mínimos.

### **Análise Estatística**

As variáveis componentes da SM (pressão arterial, HDL colesterol, triglicerídeos, razão cintura-quadril e IMC) foram analisadas em associação com a extensão da doença periodontal (SS e PS), avaliadas como variáveis discretas (número de sítios com SS e o número de sítios com PD  $\geq 4$  mm). Primeiro, uma análise bivariada foi realizada entre os componentes da síndrome metabólica e cada desfecho periodontal. Em seguida, os modelos foram ajustados para sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar. Os coeficientes estimados foram calculados em modelos de regressão de Poisson e expressos como as razões de médias (RM) e intervalos de confiança de 95% (IC95%). O nível de significância adotado foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) e os dados foram analisados no software Stata (versão 14.0).

## RESULTADOS

A amostra final foi composta por 365 adolescentes. A maioria da amostra foi composta por mulheres (55,6%) e a maioria dos adolescentes declarou-se parda (66,4%). Além disso, a amostra do estudo apresentou altos percentuais de mães com 9 a 11 anos de estudo (40,6%) e de famílias com renda domiciliar na faixa de 1 a < 3 vezes o salário mínimo mensal (52,6%) (Tabela 1).

Na análise multivariada, que incluiu ajuste para as variáveis socioeconômicas e demográficas, baixo colesterol HDL (RM 1,20, IC 1,14-1,26,  $p < 0,001$ ), triglicerídeos elevados (RM 1,11, IC 1,04-1,18,  $p = 0,001$ ), pressão arterial diastólica alta (RM 1,84, IC 1,72-1,96,  $p < 0,001$ ), razão cintura-quadril elevada (RM 12,07, IC 7,56-19,29,  $p < 0,001$ ) e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  (RM 1,67, IC 1,53-1,82,  $p < 0,001$ ) foram significativamente associados ao número de sítios com SS (Tabela 2).

Assim como, baixo colesterol HDL (RM 1,47, IC 1,25-1,74,  $p < 0,001$ ), triglicerídeos elevados (RM 1,54, IC 1,22-1,95,  $p < 0,001$ ), pressão arterial diastólica alta (RM 1,76, IC 1,44-2,16,  $p < 0,001$ ), razão cintura-quadril elevada (RM 5,86, IC 1,25-27,42,  $p = 0,024$ ) e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  (RM 2,33, IC 1,78-3,05,  $p < 0,001$ ) foram significativamente associados ao número de sítios com a presença de PS  $\geq 4 \text{ mm}$ , após ajuste para variáveis socioeconômicas e demográficas (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

Este estudo verificou uma associação significativa dos baixos níveis de HDL colesterol, triglicerídeos elevados, pressão diastólica elevada, razão cintura-quadril elevada e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  com o número de sítios com SS e presença de PS  $\geq 4 \text{ mm}$  em adolescentes, com idade entre 17 e 18 anos, em uma amostra representativa da rede estadual de ensino da cidade de São Luís, Maranhão, Brasil.

Estudar essas relações em jovens pode ajudar na compreensão desses mecanismos, que têm sido mais apontados em adultos. Lee et al. [25] observaram um risco aumentado de gengivite em adolescentes de 12 a 18 anos de idade com baixos níveis de colesterol HDL ou com que apresentem três ou mais componentes da síndrome metabólica. Isto sugere que componentes alterados da síndrome metabólica podem ser determinantes para uma futura doença periodontal em adolescentes, e que adolescentes com componentes alterados da

síndrome metabólica podem ter um risco aumentado de doença periodontal quando adultos. Lee et al. [25] utilizaram o índice periodontal comunitário (IPC) [29] e seis dentes índices permanentes, o que pode refletir apenas a condição periodontal parcial do adolescente. Além disso, analisaram apenas o sangramento à sondagem. Em nosso estudo, foram verificados o número de sítios com sangramento à sondagem e a presença de sítios com  $PS \geq 4$  mm, em seis sítios em todos os dentes existentes, exceto nos terceiros molares e em uma faixa etária mais homogênea (17 a 18 anos).

A hiperlipidemia, que é caracterizada por concentrações séricas elevadas de triglicérides, colesterol total e LDL colesterol e níveis reduzidos de HDL-colesterol, [30] tem um efeito desregulador sobre as células do sistema imunológico e a cicatrização do tecido, aumentando a suscetibilidade a infecções, como a periodontite [31]. O HDL-colesterol tem propriedades anti-inflamatórias e antiaterogênicas, portanto a diminuição nos níveis de HDL-colesterol também tem sido considerada como um fator de risco para doenças cardiovasculares. Assim, para pacientes com periodontite, a diminuição nas concentrações de HDL-colesterol sugere que a inflamação periodontal pode estar associada, mesmo que indiretamente, com as doenças cardiovasculares [32-33].

Além disso, a pressão arterial diastólica aos 18 anos de idade parece ser um preditor mais forte de mortalidade cardiovascular do que a pressão arterial sistólica [34]. Zeigler et al. [35], analisando a pressão diastólica como variável dependente (desfecho), diferentemente do nosso estudo, que analisou a pressão diastólica como variável independente, encontraram associação significativa dessa variável com a presença de  $PS \geq 4$  mm em adolescentes obesos (12-18 anos) independentemente da doença cardiovascular e dos marcadores da doença periodontal. Considerando assim, que a ocorrência de  $PS \geq 4$  mm em adolescentes obesos pode indicar a possibilidade de eventos cardiovasculares futuros.

Para a Organização Mundial da Saúde [28], a obesidade deve ser avaliada utilizando o IMC ( $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>), que é considerado uma medida de obesidade geral, ou a razão cintura-quadril, que é um indicador de obesidade central [36]. Li et al. [37], em um estudo de metanálise, mostraram que a obesidade (medida pelo IMC) estava significativamente associada ao sangramento à sondagem e com a profundidade de sondagem em crianças e adolescentes, semelhante aos nossos achados. Além disso, Modéer et al. [38] também demonstraram que adolescentes obesos apresentam maior risco de apresentar um ou mais sítios com  $PS > 4$  mm, sugerindo que a obesidade pode ter um impacto negativo na saúde periodontal.

Uma variedade de potenciais mecanismos poderia explicar a associação entre obesidade e periodontite, incluindo mecanismos não causais relacionados à comportamentos de risco à saúde [39]. Adolescentes com sobrepeso podem ter uma dieta pouco saudável com excesso de açúcar e gordura, o que pode aumentar o risco de doença periodontal [40]. Lula et al. [41] mostraram uma associação entre o consumo frequente de açúcares de adição e doença periodontal em jovens de 18 a 25 anos de idade, sugerindo que o padrão do consumo de açúcar apresentado pode contribuir para a carga de inflamação sistêmica. Além disso, modelos animais já mostraram que a obesidade pode induzir estresse oxidativo gengival [42] e desregulação da resposta imune e perda óssea alveolar [43]. Em humanos, a obesidade altera a microbiota, aumenta a suscetibilidade a infecções e exacerba a resposta imune do hospedeiro. Os adipócitos secretam vários fatores pró-inflamatórios, os quais estão implicados na doença periodontal [44-47].

A obesidade infantil é preditiva da síndrome metabólica em adultos. É importante considerar que esta condição tem um longo período de evolução até a idade adulta, causando exposição prolongada a condições que causam doença cardiovascular ou diabetes nos estágios iniciais da vida adulta, o que tem sérias consequências para a qualidade e expectativa de vida de cada indivíduo [48]. Portanto, é essencial identificar os componentes da SM em crianças e adolescentes. Nesse sentido e de acordo com os achados deste trabalho, a doença periodontal pode ser uma indicação dessas mudanças sistêmicas na adolescência.

Neste estudo, a glicemia de jejum não estava alterada em nenhum dos adolescentes, portanto a análise de regressão linear de Poisson desta variável não foi realizada. Essa situação pode ser explicada pela idade dos pacientes, que apresentam um metabolismo intenso, pela ação dos hormônios sexuais, que parecem desempenhar um papel fundamental na modulação da resistência à insulina e da síndrome metabólica [49-50].

Devido as suas características inflamatórias, é possível que a síndrome metabólica interaja com a doença periodontal de forma sinérgica, levando ao aparecimento de alterações sistêmicas. Assim, é importante determinar os mecanismos dessa associação e as possíveis vias responsáveis pela associação entre doença periodontal e condições sistêmicas, como doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 [51].

Uma possível limitação deste estudo é o seu desenho transversal. Esse desenho não permitiu que a temporalidade fosse assumida nas relações entre os componentes da síndrome metabólica e os parâmetros da doença periodontal, evitando afirmações sólidas sobre o potencial relacionamento causal entre os componentes da síndrome metabólica e a doença periodontal. Por outro lado, este estudo envolveu uma amostra probabilística complexa por

conglomerados, representando estudantes da rede pública estadual de ensino da cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. Como força do estudo, os modelos de associação entre os componentes da síndrome metabólica e os parâmetros da doença periodontal foram ajustados para as características socioeconômicas e demográficas. Além disso, os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados em seis sítios de todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares.

Em conjunto, os resultados mostram que os componentes da síndrome metabólica, particularmente aqueles relacionados a padrões dietéticos inadequados, como baixos níveis de HDL colesterol e níveis aumentados de triglicérides, são associados de forma individual e independente à destruição tecidual inicial e atividade da doença periodontal em adolescentes. Assim, alterações inflamatórias na boca estão refletindo situações sistêmicas precoces na população avaliada, que geralmente só são estudadas em adultos e podem já permear a vida desses indivíduos já na adolescência.

#### **Em conformidade com os padrões éticos.**

**Conflito de interesses:** Os autores declaram não ter conflitos de interesses.

**Financiamento:** Este estudo contou com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 403315/2012-3) e da Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

**Aprovação ética:** Todos os procedimentos realizados em estudos envolvendo participantes humanos foram conduzidos de acordo com os padrões éticos do Comitê de Ética da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA (#441.226) e da Declaração de Helsinque de 1964 e suas posteriores alterações ou padrões éticos comparáveis.

**Consentimento informado:** Consentimento informado foi obtido de todos os participantes e/ou responsáveis que foram incluídos neste estudo.

#### **Referências**

1. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ (2004) The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 33:351-375. doi.org/10.1016/j.ecl.2004.03.005
2. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J (2006) Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 23:469–480. doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x

3. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, Rinfret S, Schiffrin EL, Eisenberg MJ (2010) The metabolic syndrome and cardiovascular risk. A systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 56:1113–1132. doi.org/10.1016/j.jacc.2010.05.034
4. Lamster IB, Pagan M (2017) Periodontal disease and the metabolic syndrome. *Int Dent J* 67:67-77. doi.org/10.1111/idj.12264
5. Lorenzo C, Okoloise M, Williams K, Stern MP, Haffner SM. (2003) The metabolic syndrome as predictor of type 2 diabetes: the San Antonio heart study. *Diabetes Care* 26:3153-3159
6. Tenenbaum A, Fisman EZ, Motro M (2003) Metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus: focus on peroxisome proliferator activated receptors (PPAR). *Cardiovasc Diabetol* 2:4. doi.org/10.1186/1475-2840-2-4
7. Demmer RT, Jacobs DRJr, Desvarieux M (2008) Periodontal disease and incident type 2 diabetes: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiologic follow-up study. *Diabetes Care* 31:1373-1379. doi.org/10.2337/dc08-0026
8. Chávarry NG, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A (2009) The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis. *Oral Health Prev Dent* 7:107-127.
9. Lalla E, Papapanou PN (2011) Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol* 7:738-748. doi.org/10.1038/nrendo.2011.106
10. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, Taubert KA, Newburger JW, Gornik HL, Gewitz MH, Wilson WR, Smith SC Jr, Baddour LM; American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Clinical Cardiology (2012) Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 125:2520-2544. doi.org/10.1161/CIR.0b013e31825719f3
11. Dietrich T, Sharma P, Walter C, Weston P, Beck J (2013) The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J Periodontol* 84:S70-84. doi.org/10.1111/jcpe.12062
12. Holtfreter B, Empen K, Gläser S, Lorbeer R, Völzke H, Ewert R, Kocher T, Dörr M (2013) Periodontitis is associated with endothelial dysfunction in a general population: a cross-sectional study. *PLoS One* 8:e84603. doi.org/10.1371/journal.pone.0084603
13. Kwon YJ, Park JW, Lim HJ, Lee YJ, Lee HS, Shim JY (2018) Triglyceride to high density lipoprotein cholesterol ratio and its association with periodontal disease in Korean adults: findings based on the 2012-2014 Korean national health and nutrition examination survey. *Clin Oral Investig* 22:515-522. doi:10.1007/s00784-017-2140-0

14. Shimazaki Y, Saito T, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M, Yamashita Y (2007) Relationship of metabolic syndrome to periodontal disease in Japanese women: the Hisayama Study. *J Dent Res* 86:271-275. doi.org/10.1177/154405910708600314
15. D'Aiuto F, Sabbah W, Netuveli G, Donos N, Hingorani AD, Deanfield J, Tsakos G (2008) Association of the metabolic syndrome with severe periodontitis in a large U.S. population-based survey. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3989–3994. doi.org/10.1210/jc.2007-2522
16. Kikui M, Kokubo Y, Ono T, Kida M, Kosaka T, Yamamoto M, Watanabe M, Maeda Y, Miyamoto Y (2017) Relationship between Metabolic Syndrome Components and Periodontal Disease in a Japanese General Population: the Suita Study. *J Atheroscler Thromb* 24:495-507. doi.org/10.5551/jat.33761
17. Kaye EK, Chen N, Cabral HJ, Vokonas P, Garcia RI (2016) Metabolic Syndrome and Periodontal Disease Progression in Men. *J Dent Res* 95:822-828. doi.org/10.1177/0022034516641053
18. Nibali L, Tatarakis N, Needleman I, Tu YK, D'Aiuto F, Rizzo M, Donos N (2013) Association Between Metabolic Syndrome and Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 98:913–920. doi.org/10.1210/jc.2012-3552
19. Han DH, Lim SY, Sun BC, Paek D, Kim HD (2010) The association of metabolic syndrome with periodontal disease is confounded by age and smoking in a Korean population: the Shiwha-Banwol Environmental Health Study. *J Clin Periodontol* 37:609-616. doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01580.x
20. Gurav AN (2014) The association of periodontitis and metabolic syndrome. *Dent Res J (Isfahan)* 11:1-10
21. Ferranti SD, Gauvreau K, Ludwig DS, Neufeld EJ, Newburger JW, Rifai N (2004) Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 110:2494-2497. doi.org/10.1161/01.CIR.0000145117.40114.C7
22. Jolliffe CJ, Janssen I (2007) Development of age-specific adolescent metabolic syndrome criteria that are linked to the adult treatment panel III and International Diabetes Federation criteria. *J Am Coll Cardiol* 49:891-898. doi.org/10.1016/j.jacc.2006.08.065
23. Benmohammed K, Valensi P, Benlatreche M, Nguyen MT, Benmohammed F, Pariès J, Khensal S, Benlatreche C, Lezzar A (2015) Anthropometric markers for detection of the metabolic syndrome in adolescents. *Diabetes Metab*, 41:138-144. doi.org/10.1016/j.diabet.2014.07.001
24. Kim S, So WY (2016) Prevalence of Metabolic Syndrome among Korean Adolescents According to the National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III and International Diabetes Federation. *Nutrients* 8. doi.org/10.3390/nu8100588
25. Lee KS, Lee SG, Kim EK, Jin HJ, Im SU, Lee HK, Merchant AT, Song KB, Choi YH (2015) Metabolic Syndrome Parameters in adolescents may be determinants for the future periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 42:105–112. doi.org/10.1111/jcpe.12338

26. Joss A, Adler R, Lang NP (1994) Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *J Clin Periodontol* 21:402-408
27. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001) Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol. *JAMA* 285:2486–2497
28. World Health Organization (1999) Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Department of Noncommunicable Disease Surveillance, WHO, Geneva
29. Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J (1982) Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J* 32:281–291
30. Saxlin T, Suominen-Taipale L, Kattainen A, Marniemi J, Knuuttila M, Ylostalo P (2008) Association between serum lipid levels and periodontal infection. *J Clin Periodontol* 35:1040-1047. doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01331.x
31. Fentoglu O, Bozkurt FY (2008) The Bi-Directional Relationship between Periodontal Disease and Hyperlipidemia. *Eur J Dent* 2:142-146
32. Losche W, Karapetow F, Pohl A, Pohl C, Kocher T (2000) Plasma lipid and blood glucose levels in patients with destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 27:537-41
33. Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M (2002) Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Periodontol* 73: 494-500. doi.org/10.1902/jop.2002.73.5.494
34. Sundstrom J, Neovius, M, Tynelius P, Rasmussen F (2011) Association of blood pressure in late adolescence with subsequent mortality: cohort study of Swedish male conscripts. *BMJ* 342:643. doi.org/10.1136/bmj.d643
35. Zeigler CC, Wondimu B, Marcus C, Modéer T (2015) Pathological periodontal pockets are associated with raised diastolic blood pressure in obese adolescents. *BMC Oral Health* 15: 41. doi.org/10.1186/s12903-015-0026-6
36. Molarius A, Seidell JC (1998) Selection of anthropometric indicators for classification of abdominal fatness—a critical review. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22:719–727
37. Li LW, Wong HM, Sun L, Wen YF McGrath CP (2015) Anthropometric measurements and periodontal diseases in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Adv Nutr* 6:828-841. doi.org/10.3945/an.115.010017
38. Modéer T, Blomberg C, Wondimu B, Lindberg TY. Marcus C (2011) Association between obesity and periodontal risk indicators in adolescents. *Int J Pediatr Obes* 6:e264-70. doi.org/10.3109/17477166.2010.495779

39. Reeves AF, Rees JM, Schiff M, Hujoel P (2006) Total body weight and waist circumference associated with chronic periodontitis among adolescents in the United States. *Arch Pediatr Adolesc Med* 160:894-899. doi.org/10.1001/archpedi.160.9.894
40. Al-Zahrani MS, Bissada NF, Borawski EA (2003) Obesity and periodontal disease in young, middle-aged, and older adults. *J Periodontol* 74:610-615. doi.org/10.1902/jop.2003.74.5.610
41. Lula EC, Ribeiro CC, Hugo FN, Alves CM, Silva AA (2014) Added sugars and periodontal disease in young adults: an analysis of NHANES III data. *Am J Clin Nutr* 100:1182-1187. doi.org/10.3945/ajcn.114.089656
42. Tomofuji T, Yamamoto T, Tamaki N, Ekuni D, Azuma T, Sanbe T, Irie K, Kasuyama K, Umakoshi M, Murakami J, Koikeguchi S, Morita M (2009) Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. *J Periodontol* 80:1324-1329. doi.org/10.1902/jop.2009.080621
43. Amar S, Zhou Q, Shaik-Dasthagirisaheb Y, Leeman S (2007) Diet-induced obesity in mice causes changes in immune responses and bone loss manifested by bacterial challenge. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:20466-20471. doi.org/10.1073/pnas.0710335105
44. Ritchie CS, Kinane DF (2003) Nutrition, inflammation and periodontal disease. *Nutrition* 19:475-476
45. Falagas ME, Kompoti M (2006) Obesity and infection. *Lancet Infect Dis* 6:438-446. doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70523-0
46. Boesing F, Patino JS, da Silva VR, Moreira EA (2009) The interface between obesity and periodontitis with emphasis on oxidative stress and inflammatory response. *Obes Rev* 10:290-297. doi.org/10.1111/j.1467-789X.2008.00555.x
47. Suvan J, D'aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N (2011) Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev* 12:e381-e404. doi.org/10.1111/j.1467-789X.2010.00808.x
48. Morrison JA, Friedman LA, Wang P, Glueck CJ (2008) Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J Pediatr* 152:201-206. doi.org/10.1016/j.jpeds.2007.09.010
49. Agirbasli M, Agaoglu NB, Orak N, Caglioz H, Ocek T, Poci N, Salaj A, Maya S (2009) Sex hormones and metabolic syndrome in children and adolescents. *Metabolism* 58:1256-1262. doi.org/10.1016/j.metabol.2009.03.024
50. de Oya I, Schoppen S, Lasunción MA, Lopez-Simon L, Riestra P, de Oya M, Garcés C (2010) Sex hormone-binding globulin levels and metabolic syndrome and its features in adolescents. *Pediatr Diabetes* 11:188-194. doi.org/10.1111/j.1399-5448.2009.00559.x
51. Andrianakaja OM, Sreenivasa S, Dunford R, DeNardin, E (2010) Association between metabolic syndrome and periodontal disease. *Aust Dent J* 55: 252-259. doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01231.x

Tabela 1. Características sociodemográficas, componentes da síndrome metabólica e parâmetros periodontais (n = 365). São Luís – MA, Brasil, 2014 – 2016.

| Variável                                      | n (%)      | Média ± dp    |
|-----------------------------------------------|------------|---------------|
| <b>Sexo</b>                                   |            |               |
| Masculino                                     | 162 (44,4) |               |
| Feminino                                      | 203 (55,6) |               |
| <b>Cor da pele do adolescente</b>             |            |               |
| Branca                                        | 57 (15,6)  |               |
| Preta/Negra                                   | 66 (18,0)  |               |
| Parda                                         | 242 (66,4) |               |
| <b>Escolaridade materna (anos de estudo)</b>  |            |               |
| 0 a 4                                         | 68 (18,6)  |               |
| 5 a 8                                         | 84 (23,0)  |               |
| 9 a 11                                        | 148 (40,6) |               |
| ≥ 12 anos                                     | 20 (5,5)   |               |
| Não informado                                 | 45 (12,3)  |               |
| <b>Renda familiar (salário mínimo mensal)</b> |            |               |
| < 1                                           | 14 (3,9)   |               |
| 1 a < 3                                       | 192 (52,6) |               |
| 3 a < 5                                       | 42 (11,5)  |               |
| ≥ 5                                           | 18 (4,9)   |               |
| Não informado                                 | 99 (27,1)  |               |
| <b>HDL colesterol</b>                         |            |               |
| Desejável                                     | 204 (55,9) |               |
| <40 mg/dL/ homens e <50 mg/dL/ mulheres       | 161 (44,1) |               |
| <b>Triglicerídeos</b>                         |            |               |
| < 150 mg/dL                                   | 332 (90,9) |               |
| ≥ 150 mg/dL                                   | 33 (9,1)   |               |
| <b>Pressão diastólica</b>                     |            |               |
| < 85 mmHg                                     | 328 (89,9) |               |
| ≥ 85 mmHg                                     | 37 (10,1)  |               |
| <b>IMC</b>                                    |            |               |
| < 30 kg/m <sup>2</sup>                        | 347 (95,0) |               |
| ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>                        | 18 (5,0)   |               |
| <b>Razão cintura-quadril</b>                  |            | 0,80 ± 0,05   |
| <b>Glicemia em jejum</b>                      |            | 82,90 ± 8,34  |
| <b>Parâmetros periodontais</b>                |            |               |
| Sangramento à sondagem (%)                    |            | 17,80 ± 14,53 |
| Profundidade de sondagem (mm)                 |            | 2,19 ± 0,24   |

dp: desvio padrão

IMC: índice de massa corporal

Tabela 2. Associação entre os componentes da síndrome metabólica e o número de sítios com sangramento à sondagem (n = 365). São Luís – MA, Brasil, 2014 – 2016.

| <b>Variável</b>                                 | <b>Regressão Bruta<br/>RM (IC 95%)</b> | <b>P – valor<sup>a</sup></b> | <b>Regressão Ajustada<br/>RM (IC 95%)<sup>b</sup></b> | <b>P – valor<sup>a</sup></b> |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------|
| <b>HDL colesterol</b>                           |                                        |                              |                                                       |                              |
| Desejável                                       |                                        |                              |                                                       |                              |
| <40 mg/dL para homens; < 50 mg/dL para mulheres | 1,18 (1,13-1,22)                       | < 0,001                      | 1,20 (1,14-1,26)                                      | < 0,001                      |
| <b>Triglicerídeos</b>                           |                                        |                              |                                                       |                              |
| <150 mg/dL                                      |                                        |                              |                                                       |                              |
| ≥150 mg/dL                                      | 1,02 (0,99-1,05)                       | 0,084                        | 1,11 (1,04-1,18)                                      | 0,001                        |
| <b>Pressão diastólica</b>                       | 1,45 (1,37-1,53)                       | < 0,001                      | 1,84 (1,72-1,96)                                      | < 0,001                      |
| <b>Razão cintura-quadril</b>                    | 7,07 (4,78-10,46)                      | < 0,001                      | 12,07 (7,56-19,29)                                    | < 0,001                      |
| <b>IMC</b>                                      |                                        |                              |                                                       |                              |
| < 30 kg/m <sup>2</sup>                          |                                        |                              |                                                       |                              |
| ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>                          | 1,58 (1,46-1,70)                       | < 0,001                      | 1,67 (1,53-1,82)                                      | < 0,001                      |

RM: razão de médias

IC: intervalo de confiança

IMC: índice de massa corporal

<sup>a</sup> Estimado por Modelo de Regressão de Poisson

<sup>b</sup> Ajustado para sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar.

Variáveis com P-valor <0,05 são significantes

Tabela 3. Associação entre os componentes da síndrome metabólica e o número de sítios com PS  $\geq 4$  mm (n = 365). São Luís – MA, Brasil, 2014 – 2016.

| Variável                                           | Regressão Bruta<br>RM (IC 95%) | P –<br>valor <sup>a</sup> | Regressão Ajustada<br>RM (IC 95%) <sup>b</sup> | P – valor <sup>a</sup> |
|----------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------|------------------------|
| <b>HDL colesterol</b>                              |                                |                           |                                                |                        |
| Desejável                                          |                                |                           |                                                |                        |
| <40 mg/dL para homens; < 50<br>mg/dL para mulheres | 1,22 (1,07-1,38)               | 0,002                     | 1,47 (1,25-1,74)                               | < 0,001                |
| <b>Triglicerídeos</b>                              |                                |                           |                                                |                        |
| <150 mg/dL                                         |                                |                           |                                                |                        |
| $\geq 150$ mg/dL                                   | 1,14 (1,04-1,26)               | 0,003                     | 1,54 (1,22-1,95)                               | < 0,001                |
| <b>Pressão diastólica</b>                          | 1,56 (1,31-1,85)               | < 0,001                   | 1,76 (1,44-2,16)                               | < 0,001                |
| <b>Razão cintura-quadril</b>                       | 2,41 (0,66-8,68)               | 0,178                     | 5,86 (1,25-27,42)                              | 0,024                  |
| <b>IMC</b>                                         |                                |                           |                                                |                        |
| < 30 kg/m <sup>2</sup>                             |                                |                           |                                                |                        |
| $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>                        | 1,55 (1,22-1,98)               | < 0,001                   | 2,33 (1,78-3,05)                               | < 0,001                |

RM: razão de médias

IC: intervalo de confiança

PS: profundidade de sondagem

IMC: índice de massa corporal

<sup>a</sup> Estimado por Modelo de Regressão de Poisson

<sup>b</sup> Ajustado para sexo, cor da pele do adolescente, escolaridade materna e renda familiar.

Variáveis com P-valor <0,05 são significantes

### 3. CAPÍTULO II

(Artigo a ser submetido ao periódico Journal of Clinical Periodontology)

**Níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes**

**Serum NGAL levels and periodontal disease parameters in Brazilian adolescents**

NGAL and periodontal disease parameters

Mayra Moura Franco<sup>1</sup>, Bruno Braga Benatti<sup>2</sup>, Cadidja Dayane Sousa do Carmo<sup>1</sup>, Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos<sup>3</sup>, Yuri Jivago Silva Ribeiro<sup>4</sup>, Cecília Cláudia Costa Ribeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Odontologia II, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Imunofisiologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

<sup>4</sup>Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

#### **Correspondência:**

Bruno Braga Benatti

Universidade Federal do Maranhão, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Campus do Bacanga- Avenida dos Portugueses, s/n; CEP 65085-580; São Luís – MA; Brasil. Telefone: (98) 981047777

E-mail: bbbenatti@gmail.com

## Informações sobre Financiamento

O presente estudo foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 403315s/2012-3) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

## Conflito de Interesses

Os autores declaram explicitamente que não há conflito de interesses em conexão com este artigo.

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar a associação entre os níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes.

**Materiais e métodos:** Este estudo transversal de base populacional incluiu adolescentes de 17 a 18 anos de idade ( $n = 281$ ). Os níveis séricos de NGAL foram medidos usando o sistema analisador automático Luminex®. Os seguintes parâmetros periodontais foram avaliados: sangramento à sondagem (SS), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínica (NIC).

**Resultados:** A média dos níveis séricos de NGAL foi significativamente maior nos adolescentes que apresentaram: 15% ou mais sítios com SS ( $p = 0,002$ ); pelo menos um dente com  $PS \geq 4$  mm ( $p < 0,001$ ); pelo menos um dente com  $NIC \geq 4$  mm ( $p < 0,001$ ). Na análise multivariada, o tercil mais elevado de NGAL foi significativamente associado com SS (razão de médias / RM = 1,52, intervalo de confiança / IC = 1,37-1,69,  $p < 0,001$ ), PS (RM = 1,76, IC = 1,38-2,24,  $p < 0,001$ ) e NIC (RM = 2,93, IC = 2,05-4,19,  $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** Níveis séricos mais elevados de NGAL foram associados com parâmetros da doença periodontal em adolescentes, sugerindo que a relação entre inflamação sistêmica e doença periodontal pode começar nos primeiros estágios da vida.

**PALAVRAS-CHAVE:** Lipocalina associada à gelatinase neutrofílica. Doença periodontal. Adolescente. Biomarcador. Inflamação.

## Relevância Clínica

Justificativa científica para o estudo: A lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL) desempenha um papel ativo na inflamação sistêmica em doenças crônicas não transmissíveis. No entanto, a relação entre os níveis séricos de NGAL e a doença periodontal permanece desconhecida.

Principais achados: Neste estudo, níveis séricos de NGAL mais elevados foram associados aos parâmetros da doença periodontal em adolescentes. Esses achados foram consistentes em três diferentes análises: teste de comparação de médias, análise de correlação e análise de associação (bivariada e multivariada).

Implicações práticas: A inflamação sistêmica, aqui marcada por níveis mais altos de NGAL, está associada aos parâmetros da doença periodontal em adolescentes. Nesse sentido, a doença periodontal pode ser um marcador/condição clínica na cavidade bucal, refletindo a inflamação sistêmica e/ou o risco futuro de doenças crônicas.

## Abstract

**Aim:** To evaluate the association between serum NGAL levels and periodontal disease parameters in adolescents.

**Materials and methods:** This cross-sectional population-based study included adolescents aged 17-18 years old (n=281). Serum NGAL levels were measured using the Luminex® automatic analyser system. The following periodontal parameters were evaluated: bleeding on probing (BOP), probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL).

**Results:** The mean of serum NGAL levels were significantly higher in adolescents who presented: 15% or more sites with BOP ( $p = 0.002$ ); at least one tooth with  $PD \geq 4$  mm ( $p < 0.001$ ); at least one tooth with  $CAL \geq 4$  mm ( $p < 0.001$ ). In the multivariate analysis, the highest tertile of NGAL were significantly associated with BOP (means ratio /  $MR=1.52$ , confidence interval /  $CI=1.37-1.69$ ,  $p < 0.001$ ), PD ( $MR=1.76$ ,  $CI=1.38-2.24$ ,  $p < 0.001$ ) and CAL ( $MR=2.93$ ,  $CI=2.05-4.19$ ,  $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Higher serum NGAL levels were associated with periodontal disease parameters in adolescents, suggesting that the relationship between systemic inflammation and periodontal disease may begin in the early stages of life.

**KEYWORDS:** Neutrophil gelatinase-associated lipocalin. Periodontal disease. Adolescent. Biomarker. Inflammation.

## Clinical Relevance

Scientific rationale for study: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) plays an active role in systemic inflammation in chronic non-communicable diseases. However, the relationship between serum NGAL levels and periodontal disease remains unknown.

Principal findings: In this study, higher serum NGAL levels were associated with periodontal disease parameters in adolescents. These findings were consistent in three different analyses: test of comparison of means, correlation analysis and association analysis (bivariate and multivariate).

Practical implications: Systemic inflammation, here marked by higher levels of NGAL, is associated with periodontal disease parameters in adolescents. In this sense, periodontal disease may be a clinical marker/condition in the oral cavity reflecting systemic inflammation and/or future risk for chronic diseases.

## 1 INTRODUÇÃO

A lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), também conhecida como lipocalina-2 (LCN2), é uma glicoproteína da família lipocalina, que são pequenas proteínas extracelulares (Flower, 1996; Kjeldsen, Johnsen, Sengeløv, & Borregaard, 1993). A NGAL é

secretada por neutrófilos ativados, é liberada em pequenas concentrações pelas células epiteliais, pode estar presente nas células endoteliais e macrófagos e está associada à inflamação (Flo et al., 2004; Helanova, Spinar, & Parenica, 2014).

A NGAL também foi estudada como um biomarcador para doenças sistêmicas em adultos, como doença renal aguda e crônica (Bolignano et al., 2009; Devarajan, 2008; Haase, Bellomo, Devarajan, Schlattmann, & Haase-Fielitz, 2009), doenças cardiovasculares (Helanova, Spinar, & Parenica 2014 ) e doenças inflamatórias intestinais (Oikonomou et al., 2012; Yeşil et al., 2013). Além disso, níveis séricos elevados de NGAL foram observados em crianças e adolescentes com doença de Crohn e colite ulcerativa (isto é, doenças inflamatórias intestinais) (Janas et al., 2014) e doença renal crônica (Mitsnefes et al., 2007; Musiał & Zwolińska, 2011). Embora todas essas condições sistêmicas estejam consistentemente associadas à doença periodontal (Agossa et al., 2016; Craig, 2008; D'Aiuto et al., 2004; Dietrich, Sharma, Walter, Weston, & Beck, 2013; Wahid, Chaudhry, Ehsan, Butt, & Ali Khan, 2013; Yoshihara, Iwasaki, Miyazaki, & Nakamura, 2016; Yu, Chasman, Buring, Rose, & Ridker, 2015), poucos estudos avaliaram a relação entre a NGAL e as doenças periodontais.

Níveis elevados de NGAL/LCN2 foram observados no fluido crevicular gengival em pacientes adultos com doença periodontal (Tsuchida et al., 2013). Além disso, níveis mais altos de NGAL também foram detectados na saliva de pacientes com 18 anos ou mais e naqueles com maior profundidade de sondagem ou maior porcentagem de sítios com sangramento à sondagem (Morelli et al., 2014). Em uma análise imunocitoquímica, um nível mais alto de NGAL foi observado em tecidos periodontais inflamados em pacientes adultos (Hussain, McKay, Gonzales-Marin, & Allaker, 2016). Além disso, a NGAL foi encontrada em tecidos gengivais em pacientes com periodontite juvenil localizada (17 a 21 anos de idade) e naqueles com periodontite do adulto (32 a 47 anos) (Westerlund et al., 1996).

Visto que a NGAL está envolvida na resposta imune inata e associada a doenças crônicas, no presente estudo, é possível hipotetizar que os níveis séricos de NGAL são maiores em adolescentes com doença periodontal. Estudar os níveis sistêmicos de NGAL e sua relação com a doença periodontal em jovens pode aumentar a compreensão de como a doença periodontal está associada ao risco de doenças crônicas. Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar a associação entre os níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal em adolescentes de 17 e 18 anos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Desenho do estudo e participantes**

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (protocolo nº 441.226). O consentimento informado foi obtido de todos os participantes que foram incluídos no estudo.

Trata-se de um estudo transversal de base populacional, com adolescentes de 17 a 18 anos matriculados na rede estadual de ensino da cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. A amostragem aleatória complexa foi realizada em três estágios, de janeiro de 2014 a julho de 2016.

No primeiro estágio (escola), foram identificadas todas as escolas estaduais de ensino médio da zona urbana ( $N = 52$ ) e randomizadas para selecionar uma amostra de 13 escolas, utilizando dados obtidos da Secretaria de Educação do Estado do Maranhão (SEDUC). No segundo estágio (classe), a randomização baseou-se em dados de cada escola amostral, selecionando apenas as turmas de Ensino Médio das escolas selecionadas anteriormente, obtendo 39 turmas da amostra, 3 turmas por escola. Alunos que tinham 17 ou 18 anos de idade nessas classes ( $N = 2.030$ ) foram considerados elegíveis para o estudo. No terceiro estágio (aluno), os alunos elegíveis foram randomizados das classes selecionadas ( $n = 522$ ).

Cinquenta e cinco adolescentes foram excluídos com base nos critérios de exclusão: usuários de aparelhos ortodônticos ( $n = 52$ ) e grávidas ( $n = 3$ ). Dos adolescentes que preencheram os critérios de inclusão ( $n = 467$ ), 13,2% não concordaram em participar do estudo ( $n = 62$ ). Da amostra inicial de 405 adolescentes, 281 foram randomizados para realização de exame de sangue para determinar os níveis séricos de NGAL.

### **2.2 Coleta de dados**

Um questionário estruturado foi aplicado por meio de entrevistas com adolescentes e incluiu informações sobre condições de saúde, fatores socioeconômicos e dados demográficos (sexo, renda familiar e fumo).

O exame periodontal foi realizado em todos os dentes existentes, com exceção dos terceiros molares, para avaliação de seis sítios (disto-vestibular, médio-vestibular, mésio-vestibular, disto-lingual, médio-lingual e mésio-lingual). Um espelho dental e uma sonda milimetrada Williams (Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA) foram utilizados durante as avaliações

clínicas. Cada voluntário foi examinado na escola em um consultório odontológico portátil. Os seguintes parâmetros foram avaliados: índice de placa visível (IPV) (Ainamo & Bay, 1975); sangramento à sondagem (SS), verificado pela presença ou ausência de sangramento após sondagem; profundidade de sondagem (PS), que foi definida como a distância da margem gengival ao ponto apical do fundo do sulco gengival ou bolsa (em mm); e nível de inserção clínica (NIC), que foi definido como a distância da junção cimento-esmalte ao fundo do sulco gengival ou bolsa (em mm). Dois dentistas calibrados avaliaram os parâmetros periodontais em um estudo piloto (n = 20). A confiabilidade Kappa interexaminadores foi de 0,79 para PS e 0,78 para NIC. O coeficiente de correlação intraexaminador também foi calculado para PS (0,87) e NIC (0,82), utilizando o índice Kappa. A profundidade de sondagem indica a condição periodontal atual e o sangramento à sondagem indica inflamação em curso e está associado a um risco aumentado de dano futuro aos tecidos periodontais (Joss, Adler, & Lang, 1994). O NIC é representativo da história e progressão da doença periodontal (Page & Eke, 2007).

Da amostra inicial de 405 adolescentes submetidos à avaliação clínica, 281 também realizaram exame de sangue para avaliar os níveis séricos de NGAL. A coleta de sangue foi realizada por técnico de enfermagem nas escolas, sob a supervisão de um laboratório de análises clínicas de referência em São Luís - MA. Após a coleta de sangue, as amostras foram mantidas refrigeradas e enviadas ao laboratório. Em seguida, o sangue foi deixado em repouso à temperatura ambiente e o coágulo removido por centrifugação a 3,000 rpm por 10 minutos. O líquido sobrenadante (soro) foi removido e armazenado a -80°C. Antes da análise, as amostras congeladas foram mantidas à temperatura ambiente até estarem visivelmente descongeladas. A concentração de NGAL foi medida usando o sistema analisador automático Luminex® (modelo MAGPIX; Luminex Corporation, Austin, Texas, EUA) e o Kit Milliplex® HADK1MAG-61K (EMD Millipore Corporation, Massachusetts, EUA) de acordo com as instruções do fabricante.

As concentrações séricas de NGAL foram medidas em valores absolutos e divididas em tercils para análise estatística com base em sua variação de amplitude e na dificuldade em identificar valores de referência para adolescentes. Assim, a NGAL foi categorizada em 1º tercil (59,16 a 136,65 pg/mL), 2º tercil (137,1 a 318,98 pg/mL) e 3º tercil (327,1 a 1442 pg/mL).

## 2.3 Análise Estatística

A média dos níveis séricos de NGAL dos adolescentes foi comparada pelo teste t de Student independente, de acordo com os seguintes parâmetros: 1) sangramento à sondagem (presença de pelo menos 15% dos sítios com SS) (Machado, Tomazoni, Ortiz, Ardenghi, & Zanatta, 2017; Tomazoni et al., 2014); 2) PS (presença de pelo menos um dente com  $PS \geq 4$  mm em um ou mais sítios); 3) NIC (presença de pelo menos um dente com  $NIC \geq 4$  mm em um ou mais sítios).

Os níveis séricos de NGAL foram correlacionados com a extensão da doença periodontal usando o coeficiente de Pearson (correlação linear de Pearson) de acordo com os seguintes parâmetros: número de sítios com sangramento à sondagem, número de sítios com  $PS \geq 4$  mm e número de sítios com  $NIC \geq 4$  mm.

Além disso, os níveis séricos de NGAL foram analisados em associação com a extensão da doença periodontal (SS, PS e NIC) e avaliados como variáveis discretas. Os pressupostos de normalidade da distribuição dos dados foram testados aceitando os valores de assimetria  $< 2$  e curtose  $< 7$  (Maroco, 2014). Primeiro, uma análise bivariada foi realizada. Em seguida, os modelos foram ajustados para sexo, renda familiar e fumo. Os coeficientes estimados foram calculados em modelos de regressão de Poisson e expressos como as razões de médias (RM) e intervalos de confiança de 95% (IC95%).

O nível de significância adotado em todas as análises foi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ), e os dados foram analisados no software Stata (versão 14.0).

## 3 RESULTADOS

A amostra final foi composta por 281 adolescentes. Destes, 154 eram do sexo feminino (54,8%) e 127 do sexo masculino (45,2%) (Tabela 1). Observou-se que 36,0% dos adolescentes apresentaram 15% ou mais de sítios com sangramento à sondagem, 40,6% dos adolescentes apresentaram pelo menos um dente com  $PS \geq 4$  mm em um ou mais sítios e sangramento e 26,3% dos adolescentes apresentaram pelo menos um dente com  $NIC \geq 4$  mm em um ou mais sítios (Tabela 1).

As médias dos níveis séricos de NGAL foram significativamente maiores em adolescentes que apresentaram 15% ou mais sítios com sangramento à sondagem, ou pelo menos um dente com  $PS \geq 4$  mm em um ou mais sítios, ou pelo menos um dente com  $NIC \geq 4$  mm em um ou mais sítios (Tabela 2).

A NGAL apresentou correlações positivas e significativas com os seguintes parâmetros periodontais: número de sítios com sangramento à sondagem ( $r = 0,188$ ;  $p = 0,001$ ), número de sítios com  $PS \geq 4$  mm ( $r = 0,250$ ,  $p = 0,001$ ), e número de sítios com  $NIC \geq 4$  mm ( $r = 0,303$ ,  $p < 0,001$ ). Além disso, dos parâmetros periodontais avaliados, o número de sítios com sangramento à sondagem, o número de sítios com  $PS \geq 4$  mm e o número de sítios com  $NIC \geq 4$  mm foram correlacionados positivamente entre si (Tabela 3).

Dois valores extremos que interferiram na normalidade da distribuição dos dados de PS e NIC foram truncados no valor de ponto máximo de 17 dentes para PS e 10 dentes para NIC. Então as duas variáveis tiveram uma distribuição normal e foram tratadas como variáveis discretas. Na análise bivariada, os níveis séricos de NGAL no 2º tercil (RM = 1,22; IC: 1,22-1,33;  $p < 0,001$ ) e no 3º tercil (RM = 1,47; IC: 1,35-1,60;  $p < 0,001$ ) foram significativamente associados ao SS (Tabela 4). Na análise multivariada, que incluiu ajuste para variáveis socioeconômicas e demográficas, níveis séricos de NGAL no 2º tercil (RM = 1,17, IC: 1,05-1,30,  $p = 0,004$ ) e 3º tercil (RM = 1,52, IC: 1,37-1,69,  $p < 0,001$ ) permaneceram associados ao SS. Além disso, os níveis séricos de NGAL no 3º tercil foram significativamente associados com PS (RM = 1,76, IC: 1,38-2,24,  $p < 0,001$ ) e NIC (RM = 2,93, IC: 2,05-4,19,  $p < 0,001$ ) (Tabela 4).

## DISCUSSÃO

Neste estudo, níveis séricos de NGAL mais elevados foram relacionados com os parâmetros da doença periodontal em adolescentes. Esses achados foram consistentes em três diferentes análises: teste de comparação de médias, análise de correlação e análise de associação (bivariada e multivariada). Os resultados do presente estudo expandem o conhecimento sobre a NGAL e a doença periodontal, uma vez que este estudo é o primeiro a mostrar níveis séricos de NGAL mais elevados em associação com a extensão da doença periodontal.

Estudos prévios demonstraram uma relação entre os níveis de NGAL na saliva, no fluido gengival, nos tecidos periodontais com a doença periodontal. Níveis mais elevados de NGAL foram detectados na saliva de pacientes com maior extensão da doença periodontal (ou seja,  $PS > 3$  mm e 50% dos sítios com sangramento) (Morelli et al., 2014). Níveis mais elevados de NGAL também foram observados no fluido crevicular gengival de indivíduos com doença periodontal severa em comparação com indivíduos saudáveis (Tsuchida et al., 2013). Além disso, outro estudo utilizou análise imunocitoquímica para mostrar que os níveis

de NGAL foram maiores nos tecidos periodontais inflamados do que nos tecidos saudáveis (Hussain et al., 2016). E também, a NGAL já foi detectada nos tecidos gengivais de pacientes com periodontite juvenil localizada (17 a 21 anos de idade) e naqueles com periodontite do adulto (32 a 47 anos) (Westerlund et al., 1996).

Em todos os estudos anteriores (Hussain et al., 2016; Morelli et al., 2014; Tsuchida et al., 2013; Westerlund et al., 1996), os níveis de NGAL foram avaliados em fluidos ou tecidos da cavidade bucal, revelando seu efeito local. No entanto, é possível que os níveis séricos de NGAL já tenham sido alterados/aumentados nesses estudos, uma vez que foram avaliados pacientes adultos com maior extensão e maior gravidade da doença periodontal do que os adolescentes do presente estudo.

Os níveis séricos de NGAL são maiores em pacientes adultos com uma variedade de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares (Helanova et al., 2014), doença renal crônica (Bolignano et al., 2009; Devarajan, 2008) e doenças inflamatórias intestinais (Oikonomou et al., 2012; Yeşil et al., 2013) e níveis mais altos de NGAL também foram observados em pacientes jovens (Janas et al., 2014; Mitsnefes et al., 2007; Musiał e Zwolińska, 2011). A doença periodontal tem sido associada a todas essas doenças crônicas em adultos (Agossa et al., 2016; Craig, 2008; D'Aiuto et al., 2004; Dietrich et al., 2013; Wahid et al., 2013; Yoshihara et al., 2013; Yu et al., 2015). Assim, é interessante que os resultados deste trabalho mostram que adolescentes com níveis séricos de NGAL mais elevados tiveram inflamação periodontal e uma extensão maior da doença periodontal, sugerindo que a relação entre marcadores de doença crônica e doença periodontal pode começar em estágios iniciais do que anteriormente só observados em pacientes adultos.

Em relação a um mecanismo que possa explicar a associação entre níveis séricos de NGAL mais elevados e a extensão da doença periodontal em adolescentes, é possível que a inflamação sistêmica subjacente possa estar presente. Nesse sentido, a doença periodontal pode ser um marcador/condição clínica na cavidade bucal, refletindo a inflamação sistêmica.

A NGAL exerce efeitos antimicrobianos inibindo o crescimento bacteriano e está associada a respostas imunes inatas às infecções bacterianas (Flo et al., 2004). Clinicamente, a NGAL pode ser útil no diagnóstico diferencial de processos infecciosos mediados por bactérias, pois altos níveis desse marcador são consistentemente detectados no sangue de pacientes com infecções bacterianas (Nasioudis & Witkin, 2015).

Foi observado anteriormente que a NGAL é expressa no citoplasma de leucócitos polimorfonucleares (PMNs) em vasos sanguíneos da gengiva inflamada. A presença de

NGAL também foi observada na vizinhança de PMNs que estavam extravasando os tecidos (Westerlund et al., 1996), permitindo que ela alcançasse a circulação sistêmica.

*In vitro*, *Porphyromonas gingivalis* aumentaram a expressão de NGAL, sugerindo que a NGAL pode participar na fase aguda de respostas inflamatórias e antimicrobianas (Reddi & Belibasakis, 2012). Além disso, os maiores níveis séricos de NGAL observados em pacientes com doença periodontal também podem ser explicados pelo fato de que a produção de NGAL é induzida pela ativação induzida por LPS (lipopolissacarídeos) do receptor Toll-like 4 (Nasioudis & Witkin, 2015). Receptores Toll-like (TLRs) estão envolvidos na resposta imune inata, durante a qual induzem a produção de proteínas inflamatórias e citocinas (Aderem & Ulevitch, 2000; Akira, Takeda & Kaisho, 2001; O'Donnell et al., 2014). Além disso, esses receptores estão envolvidos na doença periodontal (Mahanonda & Pichyangkul, 2007; Ren, Leung, Darveau, & Jin 2005). Ainda, a expressão gênica de NGAL foi fortemente induzida em células epiteliais incubadas na presença de interleucina (IL) -1 $\beta$  (Cowland, Muta e Borregaard, 2006; Cowland, Sørensen, Sehested, & Borregaard, 2003), que é um mediador inflamatório associado com a patogênese e progressão da doença periodontal (Bascones, Gamonal, Gomez, Silva e Gonzalez, 2004; Gomes et al., 2016; Preshaw & Taylor, 2011).

Sabe-se que a doença periodontal é uma infecção bacteriana na qual os produtos e componentes bacterianos, especialmente os lipopolissacarídeos (LPS), desempenham um importante papel na ativação da resposta imune. Durante a resposta imune, os tecidos são indiretamente destruídos pela ativação de células de defesa do hospedeiro (Page, 1991; Page, Offenbacher, Schroeder, Seymour, & Kornman, 1997). Assim, a doença periodontal resulta em desregulação imunológica e indiretamente induz a produção de mediadores inflamatórios na circulação sistêmica (Slocum, Kramer, & Genco, 2016).

Nesse contexto, como mecanismo alternativo, também é possível que a doença periodontal possa resultar em aumento dos níveis séricos de NGAL. No entanto, esse mecanismo de causalidade reversa pode ser menos provável, uma vez que os adolescentes apresentaram uma severidade reduzida da doença periodontal.

Uma possível limitação deste estudo é o seu desenho transversal. Esse desenho não permitiu que a temporalidade fosse assumida nas relações entre a NGAL e a doença periodontal, evitando afirmações sólidas sobre a possível relação causal entre a NGAL e a doença periodontal. No entanto, não pretendíamos mostrar uma natureza causal nessa associação, mas sim alertar que os níveis séricos dessa citocina pró-inflamatória (NGAL) já estão aumentados e relacionados aos parâmetros da doença periodontal em adolescentes. Além disso, embora não tenha sido um critério de exclusão para o estudo, nenhum

adolescente relatou ter alguma doença sistêmica crônica, como doença renal crônica, doenças cardiovasculares e doenças inflamatórias intestinais, que pudessem interferir nos níveis séricos de NGAL.

Por outro lado, este estudo envolveu uma amostra probabilística complexa por conglomerados, representando estudantes da rede pública de ensino da cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. Como força deste estudo, os modelos de associação entre NGAL e parâmetros da doença periodontal foram ajustados para características socioeconômicas e demográficas. Além disso, os parâmetros clínicos periodontais foram avaliados em seis sítios em cada dente, com exceção dos terceiros molares. Dada a dificuldade de estabelecer um critério diagnóstico para doença periodontal em adolescentes, avaliou-se a extensão da doença periodontal, como desfechos categóricos e discretos, usando SS, PS e NIC.

Em conjunto, os resultados revelaram que níveis séricos de NGAL mais altos estavam associados à doença periodontal em adolescentes, sugerindo que a relação entre inflamação sistêmica (marcadores de doença crônica) e doença periodontal pode começar nos estágios iniciais da vida. Esses achados podem apoiar o conhecimento de por qual a razão a doença periodontal pode prever o risco de doença crônica no futuro.

## REFERÊNCIAS

- Aderem, A., & Ulevitch, R. J. (2000). Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, 406, 782–787.
- Agossa, K., Dendooven, A., Dubuquoy, L., Gower-Rousseau, C., Delcourt-Debruyne, E., & Capron, M. (2016). Periodontal manifestations of inflammatory bowel disease: emerging epidemiologic and biologic evidence. *Journal of Periodontal Research*, 52, 313-324. [https://doi: 10.1111/jre.12422](https://doi.org/10.1111/jre.12422).
- Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International Dental Journal*, 25, 229-235.
- Akira, S., Takeda, K., & Kaisho, T. (2001). Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nature Immunology*, 2, 675–680.
- Bascones, A., Gamonal, J., Gomez, M., Silva, A., & Gonzalez, M. A. (2004). New knowledge of the pathogenesis of periodontal disease. *Quintessence International*, 35, 706-716.
- Bolignano, D., Lacquaniti, A., Coppolino, G., Donato, V., Campo, S., Fazio, M. R., ... Buemi, M. (2009). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4, 337-344. [https://doi: 10.2215/CJN.03530708](https://doi.org/10.2215/CJN.03530708).

- Cowland, J. B., Sørensen, O. E., Sehested, M., & Borregaard, N. (2003) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 beta, but not by TNF-alpha. *Journal of Immunology*, 171, 6630–6639. [https://doi: 10.4049/jimmunol.171.12.6630](https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.12.6630).
- Cowland, J. B., Muta, T., & Borregaard, N. (2006). IL-1beta-specific up-regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin is controlled by IkappaB-zeta. *Journal of Immunology*, 176, 5559–5566. [https://doi: 10.4049/jimmunol.176.9.5559](https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.9.5559).
- Craig, R. G. (2008). Interactions between chronic renal disease and periodontal disease. *Oral Diseases*, 14, 1-7. [https://doi: 10.1111/j.1601-0825.2007.01430.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2007.01430.x).
- D'Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P. M, Ready, D., & Tonetti, M. S. (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *Journal of Dental Research*, 83, 156-160.
- Devarajan, P. (2008). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Supplementum*, 241, 89-94. [https://doi: 10.1080/00365510802150158](https://doi.org/10.1080/00365510802150158).
- Dietrich, T., Sharma, P., Walter, C., Weston, P., & Beck, J. (2013). The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *Journal of Periodontology*, 84 (Suppl), S70-S84. [https://doi:10.1902/jop.2013.134008](https://doi.org/10.1902/jop.2013.134008).
- Flo, T. H, Smith, K. D, Sato, S., Rodriguez, D. J, Holmes, M. A, Strong, R. K., ... Aderem A. (2004). Lipocalin 2 Mediates an Innate Immune Response to Bacterial Infection by Sequestering Iron. *Nature*, 432, 917-921.
- Flower, D. R. (1996). The lipocalin protein family: structure and function. *The Biochemical Journal* 318, 1-14.
- Gomes, F. I., Aragão, M. G., Barbosa, F. C., Bezerra, M. M., de Paulo Teixeira Pinto V., & Chaves, H. V. (2016). Inflammatory Cytokines Interleukin-1 $\beta$  and Tumour Necrosis Factor- $\alpha$  – Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, 30, 7(2):e2. [https://doi: 10.5037/jomr.2016.7202](https://doi.org/10.5037/jomr.2016.7202).
- Haase, M., Bellomo, R., Devarajan, P., Schlattmann, P., & Haase-Fielitz, A. (2009). NGAL Meta-analysis Investigator Group. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 54, 1012-1024. [https://doi: 10.1053/j.ajkd.2009.07.020](https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.07.020).
- Helanova, K., Spinar, J., & Parenica, J. (2014). Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular diseases--review. *Kidney & Blood Pressure Research*, 39, 623-629. [https://doi: 10.1159/000368474](https://doi.org/10.1159/000368474).

- Hussain, Q. A., McKay, I. J., Gonzales-Marin, C., & Allaker, R. P. (2016). Detection of adrenomedullin and nitric oxide in different forms of periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 51, 16-25. [https://doi: 10.1111/jre.12273](https://doi.org/10.1111/jre.12273).
- Kjeldsen, L., Johnsen, A. H., Sengeløv, H., & Borregaard, N. (1993). Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, 10425-10432.
- Janas, R. M., Ochocińska, A., Snitko, R., Dudka, D., Kierkuś, J., Teisseyre, M., & Najberg E. (2014). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in blood in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 29, 1883-1889. [https://doi: 10.1111/jgh.12597](https://doi.org/10.1111/jgh.12597).
- Joss, A., Adler, R., & Lang, N. P. (1994). Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of Clinical Periodontology*, 21, 402-408.
- Machado, M. E., Tomazoni, F., Ortiz, F. R., Ardenghi, T. M., & Zanatta, F. B. (2017). Impact of partial-mouth periodontal examination protocols on the association between gingival bleeding and oral health-related quality of life in adolescents. *Journal of Periodontology*, 88, 693-701. [https://doi: 10.1902/jop.2017.160622](https://doi.org/10.1902/jop.2017.160622).
- Mahanonda, R., Pichyangkul, S. (2007). Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol 2000*, 43, 41–55.
- Maroco, J. (2014). Analysis of structural equations, theoretical fundamentals, software and applications (4th ed.). Report Number, Porto Alegre, RS – Brazil.
- Mitsnefes, M. M., Kathman, T. S., Mishra, J., Kartal, J., Khoury, P. R., Nickolas, T. L., ... Devarajan, P. (2007). Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology*, 22, 101-108.
- Morelli, T., Stella, M., Barros, S. P., Marchesan, J. T., Moss, K. L., Kim, S. J., ... Offenbacher S. (2014). Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *Journal of Periodontology*, 85, 1770-1778. [https://doi: 10.1902/jop.2014.140180](https://doi.org/10.1902/jop.2014.140180).
- Musiał, K., & Zwolińska, D. (2011). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and matrix metalloproteinases as novel stress markers in children and young adults on chronic dialysis. *Cell Stress & Chaperones*, 16, 163-171. [https://doi: 10.1007/s12192-010-0228-4](https://doi.org/10.1007/s12192-010-0228-4).
- Nasioudis, D., & Witkin, S. S. (2015). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and innate immune responses to bacterial infections. *Medical Microbiology and Immunology*, 204, 471-479. [https://doi: 10.1007/s00430-015-0394-1](https://doi.org/10.1007/s00430-015-0394-1).
- O'Donnell, H., Pham, O. H., Li, L. X., Atif, S. M., Lee, S. J., Ravesloot, M. M., ... McSorley S. J. (2014). Toll-like receptor and inflammasome signals converge to amplify the innate bactericidal capacity of T helper 1 cells. *Immunity*, 40, 213–224. [https://doi: 10.1016/j.immuni.2013.12.013](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.12.013).

- Oikonomou, K. A., Kapsoritakis, A. N., Theodoridou, C., Karangelis, D., Germenis, A., Stefanidis, I., & Potamianos, S. P. (2012). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in inflammatory bowel disease: association with pathophysiology of inflammation, established markers, and disease activity. *Journal of Gastroenterology*, 47, 519-530. [https://doi: 10.1007/s00535-011-0516-5](https://doi.org/10.1007/s00535-011-0516-5).
- Page, R. C. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 26, 230-242.
- Page, R. C., Offenbacher, S., Schroeder, H. E., Seymour, G. J., & Kornman, K. S. (1997). Advances in the pathogenesis of periodontitis: Summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology 2000*, 14, 216-248.
- Page, R. C., & Eke, P. I. (2007). Case definitions for use in population based surveillance of periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78 (Suppl), 1387–1399.
- Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2011). How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *Journal of Clinical Periodontology*, 38 (Suppl), 60-84. [https://doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01671.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01671.x).
- Ren, L., Leung, W. K., Darveau, R. P., & Jin, L. (2005). The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and Toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 76, 1950–1959.
- Reddi, D., & Belibasakis, G. N. (2012). Transcriptional profiling of bone marrow stromal cells in response to *Porphyromonas gingivalis* secreted products. *PLoS One*, 7, e43899. [https://doi: 10.1371/journal.pone.0043899](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043899).
- Slocum, C., Kramer, C., & Genco, C. A. (2016). Immune dysregulation mediated by the oral microbiome: potential link to chronic inflammation and atherosclerosis. *Journal of Internal Medicine*, 280, 114-128. [https://doi: 10.1111/joim.12476](https://doi.org/10.1111/joim.12476).
- Tomazoni, F., Zanatta, F. B., Tuchtenhagen, S., da Rosa, G. N., Del Fabro, J. P., & Ardenghi, T. M. (2014). Association of gingivitis with child oral health-related quality of life. *Journal of Periodontology*, 85, 1557-1565. [https://doi: 10.1902/jop.2014.140026](https://doi.org/10.1902/jop.2014.140026).
- Tsuchida, S., Satoh, M., Kawashima, Y., Sogawa, K., Kado, S., Sawai, S., ... Nomura F. (2013). Application of quantitative proteomic analysis using tandem mass tags for discovery and identification of novel biomarkers in periodontal disease. *Proteomics*, 13, 2339-2350. [https://doi: 10.1002/pmic.201200510](https://doi.org/10.1002/pmic.201200510).
- Wahid, A., Chaudhry, S., Ehsan, A., Butt, S., & Ali Khan, A. (2013). Bidirectional Relationship between Chronic Kidney Disease & Periodontal Disease. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 29, 211-215. [https://doi: 10.12669/pjms.291.2926](https://doi.org/10.12669/pjms.291.2926).
- Westerlund, U., Ingman, T., Lukinmaa, P. L., Salo, T., Kjeldsen, L., Borregaard, N., ... Sorsa, T. (1996). Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *Journal of Dental Research*, 75, 1553-1563.

- Yeşil, A., Gönen, C., Senates, E., Paker, N., Gökden, Y., Koçhan, K., ... Gündüz, F. (2013). Relationship between neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels and inflammatory bowel disease type and activity. *Digestive Diseases and Sciences*, 58, 2587-2593. [https://doi: 10.1007/s10620-013-2676-z](https://doi.org/10.1007/s10620-013-2676-z).
- Yoshihara, A., Iwasaki, M., Miyazaki, H., & Nakamura, K. (2016). Bidirectional relationship between renal function and periodontal disease in older Japanese women. *Journal of Clinical Periodontology*, 43, 720-726. [https://doi: 10.1111/jcpe.12576](https://doi.org/10.1111/jcpe.12576).
- Yu, Y. H., Chasman, D. I., Buring, J. E, Rose, L., & Ridker, P. M. (2015). Cardiovascular risks associated with incident and prevalent periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 42, 21-28. [https://doi: 10.1111/jcpe.12335](https://doi.org/10.1111/jcpe.12335).

Tabela 1. Características sociodemográficas e parâmetros periodontais (n = 281). São Luís – MA, Brasil, 2014-2016.

| <b>Variável</b>                | <b>n (%)</b> | <b>Média ± dp</b>   |
|--------------------------------|--------------|---------------------|
| <b>Sexo</b>                    |              |                     |
| Masculino                      | 127 (45,2)   |                     |
| Feminino                       | 154 (54,8)   |                     |
| <b>Renda familiar (mensal)</b> |              | 1.717,08 ± 1.466,25 |
| <b>Fumo</b>                    |              |                     |
| Sim                            | 23 (8,2)     |                     |
| Não                            | 258 (91,8)   |                     |
| <b>NGAL (pg/mL)</b>            |              |                     |
| 1º tercil 59,16 – 136,65       | 94 (33,5)    |                     |
| 2º tercil 137,1 - 318,98       | 96 (34,1)    |                     |
| 3º tercil 327,1 - 1442         | 91 (32,4)    |                     |
| <b>Parâmetros periodontais</b> |              |                     |
| SS <sup>1</sup>                | 101 (36,0)   |                     |
| PS ≥ 4 mm <sup>2</sup>         | 114 (40,6)   |                     |
| NIC ≥ 4 mm <sup>3</sup>        | 74 (26,3)    |                     |
| IPV (%)                        |              | 26,9 ± 11,1         |
| Sangramento à sondagem (%)     |              | 23,1 ± 20,1         |
| PS (mm)                        |              | 2,2 ± 0,2           |
| NIC (mm)                       |              | 2,2 ± 0,2           |

dp: desvio-padrão

<sup>1</sup>Número de adolescentes com pelo menos 15% de sítios com sangramento à sondagem.

<sup>2</sup>Número de adolescentes com pelo menos um dente com PS ≥ 4 mm em um mais sítios.

<sup>3</sup>Número de adolescentes com pelo menos um dente com NIC ≥ 4 mm em um mais sítios.

SS: sangramento à sondagem

IPV: índice de placa visível

PS: profundidade de sondagem

NIC: nível de inserção clínica

Tabela 2. Comparação de médias dos níveis séricos de NGAL entre os parâmetros da doença periodontal (n = 281). São Luís – MA, Brasil, 2014-2016.

|                                    | NGAL<br>(média ± dp) | p - Valor |
|------------------------------------|----------------------|-----------|
| <b>Sangramento à sondagem</b>      |                      |           |
| <b>(15% de sítios)<sup>1</sup></b> |                      | = 0,002*  |
| Sim                                | 351,2 ± 252,7        |           |
| Não                                | 263,4 ± 225,1        |           |
| <b>PS ≥ 4 mm<sup>2</sup></b>       |                      | < 0,001*  |
| Sim                                | 353,7 ± 263,5        |           |
| Não                                | 256,4 ± 212,8        |           |
| <b>NIC ≥ 4 mm<sup>3</sup></b>      |                      | < 0,001*  |
| Sim                                | 378,7 ± 274,7        |           |
| Não                                | 266,3 ± 218,2        |           |

dp: desvio-padrão.

<sup>1</sup> Pelo menos 15% e sítios com sangramento à sondagem.

<sup>2</sup> Pelo menos um dente com PS ≥ 4 mm em um ou mais sítios.

<sup>3</sup> Pelo menos um dente com NIC ≥ 4 mm em um ou mais sítios.

PS: profundidade de sondagem

NIC: nível de inserção clínica

\* Significativamente diferente (teste T de Student independente).

Tabela 3. Correlação linear entre os níveis séricos de NGAL e os parâmetros da doença periodontal (n = 281). São Luís – MA, Brasil, 2014-2016.

|                                     | Sangramento à sondagem <sup>1</sup> | PS <sup>2</sup>            | NIC <sup>3</sup>           |
|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Sangramento à sondagem <sup>1</sup> | -                                   | -                          | -                          |
| PS <sup>2</sup>                     | <b>r = 0,403</b> p < 0,001          | -                          | -                          |
| NIC <sup>3</sup>                    | <b>r = 0,203</b> p < 0,001          | <b>r = 0,676</b> p < 0,001 | -                          |
| NGAL                                | <b>r = 0,188</b> p = 0,001          | <b>r = 0,250</b> p = 0,001 | <b>r = 0,303</b> p < 0,001 |

r = Coeficiente de correlação de Pearson.

<sup>1</sup> Número de sítios com sangramento à sondagem.

<sup>2</sup> Número de sítios com PS  $\geq$  4 mm.

<sup>3</sup> Número de sítios com NIC  $\geq$  4 mm.

PS: profundidade de sondagem

NIC: nível de inserção clínica

Tabela 4. Associação entre níveis séricos de NGAL e parâmetros da doença periodontal (n = 281). São Luís – MA, Brasil, 2014-2016.

| Variável       | SS Análise               | SS Análise               | PS Análise               | PS Análise               | NIC Análise              | NIC Análise              |
|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                | Bruta <sup>a</sup>       | Ajustada <sup>a,b</sup>  | Bruta <sup>a</sup>       | Ajustada <sup>a,b</sup>  | Bruta <sup>a</sup>       | Ajustada <sup>a,b</sup>  |
|                | RM (IC 95%)<br>p - valor | RM (IC 95%)<br>p - valor | RM (IC 95%)<br>p - valor | RM (IC 95%)<br>p - valor | RM (IC 95%)<br>p - valor | RM (IC 95%)<br>p - valor |
| <b>NGAL</b>    |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| <b>(pg/mL)</b> |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| 1º tercil      | (Ref)                    | (Ref)                    | (Ref)                    | (Ref)                    | (Ref)                    | (Ref)                    |
| 59,16-136,65   |                          |                          |                          |                          |                          |                          |
| 2º tercil      | 1,22 (1,22-              | 1,17 (1,05-              | 1,17 (0,92-              | 0,70 (0,52-              | 0,87 (0,61-              | 0,62 (0,38-              |
| 137,1-318,98   | 1,33) < <b>0,001</b>     | 1,30) <b>0,004</b>       | 1,48) 0,189              | 0,94) <b>0,018</b>       | 1,24) 0,457              | 1,00) 0,052              |
| 3º tercil      | 1,47 (1,35-              | 1,52 (1,37-              | 2,47 (2,01-              | 1,76 (1,38-              | 3,23 (2,45-              | 2,93 (2,05-              |
| 327,11-1442    | 1,60) < <b>0,001</b>     | 1,69) < <b>0,001</b>     | 3,04) < <b>0,001</b>     | 2,24) < <b>0,001</b>     | 4,27) < <b>0,001</b>     | 4,19) < <b>0,001</b>     |

RM: razão de médias

IC: intervalo de confiança

PS: profundidade de sondagem

NIC: nível de inserção clínica

a: Análise de Regressão de Poisson

b: Modelo ajustado para sexo, renda familiar e fumo.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As possíveis associações que ligam a doença periodontal com os agravos sistêmicos têm sido cada vez mais estudados, sendo que as doenças inflamatórias crônicas como diabetes e doenças cardiovasculares podem ter um impacto negativo sobre os tecidos periodontais e os efeitos recíprocos das doenças periodontais podem afetar a progressão destas doenças. Porém, os mecanismos que envolvem essas relações ainda precisam ser elucidados. Assim, estudar essas relações em adolescentes pode ajudar a compreender os mecanismos e a progressão dessas alterações.

No Capítulo I desta tese verificou-se que componentes da síndrome metabólica, em particular os ligados a padrões alimentares inadequados, estão marcando, de forma individual e independente, destruição tecidual e atividade de doença em adolescentes. Já no Capítulo 2, observou-se um aumento de NGAL em níveis séricos em adolescentes com alterações nos tecidos periodontais. Sugerindo assim, que a NGAL, além de representar um marcador para doenças sistêmicas, pode representar um marcador de doença periodontal inicial em adolescentes.

## REFERÊNCIAS

- Holtfreter B, Empen K, Gläser S, Lorbeer R, Völzke H, Ewert R et al. Periodontitis is associated with endothelial dysfunction in a general population: a cross-sectional study. *PLoS One*. 2013; 8(12): e84603.
- Baehni P, Tonetti MS; Group 1 of the European Workshop on Periodontology. Conclusions and consensus statements on periodontal health, policy and education in Europe: a call for action--consensus view 1. Consensus report of the 1<sup>st</sup> European Workshop on Periodontal Education. *Eur J Dent Educ*. 2010; 14 (Suppl 1): 2-3.
- Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ; CDC Periodontal Disease Surveillance workgroup: James Beck (University of North Carolina, Chapel Hill, USA), Gordon Douglass (Past President, American Academy of Periodontology), Roy Page (University of Washin.. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J Dent Res*. 2012; 91(10): 914-20.
- McCauley LK, Nohutcu RM. Mediators of periodontal osseous destruction and remodeling: principles and implications for diagnosis and therapy. *J Periodontol*. 2002; 73(11): 1377-91.
- Taubman MA, Kawai T, Han X. The new concept of periodontal disease pathogenesis requires new and novel therapeutic strategies. *J Clin Periodontol*. 2007; 34(5): 367-9.
- Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2008; 79(8 Suppl): 1585-91.
- Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997; 91(3): 295-8.
- Anderson KV. Toll signaling pathways in the innate immune response. *Curr Opin Immunol*. 2000; 12(1): 13-9.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1991; 26(3 Pt 2): 230-42.
- Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*. 1997; 14: 216-48.
- Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993; 64(5 Suppl): 474-84.
- Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol 2000* 2000; 24: 226-38.
- Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA. Periodontal systemic associations: review of the evidence. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 (Suppl 14): S8-19.

Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 (Suppl 14): S1-7.

Han DH, Lim SY, Sun BC, Paek D, Kim HD. The association of metabolic syndrome with periodontal disease is confounded by age and smoking in a Korean population: the Shiwha-Banwol Environmental Health Study. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(7): 609-16.

Wahid A, Chaudhry S, Ehsan A, Butt S, Ali Khan A. Bidirectional Relationship between Chronic Kidney Disease & Periodontal Disease. *Pak J Med Sci*. 2013 Jan; 29(1): 211-5.

Bascones-Martínez A, Muñoz-Corcuera M, Bascones-Ilundain J. Diabetes and periodontitis: A bidirectional relationship. *Med Clin (Barc)*. 2015; 145(1): 31-5.

Amabile N, Susini G, Pettenati-Soubayroux I, Bonello L, Gil JM, Arques S et al. Severity of periodontal disease correlates to inflammatory systemic status and independently predicts the presence and angiographic extent of stable coronary artery disease. *J Intern Med*. 2008; 263(6): 644-52.

Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009; 36(7): 541-9.

Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME et al. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012; 125(20): 2520-44.

Dietrich T, Sharma P, Walter C, Weston P, Beck J. The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J Periodontol*. 2013; 84(4 Suppl): S70-84.

Demmer RT, Jacobs DR Jr, Desvarieux M. Periodontal disease and incident type 2 diabetes: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiologic follow-up study. *Diabetes Care*. 2008; 31(7): 1373-9.

Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008; 15(2): 135-41.

Chávarry NG, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis. *Oral Health Prev Dent*. 2009; 7(2): 107-27.

Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2011; 7(12): 738-48.

D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, et al. Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*. 2004; 83(2): 156-160.

Craig RG. Interactions between chronic renal disease and periodontal disease. *Oral Dis.* 2008; 14(1): 1-7.

Yoshihara A, Iwasaki M, Miyazaki H, Nakamura K. Bidirectional relationship between renal function and periodontal disease in older Japanese women. *J Clin Periodontol.* 2016; 43(9): 720-6.

Pischon N, Pischon T, Kröger J, Gülmez E, Kleber BM, Bernimoulin JP, Landau H, Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Buttgereit F, Detert J. Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(6): 979-86.

Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res Ther.* 2010; 12(5): 218.

Choi IA, Kim JH, Kim YM, Lee JY, Kim KH, Lee EY, Lee EB, Lee YM, Song YW. Periodontitis is associated with rheumatoid arthritis: a study with longstanding rheumatoid arthritis patients in Korea. *Korean J Intern Med.* 2016; 31(5): 977-86.

Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007; 13 (Suppl 4): 3-10.

Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2004; 33(2): 351-75.

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006; 23(5): 469-80.

Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Cholesterol. *JAMA.* 2001; 285: 2486-97.

Saito T, Shimazaki Y, Kiyohara Y, Kato I, Kubo M, Iida M, Koga T. The severity of periodontal disease is associated with the development of glucose intolerance in non-diabetics: the Hisayama study. *J Dent Res.* 2004; 83(6): 485-90.

Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol.* 2005; 76(11 Suppl): 2075-84.

Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Periodontol.* 2002; 73(5): 494-500.

Nibali L, D'Aiuto F, Griffiths G, Patel K, Suvan J, Tonetti MS. Severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case-control study. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(11): 931-7.

- Han DH, Lim SY, Sun BC, Paek D, Kim HD. The association of metabolic syndrome with periodontal disease is confounded by age and smoking in a Korean population: the Shiwha-Banwol Environmental Health Study. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(7): 609-16.
- Rivas-Tumanyan S, Campos M, Zevallos JC, Joshipura KJ. Periodontal disease, hypertension, and blood pressure among older adults in Puerto Rico. *J Periodontol*. 2013; 84(2): 203-11.
- Saito T, Shimazaki Y. Metabolic disorders related to obesity and periodontal disease. *Periodontol*. 2007; 43: 254 – 66.
- Suvan J, D'Aiuto F, Moles DR, Petrie A, Donos N. Association between overweight/obesity and periodontitis in adults. A systematic review. *Obes Rev*. 2011; 12(5): e381-404.
- Nesbitt MJ, Reynolds MA, Shiau H, Choe K, Simonsick EM, Ferrucci L. Association of periodontitis and metabolic syndrome in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Aging Clin Exp Res*. 2010; 22(3): 238-42.
- Gurav AN. The association of periodontitis and metabolic syndrome. *Dent Res J (Isfahan)*. 2014; 11(1): 1-10.
- Akerstrom B, Flower DR, Salier JP. Lipocalins: unity in diversity. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1482(1-2): 1-8.
- Nasioudis D, Witkin SS. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and innate immune responses to bacterial infections. *Med Microbiol Immunol*. 2015; 204(4): 471-9.
- Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*. 1997; 45(1): 17-23.
- Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*. 2003; 14(10): 2534-43.
- Alpízar-Alpízar W, Laerum OD, Illemann M, Ramírez JA, Arias A, Malespín-Bendaña W et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL/Lcn2) is upregulated in gastric mucosa infected with *Helicobacter pylori*. *Virchows Arch*. 2009; 455(3): 225-33.
- Yoo do Y, Ko SH, Jung J, Kim YJ, Kim JS, Kim JM. *Bacteroides fragilis* enterotoxin upregulates lipocalin-2 expression in intestinal epithelial cells. *Lab Invest*. 2013; 93(4): 384-96.
- Xu MJ, Feng D, Wu H, Wang H, Chan Y, Kolls J et al. Liver is the major source of elevated serum lipocalin-2 levels after bacterial infection or partial hepatectomy: a critical role for IL-6/STAT3. *Hepatology*. 2015; 61(2): 692-702.
- Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2008; 241: 89-94.

Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A; NGAL Meta-analysis Investigator Group.. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2009; 54(6): 1012-24.

Nishida M, Kawakatsu H, Okumura Y, Hamaoka K. Serum and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in children with chronic renal diseases. *Pediatr Int.* 2010; 52(4): 563-8.

Helanova K, Spinar J, Parenica J. Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular diseases--review. *Kidney Blood Press Res.* 2014; 39(6): 623-9.

Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Theodoridou C, Karangelis D, Germenis A, Stefanidis I, Potamianos SP. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in inflammatory bowel disease: association with pathophysiology of inflammation, established markers, and disease activity. *J Gastroenterol.* 2012; 47(5): 519-30.

Janas RM, Ochocińska A, Snitko R, Dudka D, Kierkuś J, Teisseyre M et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in blood in children with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014; 29(11): 1883-9.

Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem.* 1993; 268(14): 10425-32.

Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK et al. Lipocalin 2 Mediates an Innate Immune Response to Bacterial Infection by Sequestering Iron. *Nature* 2004; 432: 917-921.

Westerlund U, Ingman T, Lukinmaa PL, Salo T, Kjeldsen L, Borregaard N et al. Human neutrophil gelatinase and associated lipocalin in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res.* 1996; 75(8): 1553-63.

Bondy-Carey JL, Galicia J, Bagaitkar J, Potempa JS, Potempa B, Kinane DF et al. Neutrophils alter epithelial response to *Porphyromonas gingivalis* in a gingival crevice model. *Mol Oral Microbiol.* 2013; 28(2): 102-13.

Morelli T, Stella M, Barros SP, Marchesan JT, Moss KL, Kim SJ et al. Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *J Periodontol.* 2014; 85(12): 1770-8.

APÊNDICE A - Questionário sociodemográfico, história médica e odontológica e hábitos de vida



**AdolesCER**  
**Centro de Estudo de Referência do Adolescente**  
 Programa de Pós-Graduação em Odontologia - UFMA

**PESQUISA: OS AGRAVOS BUCAIS EM ADOLESCENTES SÃO MARCADORES  
 DE RISCO ÀS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS?**

**Entrevistador (a) – circule o código:**

**Data da entrevista**

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- |                                       |                                   |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| (1) Cadidja Dayane Sousa do Carmo     | (7) Matheus Santos                |
| (2) Rui Robson Loureiro Paixão Júnior | (8) Mayra Moura Franco            |
| (3) Yuri Jivago S. Ribeiro            | (9) Mônica Araújo Batalha         |
| (4) Deborah Rackel Caldas da Rocha    | (10) Janete Daniel de Alencar     |
| (5) Lara Duailibe                     | (11) Janaína Mayana Abreu Barbosa |
| (6) Aluísio Neto                      | (12) Suely Melo                   |

Bom dia / boa tarde, meu nome é *(fulano)*, sou integrante do Grupo de Pesquisa AdolesCER, da Universidade Federal do Maranhão. Você será entrevistado (a) agora para que possa participar das outras etapas do estudo (exame odontológico, exame de sangue, medidas antropométricas, coleta de saliva, avaliação nutricional e de atividade física). Precisaremos de 20 minutos e pedimos a sua colaboração, respondendo as questões que seguem, obrigado (a)!!!

**BLOCO A – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO ADOLESCENTE E DA FAMÍLIA:**

**1A. Qual o seu nome completo?**

\_\_\_\_\_

**2A. Sexo** (o entrevistador deve observar e anotar): 1. ( ) Masculino 2. ( ) Feminino

**3A. Qual sua idade?** 1. ( ) 17 anos 2. ( ) 18 anos      **4A. Sua Data de Nascimento, é?**

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**4A. Qual seu RG?** \_\_\_\_\_

**5A. Qual seu CPF?** \_\_\_\_\_

**6A. Em qual Cidade e Estado você nasceu?** \_\_\_\_\_

**7A. Qual o nome completo de sua mãe?** \_\_\_\_\_

**8A. Qual a Data de Nascimento da sua mãe(DD/MM/AAAA)?** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**9A. Qual o nome de seu pai?** \_\_\_\_\_

**10A. Qual a Data de Nascimento do seu pai (DD/MM/AAAA)?** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**11A. Você (a) tem algum trabalho em que recebe salário?** 1. ( ) Sim 2. ( ) Não

**12A. Já foi reprovado(a) em alguma série na escola?** 1. ( ) Sim- Quantas vezes.?..... 2. ( ) Não

**13A Circule a Escola deste aluno** (atenção para não confundir as escolas **2, 7 e 20**):

- |                                                |                                           |
|------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| (1) CE Anjo da Guarda                          | (11) CE Antonio Ribeiro Da Silva          |
| (2) CE São Cristóvão (anexo São Cristóvão)     | (12) Fundação Nice Lobão– CINTRA          |
| (3) UE Cruzeiro do Sul                         | (13) CE Prof Ignácio Rangel               |
| (4) CE Y Bacanga                               | (14) CE PROFa Margarida Pires Leal        |
| (5) CE Vinícius de Moraes                      | (15) CE Lara Ribas                        |
| (6) CE Roseana Sarney Murad                    | (16) CE Maria Monica Vale                 |
| (7) CE São Cristóvão (anexo JD São Cristóvão ) | (17) UE Gal Artur Carvalho                |
| (8) CE Fernando Perdigão                       | (18) CE Cidade de São Luís                |
| (9) UI Desembargador Sarney                    | (19) CE Profº Luís Rego                   |
| (10)(10) CE Manoel Beckman                     | (20) CE São Cristóvão- Anexo São Bernardo |

**14A. Marcar a série, anotar a turma e marcar o turno que estuda o(a) aluno (a).**

- |            |              |                |
|------------|--------------|----------------|
| (1) 1º ano | Turma: _____ | (1) Matutino   |
| (2) 2º ano | Turma: _____ | (2) Vespertino |
| (3) 3º ano | Turma: _____ | (3) Noturno    |

**BLOCO B – DADOS DE CONTATO:**

**1B. Qual o endereço completo de sua residência? Tem e-mail, Facebook? Telefone Fixo e/ou Celular (Whatsaap)?**

Endereço **COMPLETO** (nome da rua e quadra, se tiver; nome do prédio, número da casa ou apto, bairro e cidade)

Endereço eletrônico (e-mail e facebook)

Telefone fixo  
Outro

Telefone celular (anotar a operadora)

**2B. Você possui algum outro telefone de contato ou de algum parente (pai, mãe, irmãos, primos, etc) ou vizinho/amigo que possa facilitar nossos contatos?**

| Nome da pessoa | Relação com o adolescente/pais | Nº telefone fixo | celular (anotar a operadora) |
|----------------|--------------------------------|------------------|------------------------------|
|----------------|--------------------------------|------------------|------------------------------|

|                |                                 |                  |                              |
|----------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|
| Nome da pessoa | Relação com o adolescente /pais | Nº telefone fixo | celular (anotar a operadora) |
|----------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|

|                |                                 |                  |                              |
|----------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|
| Nome da pessoa | Relação com o adolescente /pais | Nº telefone fixo | celular (anotar a operadora) |
|----------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|

**BLOCO C – DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS**

**1C. Qual a cor da sua pele?**

1. ( ) branca  
2. ( ) preta/negra

3. ( ) parda/mulata/cabocla/morena  
 4. ( ) amarelo/oriental  
 5. ( ) indígena  
 99. ( ) não sabe

**2C. Qual o seu estado civil?**

1. ( ) solteiro (a)  
 2. ( ) casado (a)/ união estável/ mora com um (a) companheiro (a)  
 3. ( ) separado (a)/ divorciado (a)/ desquitado(a)  
 4. ( ) viúvo (a)

**3C. Quantas pessoas moram na mesma casa com você (excluindo o adolescente)?** Incluir pessoas que moram a mais de 3 meses na casa.

\_\_\_\_\_ pessoas

**4C. Quem mora na sua casa com você?** (pode marcar mais de uma opção)

1. ( ) Mãe  
 2. ( ) Pai  
 3. ( ) Madrasta  
 4. ( ) Padrasto  
 5. ( ) Irmãos / Irmãs  
 6. ( ) Avô / avó  
 7. ( ) Outros -  
 especifique: \_\_\_\_\_

**5C. Você tem irmãos?**

1. ( ) SIM  
 2. ( ) NÃO

99. ( ) Não sabe

**6C. SE SIM. Quantos irmãos você tem?** \_\_\_\_\_

1. ( ) Não se aplica

**7C. Qual a sua ordem de nascimento entre os filhos de seus pais (mesmo Pai e mesma Mãe)? Você é o 1º, 2º, 3º, 4º, 5º, 6º..., filho?**

( ) 1ª ( ) 2ª ( ) 3ª ( ) 4ª ( ) 5ª ( ) 6ª ( ) 7ª ( ) Outra ordem. Qual?

**8C. Quantos itens abaixo a sua família possui? (circule a resposta)**

|                                                                          | Quantidade em itens |   |   |   |           |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------|---|---|---|-----------|
|                                                                          | 0                   | 1 | 2 | 3 | 4 ou mais |
| <b>9C. Televisão em cores</b>                                            | 0                   | 1 | 2 | 3 | 4         |
| <b>10C. Rádio</b>                                                        | 0                   | 1 | 2 | 3 | 4         |
| <b>11C. Banheiro</b>                                                     | 0                   | 4 | 5 | 6 | 7         |
| <b>12C. Automóvel</b>                                                    | 0                   | 4 | 7 | 9 | 9         |
| <b>13C. Empregada mensalista</b>                                         | 0                   | 3 | 4 | 4 | 4         |
| <b>14C. Máquina de lavar (não considerar tanquinho)</b>                  | 0                   | 2 | 2 | 2 | 2         |
| <b>15C. Vídeo Cassete ou DVD</b>                                         | 0                   | 2 | 2 | 2 | 2         |
| <b>16C. Geladeira</b>                                                    | 0                   | 4 | 4 | 4 | 4         |
| <b>17C. Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)</b> | 0                   | 2 | 2 | 2 | 2         |

|                                                 |
|-------------------------------------------------|
| <b>BLOCO D – HISTÓRIA MÉDICA DO ADOLESCENTE</b> |
|-------------------------------------------------|

**1D. Normalmente que horas você costuma DORMIR à noite (durante a semana, sem ser sábado ou domingo)?** \_\_\_\_\_h \_\_\_\_\_min

**2D. Normalmente que horas você costuma ACORDAR de manhã (durante a semana, sem ser sábado ou domingo)?** \_\_\_\_\_h \_\_\_\_\_min

**3D. Como você considera a sua saúde?**

- 1. ☐ Excelente
- 2. ☐ Boa
- 3. ☐ Regular
- 4. ☐ Ruim
- 5. ☐ Muito ruim
- 99 ☐ Não sabe

**4D. Quando foi a última consulta médica?**

- 1. ☐ há menos de 1 ano
- 2. ☐ de 1 até 2 anos
- 3. ☐ de 2 até 5 anos
- 4. ☐ há mais de 5 anos
- 5. ☐ nunca realizou consulta médica
- 99. ☐ Não lembra/Não sabe

**5D. Você FICOU DOENTE nos últimos 2 anos?**

- 1. ☐ SIM. Qual foi a doença? \_\_\_\_\_
- 2. ☐ NÃO
- 99. ☐ Não lembra/Não sabe

**6D. Algum MÉDICO já lhe disse que você tem PRESSÃO ALTA?**

- 1. ☐ SIM
- 2. ☐ NÃO
- 99. ☐ Não lembra/Não sabe

**7D. Quando foi a última consulta médica em que sua pressão arterial foi medida?**

- 1. ☐ há menos de 1 ano
- 2. ☐ de 1 até 2 anos (inclui o 2)
- 3. ☐ de 2 até 5 anos (inclui o 5)
- 4. ☐ há mais de 5 anos
- 5. ☐ nunca mediu pressão em uma consulta médica
- 6. ☐ nunca realizou consulta médica
- 99 ☐ Não lembra/Não sabe

**8D. Você já aferiu sua pressão arterial alguma vez durante a vida?**

- 1. ☐ SIM
- 2. ☐ NÃO
- 99 ☐ Não sabe/Não lembra.

**9D. Algum MÉDICO já lhe disse que você tem DIABETES?**

- 1. ☐ SIM
- 2. ☐ NÃO
- 99. ☐ Não lembra/Não sabe

**10D. Você já fez algum exame para medir açúcar no sangue (glicemia)?**

1. ☐ SIM
2. ☐ NÃO
99. ☐ Não lembra/Não sabe

**11D. Nos últimos 30 dias, você apresentou algum sinal de gripe, como coriza, febre, mal estar geral, tosse ou dor de garganta?**

1. ☐ SIM
2. ☐ NÃO
99. ☐ Não lembra/Não sabe

**12D. Algum médico já lhe disse que você tem DOENÇA DO CORAÇÃO, como infarto, angina, insuficiência cardíaca, arritmia ou outra?**

1. ☐ SIM
2. ☐ NÃO
99. ☐ Não lembra/Não sabe

**13D. Quais doenças do coração o médico disse que você tem ou teve:**

1. ☐ Infarto
2. ☐ Angina
3. ☐ Insuficiência cardíaca
4. ☐ Arritmia
5. ☐ Outra doença do coração. **QUAL?** \_\_\_\_\_
99. ☐ Não se aplica

**14D. Você toma alguma VITAMINA no momento?**

1. ☐ SIM. **QUAL?** \_\_\_\_\_
2. ☐ NÃO

**15D. Você toma algum SUPLEMENTO PROTEICO para GANHO DE MASSA MUSCULAR?**

1. ☐ SIM. **QUAL?** \_\_\_\_\_
2. ☐ NÃO

**16D. Você está tomando ALGUM MEDICAMENTO atualmente?**

1. ☐ SIM .
2. ☐ NÃO

**17D. Que TIPO DE MEDICAMENTO você está tomando? ANOTAR o nome do medicamento:** \_\_\_\_\_

1. ☐ Anti-inflamatório
2. ☐ Tranquilizante
3. ☐ Anti-hipertensivo
4. ☐ Anticoncepcional
5. ☐ Antialérgico
6. ☐ Analgésico
7. ☐ Para colesterol alto
8. ☐ Para diabetes
9. ☐ Para o coração
88. ☐ Não se aplica
99. ☐ Não sabe

**18D. Você tem alguma ALERGIA?**

1. ☐ SIM. Alergia a \_\_\_\_\_
2. ☐ NÃO
99. ☐ Não sabe

**19D. PARA ESTUDANTES DO SEXO FEMININO: Você está grávida?**

1. ☐ SIM → Quantos meses de gravidez está? \_\_\_\_\_
2. ☐ NÃO
88. ☐ Não se aplica
99. ☐ Não sabe

**PARA ESTUDANTES DO SEXO FEMININO: Como podemos classificar seu ciclo menstrual?****20D. Com relação a FREQUÊNCIA**

1. ☐ Regular (28 em 28 dias)
2. ☐ Irregular (não menstrua todo mês ou menstrua mais de uma vez por mês)
88. ☐ Não se aplica
99. ☐ Não sabe

**21D. Com relação a INTENSIDADE**

1. ☐ Intenso (duração maior que 06 dias)
2. ☐ Normal (de 02 a 06 dias)
88. ☐ Não se aplica
99. ☐ Não sabe

**22D. PARA ESTUDANTES DO SEXO FEMININO: Você está tomando algum medicamento anticoncepcional?**

1. ☐ SIM → Há quanto tempo? \_\_\_\_\_ano(s) \_\_\_\_\_meses
2. ☐ NÃO
88. ☐ Não se aplica

**BLOCO E: HISTÓRIA ODONTOLÓGICA DO ADOLESCENTE****1E. Qual o NÚMERO DE VEZES que você faz a limpeza da sua boca (escova os dentes) durante o dia?**

1. ☐ Uma vez
2. ☐ Duas vezes
3. ☐ Três vezes
4. ☐ Quatro vezes
5. ☐ Mais de quatro vezes
6. ☐ Nenhuma
99. ☐ Não sabe

**2E. O que você utiliza para higienizar sua boca e seus dentes? (Pode responder mais de uma opção)**

1. ☐ Escova dental
2. ☐ Pasta de dente
3. ☐ Fio/Fita dental
4. ☐ Bochechos/Enxaguantes bucais
5. ☐ Raspador de língua e bochecha
6. ☐ Outros: \_\_\_\_\_

**3E. Qual creme dental você costuma usar? \_\_\_\_\_**

8. ☐ Não se aplica (não usa)
99. ☐ Não sabe

**4E. De quanto em quanto tempo você troca a sua escova de dentes?**

1. ☐ Mensalmente
2. ☐ A cada três meses
3. ☐ A cada seis meses
4. ☐ Anualmente
5. ☐ Mais de um ano
6. ☐ Outro. Anotar \_\_\_\_\_
88. ☐ Não se aplica
99. ☐ Não sabe

**5E. Quais os HORÁRIOS que você faz a limpeza da boca (escova os dentes) durante o dia? (Pode responder mais de uma opção)**

1. ( ) ao acordar
2. ( ) após o café da manhã
3. ( ) após o lanche da manhã
4. ( ) após o almoço
5. ( ) após o lanche da tarde
6. ( ) após o jantar
7. ( ) antes de dormir
8. ( ) Outro. Anotar \_\_\_\_\_
88. ( ) Não se aplica
99. ( ) Não sabe

**6E. Você já foi ao dentista?**

1. ( ) SIM
2. ( ) NÃO - Passe para a questão 9E
99. ( ) NÃO SABE

**7E. Quando foi a última vez que você foi ao dentista?**

1. ( ) No último mês
2. ( ) Nos últimos dois meses
3. ( ) Nos últimos seis meses
4. ( ) No último ano
5. ( ) Nos últimos dois anos
6. ( ) Mais de 02 anos.
88. ( ) Não se aplica
99. ( ) Não sabe

**8E. Qual o motivo da sua ÚLTIMA consulta ao cirurgião-dentista?**

1. ( ) limpeza
2. ( ) aplicação de flúor
3. ( ) traumatismo – caiu e quebrou o dente
4. ( ) lesões na boca - feridas na boca
5. ( ) sangramento na gengiva
6. ( ) manchas nos dentes
7. ( ) cárie dentária: buracos nos dentes
8. ( ) outro motivo: \_\_\_\_\_
88. ( ) Não se aplica
99. ( ) Não sabe/Não lembra

**9E. Você já teve DOR DE DENTE?**

1. ( ) SIM
2. ( ) NÃO – Passe para a questão 17E

**10E. Quando ocorreu a sua dor de dente?**

1. ( ) nesta semana
2. ( ) na semana passada
3. ( ) há pouco tempo, mas foi neste último mês
3. ( ) há muito tempo, há mais de dois meses
88. ( ) não se aplica
99. ( ) não lembra

**11E. Quantas vezes você sentiu esta dor?**

1. ( ) 1 vez
2. ( ) 2 ou 3 vezes
3. ( ) mais de 3 vezes
88. ( ) não se aplica
99. ( ) não lembra

**12E. Quanto tempo durou a dor?**

- 1. ( ) pouco tempo, alguns minutos
- 2. ( ) muito tempo, vários dias
- 88. ( ) não se aplica
- 99. ( ) não lembra

**13E. Você acordou à noite por causa desta dor?**

- 1. ( ) sim
- 2. ( ) não
- 88. ( ) não se aplica
- 99. ( ) não lembra

**14E. Deixou de fazer alguma coisa por causa da dor?**

- 1. ( ) sim
- 2. ( ) não
- 88. ( ) não se aplica
- 99. ( ) não lembra

**15E. O que você deixou de fazer por causa de dor de dente?**

- 1. ( ) exercitar-se
- 2. ( ) comer
- 3. ( ) dormir
- 4. ( ) escovar os dentes
- 5. ( ) ir à escola/trabalhar
- 6. ( ) outro \_\_\_\_\_
- 88. ( ) não se aplica
- 99. ( ) não lembra

**16E. Qual medida foi tomada para o alívio da DOR?**

- 1. ( ) fez bochecho. Com o quê? \_\_\_\_\_
- 2. ( ) automedicação (tomar remédio por conta própria) Caso lembre, informe o nome da medicação:  
\_\_\_\_\_
- 3. ( ) evitou doces (balas, bombons, etc.)
- 4. ( ) escovou os dentes
- 5. ( ) fez outra coisa diferente. O quê? \_\_\_\_\_
- 6. ( ) procurou o dentista
- 88. ( ) Não se aplica
- 99. ( ) Não lembra/Não sabe

**17E. Você já notou sangramento em sua gengiva durante a escovação?**

- 1. ( ) SIM
- 2. ( ) NÃO

**18E. Você possui algum hábito como** (pode marcar mais de uma opção):

- 1. ( ) Roer as unhas
- 2. ( ) Morder caneta, lápis, fone de ouvido...
- 3. ( ) Mastigar objetos sólidos
- 4. ( ) Usar palito de dentes.
- 5. ( ) Outro hábito. Qual? \_\_\_\_\_
- 6. ( ) Não, nenhum.

**O Grupo de Pesquisa AdolesCER agradece a sua participação. Sua colaboração foi de extrema importância para o estudo.** Agora você receberá o Questionário que sua MÃE deverá responder em casa. Se não souber responder ou tiver dúvida em alguma pergunta, por favor, pode ligar para [Cadidja 98864-1524](tel:98864-1524) ou [98151-7658](tel:98151-7658).  
Depois de respondido você deverá nos [devolver o Questionário aqui mesmo na sua Escola.](#)

**PESQUISA: OS AGRAVOS BUCAIS EM ADOLESCENTES SÃO MARCADORES DE RISCO ÀS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSÍVEIS?**

**Sra. MÃE ou RESPONSÁVEL:** Por favor, responda às seguintes questões sobre seu (sua) filho (a) e sua família. Suas respostas serão imprescindíveis ao estudo e aos exames médico e odontológico que seu (sua) filho (a) fará.

**Obrigada!**

**Caso você tenha alguma dúvida, por favor, entre em contato comigo. CADIDJA DO CARMO: 98864-1524 (Oi) ou 98151-7658 (Tim).**

**QUESTIONÁRIO PARA OS RESPONSÁVEIS**

**BLOCO C – DADOS SOCIOECONÔMICOS E DEMOGRÁFICOS**

**ESCOLA:** \_\_\_\_\_

**NOME DO (A) ALUNO (A):-** \_\_\_\_\_

**TURMA:** \_\_\_\_\_

**RG do (a) Aluno (a):** \_\_\_\_\_ **CPF do (a) Aluno (a):** \_\_\_\_\_

**7A. Qual o seu NOME (nome da mãe do(a) adolescente)? :** \_\_\_\_\_

**8A. Qual a sua DATA DE NASCIMENTO (da mãe do(a) adolescente) :** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**9A. Qual o NOME DO PAI do (a) Adolescente (a):** \_\_\_\_\_

**10A. Qual a DATA DE NASCIMENTO DO PAI do (a) Adolescente:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**15A. A sra é mãe dele (a) de forma NATURAL ou ADOTIVA? 1. ( ) Natural 2. ( ) Adotiva**

**16A. Qual o seu PESO (peso da MÃE do adolescente)?** \_\_\_\_\_ **Kg**

**17A. Qual a sua ALTURA (altura da MÃE do adolescente)?** \_\_\_\_\_ **m**

**9C. Até quando VOCÊ (mãe do adolescente) estudou ou estuda? Por favor, Anote a **Série exata** até quando você estudou** \_\_\_\_\_ **série** \_\_\_\_\_ **grau** . **E também marque abaixo:**

1. ( ) Nunca foi à escola. Não sabe ler ou escrever.
2. ( ) Nunca foi à escola. Sabe ler e escrever.
3. ( ) Primário (até a 4ª série)
4. ( ) Ginásio (até a 8ª série)
5. ( ) Ensino médio (antigo 2º grau)
6. ( ) Ensino Superior – Faculdade
7. ( ) Especialização, Mestrado ou Doutorado

**10C. Até quando estudou ou estuda o PAI do Adolescente? Anotar a **Série exata** até quando ELE estudou:** \_\_\_\_\_ **série** \_\_\_\_\_ **grau** . **E também marque abaixo:**

1. ( ) Nunca foi à escola. Não sabe ler ou escrever.
2. ( ) Nunca foi à escola. Sabe ler e escrever.
3. ( ) Primário completo (até 4ª série)
4. ( ) Ginásio completo (até 8ª série)

5. ( ) Ensino médio (antigo 2º grau)  
 6. ( ) Ensino Superior – Faculdade  
 7. ( ) Especialização, Mestrado ou Doutorado  
 88. ( ) Não se aplica

**11C. Quem é o CHEFE DA SUA FAMÍLIA** (aquele com maior renda com quem que o adolescente vive/mora)?

- |                                     |                                   |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 1. ( ) Pai do(a) Adolescente        | 8. ( ) Padrasto do(a) Adolescente |
| 2. ( ) Mãe do(a) Adolescente        | 9. ( ) Madrasta do(a) Adolescente |
| 3. ( ) Avó do(a) Adolescente        | 10. ( ) Irmão do(a) Adolescente   |
| 4. ( ) Avô do(a) Adolescente        | 11. ( ) Irmã do(a) Adolescente    |
| 5. ( ) Tio do(a) Adolescente        | 99. ( ) Não sabe                  |
| 6. ( ) Tia do(a) Adolescente        | 13. ( ) Outro: _____              |
| 7. ( ) Esposo (a) do(a) Adolescente |                                   |

**12C. Até quando estudou ou estuda o CHEFE DA SUA FAMÍLIA? CASO SEJA O PAI OU MÃE, NÃO PRECISA RESPONDER. ESSA QUESTÃO.**

Anotar a **Série exata** até quando estudou: \_\_\_\_\_. **E marcar abaixo:**

1. ( ) Nunca foi à escola. Não sabe ler ou escrever.  
 2. ( ) Sabe ler ou escrever, sem ter frequentado a escola.  
 3. ( ) Primário (até 4ª série)  
 4. ( ) Ginásio (até 8ª série)  
 5. ( ) Ensino médio (antigo 2º grau)  
 6. ( ) Ensino Superior – Faculdade  
 7. ( ) Especialização, Mestrado ou Doutorado.  
 88. ( ) Não se aplica

**13C. Qual a idade do CHEFE DA SUA FAMÍLIA** (pessoa da família com maior renda (anos completos))?  
 \_\_\_\_\_ anos

**14C. Qual a cor da pele da pessoa da família com maior renda?**

1. ( ) branca  
 2. ( ) preta/negra  
 3. ( ) parda/mulata/cabocla/morena  
 4. ( ) amarela/oriental  
 5. ( ) indígena  
 99. ( ) não sabe

**15C. Qual a forma de trabalho do chefe de sua família?**

1. ( ) Trabalha por conta própria  
 2. ( ) Assalariado ou empregado  
 3. ( ) Dono de empresa-empregador  
 4. ( ) Faz bico  
 5. ( ) Aposentado  
 99. ( ) Não sabe

**16C. Qual a ocupação atual** (ou no que trabalha) do (a) **Chefe de sua família?** (Descreva a ocupação. Caso seja aposentado, colocar a última atividade que exerceu)

Ocupação: \_\_\_\_\_

**17C. De onde vem a água da casa usada para beber?**

1. ( ) Rede pública/água encanada  
 2. ( ) Poço artesiano  
 3. ( ) Poço/cacimba  
 4. ( ) Rio/riacho/lagoa  
 5. ( ) Outro \_\_\_\_\_  
 99. ( ) Não sabe

**18C. No mês passado, quanto (em reais) ganharam as pessoas da sua família que trabalham?**

**1º pessoa:** R\$ \_\_\_\_\_

**2º pessoa:** R\$ \_\_\_\_\_

**3º pessoa:** R\$ \_\_\_\_\_

**4º pessoa:** R\$ \_\_\_\_\_

**A família tem outra renda?** R\$ \_\_\_\_\_

**Renda total:** R\$ \_\_\_\_\_

**19C. O adolescente recebe BOLSA FAMÍLIA, BOLSA ESCOLA ou qualquer outro benefício?** Anotar qual benefício recebe: \_\_\_\_\_

1. ( ) SIM

2. ( ) NÃO

**20C. A sua família é cadastrada em alguma unidade de Saúde na Família (posto)?**

1. ( ) SIM

2. ( ) NÃO

**21C. Na unidade de Saúde na Família (posto) que sua família é cadastrada tem DENTISTA?**

1. ( ) SIM

2. ( ) NÃO

88. ( ) Não se aplica

99. ( ) Não sabe

#### **BLOCO D: DADOS DE SAÚDE DO ADOLESCENTE**

**23D. O adolescente nasceu prematuro?**

1. ( ) SIM

2. ( ) NÃO

**24D. O adolescente nasceu de quantos meses de gestação?** \_\_\_\_\_

1. ( ) Não se aplica

**25D. O adolescente nasceu de um parto de gêmeos?**

1. ( ) SIM

2. ( ) NÃO

99. ( ) Não sabe

**26D. Qual o tipo de parto que o adolescente nasceu:**

1. ( ) Natural ou normal

2. ( ) Cesário

99. ( ) Não sabe

**27D. Qual a causa da cesária?**

1. ( ) sofrimento fetal = batidas do coração do bebê diminuiu / ou o bebê fez cocô dentro da barriga da mãe

2. ( ) desproporção feto-pélvica = bacia pequena / bebê muito grande

3. ( ) distócia de apresentação = o bebê estava sentado / na posição errada

4. ( ) hemorragia materna = teve sangramento

5. ( ) parada de progressão = parou o trabalho de parto / pararam as dores

6. ( ) eclâmpsia, pré-eclâmpsia = pressão alta

7. ( ) pós-maturidade = passou do tempo

8. ( ) morte fetal = o bebê morreu

9. ( ) diabetes materna = açúcar no sangue

10. ( ) cesáreas anteriores = já fez outra cesárea antes

11. ( ) aqueadura = para ligar trompas

12. ( ) mãe pediu = cesárea porque a mãe queria

13. ( ) médico quis = na hora o médico resolveu fazer cesárea

14. ( ) cesárea programada = médico marcou durante a gravidez

15. ( ) cirurgias ginecológicas anteriores = miomectomia, plástica perineal

16. ( ) outro \_\_\_\_\_

88. ( ) não se aplica  
 99. ( ) não sabe

**28D. Você MÃE ou Alguém NA FAMÍLIA DO ADOLESCENTE como pai, avô ou avó do adolescente TEM alguma dessas doenças?**

1. ( ) Sim, Pressão alta. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 2. ( ) Sim, Diabetes . **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 3. ( ) Sim, Obesidade. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 4. ( ) Sim, Nefropatias – doenças renais (doença nos rins). **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 5. ( ) Sim, Câncer. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 6. ( ) Sim, Problemas de coração (infarto, derrame). **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 7. ( ) Sim, Problemas respiratórios (asma, rinite alérgica, pneumonia, bronquite crônica). **Quem?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 88. ( ) Não. Nenhuma pessoa apresenta estas doenças.  
 99. ( ) Não sabe

**29D. . Você MÃE ou Alguém NA FAMÍLIA DO ADOLESCENTE como pai, avô ou avó do adolescente JÁ FALECEU em função de alguma dessas doenças?**

1. ( ) Sim, Pressão alta. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 2. ( ) Sim, Diabetes . **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 3. ( ) Sim, Nefropatias – doenças renais (doenças nos rins). **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 4. ( ) Sim, Câncer. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 5. ( ) Sim, Problemas de coração (infarto, derrame). **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 6. ( ) Sim, Problemas respiratórios. **QUEM?** Pai, mãe, avô ou avó do adolescente? \_\_\_\_\_  
 88. ( ) Não. Nenhuma pessoa faleceu por causa destas doenças.  
 99. ( ) Não sabe

**PARA RESPONDER AS QUESTÕES 31D, 32D, 33D E 34D, CONSULTE A CADERNETA DE SAÚDE DA CRIANÇA**

31D. Qual foi o peso do adolescente ao nascer? \_\_\_\_\_

32D. Qual foi o comprimento do adolescente ao nascer? \_\_\_\_\_ cm

**IMPORTANTE**

**34D.** O adolescente se alimentou **EXCLUSIVAMENTE** de leite materno (somente leite do peito, sem ter contato com qualquer outro tipo de alimento) até quantos meses? \_\_\_\_\_ meses

99. ( ) Não lembra

**35D.** Quando o adolescente começou a comer/beber **OUTROS** alimentos além do leite materno (leite do peito)? \_\_\_\_\_ meses      99. ( ) Não lembra

**36D.** Quais foram estes alimentos?

1. ( ) leite de vaca em pó infantil  
 2. ( ) leite de vaca em pó comum  
 3. ( ) leite de vaca líquido  
 4. ( ) mingau (leite + farinha)  
 5. ( ) sucos  
 6. ( ) frutas  
 7. ( ) sopa de legumes (papa salgada)  
 8. ( ) sopa de legumes com carne ou frango (papa salgada)  
 9. ( ) outros: \_\_\_\_\_

*O Grupo de Pesquisa AdolesCER agradece a sua participação. Sua colaboração foi de extrema importância para o estudo.*

APÊNDICE B - Ficha de exame periodontal

Nº

DATA DE COLETA

DATA DE NASCIMENTO

IDADE APROX. EM ANOS

ESCOLA:

TURMA:

TURNO:

NOME

| DENTE | E | IR-H    |         |         |         |         |         | PROFUNDIDADE DE SONDAGEM |         |         |         |         |         | INDICE DE SANGRAMENTO |         |         |         |         |         | NIC     |         |         |         |         |         | IP |   |   |   | DENTE |
|-------|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----|---|---|---|-------|
|       |   | Disto-v | Médio-v | Mésio-v | Disto-l | Médio-l | Mésio-l | Disto-v                  | Médio-v | Mésio-v | Disto-l | Médio-l | Mésio-l | Disto-v               | Médio-v | Mésio-v | Disto-l | Médio-l | Mésio-l | Disto-v | Médio-v | Mésio-v | Disto-l | Médio-l | Mésio-l | V  | L | M | D |       |
| 17    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 17    |
| 16    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 16    |
| 15    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 15    |
| 14    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 14    |
| 13    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 13    |
| 12    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 12    |
| 11    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 11    |
| 21    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 21    |
| 22    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 22    |
| 23    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 23    |
| 24    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 24    |
| 25    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 25    |
| 26    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 26    |
| 27    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 27    |
| 37    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 37    |
| 36    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 36    |
| 35    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 35    |
| 34    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 34    |
| 33    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 33    |
| 32    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 32    |
| 31    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 31    |
| 41    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 41    |
| 42    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 42    |
| 43    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 43    |
| 44    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 44    |
| 45    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 45    |
| 46    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 46    |
| 47    |   |         |         |         |         |         |         |                          |         |         |         |         |         |                       |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |    |   |   |   | 47    |

Nomenclatura dentaria segundo o sistema FDI    IP- índice de placa [0 (ausente), 1 (presente)]  
Nota- a aproximação da idade segue o seguinte critério (até seis meses aproxima para a idade anterior, acima de 6 meses aproxima para idade seguinte)  
E- existência de dentes (x= presente)  
IR-H- índice de recessão (+) ou hiperplasia (-) (mm)  
Índice de Sangramento- 0 (ausente), 1 (presente)  
NIC- nível de inserção clínica (mm)

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado (a) Senhor(a),

Seu filho (a) está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), da pesquisa cujo título segue:

**DOENÇA PERIODONTAL EM ADOLESCENTES E O RISCO ÀS DOENÇAS  
CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS**

A pesquisa tem como objetivo avaliar se existe alguma relação entre as condições nutricionais e/ou inflamatórias do organismo e a inflamação da gengiva nos adolescentes.

Após a leitura deste documento e se estiver claro sobre tudo que foi lido e caso você concorde em participar, por favor, rubricar todas as folhas e assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar sua autorização. Sua recusa ou desistência em qualquer momento da pesquisa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Concordando em participar da pesquisa, você responderá a um questionário sobre seu filho (a), e em seguida, ele (a) será submetido a um exame odontológico, onde será avaliada a sua condição bucal; serão realizados exames de sangue e da saliva para o conhecimento das condições inflamatórias do organismo do seu filho; além disso, serão obtidos os dados de peso, altura, dobra cutânea, circunferência abdominal, diâmetro sagital, pressão arterial e Índice de Massa Corporal (IMC); e por fim, o adolescente será examinado em relação a práticas de atividade física e saúde nutricional.

As avaliações serão realizadas por profissionais de comprovada competência e todos os materiais utilizados serão descartáveis e os instrumentais devidamente esterilizados de

forma a minimizar ao máximo qualquer risco ao seu filho (a). A condição bucal de seu filho (a), coleta de saliva, avaliação nutricional, os dados de peso, altura, dobra cutânea, circunferência abdominal, diâmetro sagital, pressão arterial e Índice de Massa Corporal (IMC) serão avaliados por equipe composta por cirurgiões-dentistas e nutricionistas. Todas as atividades serão realizadas no local em que seu filho (a) estuda. Assim, a pesquisa não afetará em nada o seu filho (a) na escola, e se de alguma forma a pesquisa o/a prejudicar, você pode entrar em contato com algum dos pesquisadores, assim como para informar qualquer incômodo, desconforto ou dúvidas que o adolescente ou o (a) senhor (a) responsável possam ter.

A coleta de sangue será realizada em laboratório de análises clínicas com reconhecido padrão de qualidade em São Luís - MA (Laboratório Gaspar) com análise do hemograma completo, lipidograma, glicemia e insulina em jejum. Havendo necessidade, será disponibilizado um (a) técnico (a) em enfermagem para a realização das coletas de sangue na própria escola ou em uma unidade do Laboratório Gaspar. Os exames serão agendados pelos pesquisadores e SEM custos aos pais e responsáveis.

Os pais receberão cópia dos resultados de todos os exames realizados no adolescente, com respectivos valores de referência. A equipe de profissionais estará à disposição para quaisquer esclarecimentos (s) que possa (m) vir a existir. Todas as avaliações serão realizadas por profissionais de comprovada competência e todos os materiais utilizados serão descartáveis e os instrumentais devidamente esterilizados de forma a minimizar ao máximo qualquer risco ao seu filho (a). Ainda assim, serão consideradas as individualidades de cada voluntário e, se algum desconforto ocorrer com seu filho, seja no exame bucal ou na coleta de sangue, ele poderá nos informar, de forma que se possa resolver da melhor maneira possível essa situação, até que seja garantido o conforto e a segurança do adolescente.

A participação do seu filho na pesquisa lhe beneficiará com o conhecimento sobre a saúde do mesmo, de forma que, se alguma alteração bucal estiver presente, ele será

encaminhado para a assistência odontológica nas Clínicas da UFMA e lá ele terá a oportunidade de receber instruções importantes na prevenção da doença cárie e da inflamação da gengiva (gengivite), dadas por dentistas ou estudantes de Odontologia que estarão à disposição para quaisquer esclarecimentos sobre dúvida (s) que possa (m) vir a existir durante ou após o encerramento ou interrupção da pesquisa.

Caso o adolescente manifeste alterações no peso, na altura e/ou nos exames sanguíneos e salivares, esses serão encaminhados para avaliação e tratamento médico, após sua autorização. Além disso, ele (a) será avaliado (a) por uma nutricionista, recebendo aconselhamento nutricional, quando necessário.

Somos responsáveis em não divulgar qualquer dado que identifique o(s) adolescente(s), como dados pessoais tais como Nome, RG ou CPF, e o material biológico coletado (sangue e a saliva) será usado exclusivamente para o fim a que esta pesquisa se destina. Somente a equipe de pesquisa saberá da sua participação nesse projeto, a menos que você conte ou informe a alguém.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço dos pesquisadores envolvidos, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação em qualquer momento da pesquisa. Segue ainda o endereço do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA, órgão institucional responsável pela aprovação desta pesquisa e que tem por objetivo proteger o bem-estar dos indivíduos pesquisados.

**Pesquisador responsável:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. CECÍLIA CLÁUDIA COSTA RIBEIRO  
Endereço: Campus do Bacanga s/n Prédio de Odontologia, Programa de Pós-Graduação. São Luís - MA. Fone: 3272-9507.

**Pesquisador assistente:** CADIDJA DAYANE S. DO CARMO. Endereço: Campus do Bacanga s/n Prédio de Odontologia, Programa de Pós-Graduação. São Luís- MA. Fone: 98864- 1524 ou 98151-7658.

**Comitê de Ética em Pesquisa/UFMA.** Endereço: Avenida dos Portugueses s/n, Campus Universitário do Bacanga, Prédio do CEB Velho PPPG, Bloco C Sala 07, e-mail para correspondência cepufma@ufma.br. Fone: 3272-8708. Caso o (a) Senhor (a) ACEITE a participação de seu filho (a) e ELE (A) TAMBÉM TENHA INTERESSE EM PARTICIPAR, por favor, ASSINEM abaixo:

Assinatura do (a) Responsável

Telefone: \_\_\_\_\_

Assinatura do (a) filho (a)

RG: \_\_\_\_\_

CPF: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

## ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
MARANHÃO/MA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ADOLESCENTES COM AGRAVOS BUCAIS ESTÃO COM MARCADORES DE RISCO ÀS DOENÇAS CRÔNICAS ALTERADOS?

**Pesquisador:** Cecilia Claudia Costa Ribeiro

**Área Temática:** Versão: 2

**CAAE:** 12498713.8.0000.5087

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Maranhão

**Patrocinador Principal:** CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

**DADOS DO PARECER**

Número do Parecer: 441.226

Data da Relatoria: 30/09/2013

**Apresentação do Projeto:**

O presente estudo será uma investigação epidemiológica observacional do tipo transversal. Para compor a amostra serão selecionados adolescentes na faixa etária entre 15 anos a 19 anos de idade. Cálculo Amostral Utilizando-se o software Epi-Info, versão 6.0, estimou-se que uma amostra de 400 adolescentes teria poder de 80% para detectar razões de prevalência (RP) significativas para os desfechos a serem estudados. A amostragem com estratificação por faixa etária e com sorteio aleatório simples dos sujeitos da pesquisa. Coleta de dados Inicialmente, com auxílio dos pais ou responsáveis, será respondido um questionário

padronizado para coleta de dados: demográficos, socioeconômicos, história médica, história odontológica e acesso a fluoretos. As variáveis de desfechos serão: cárie dentária, presença de infecção endodôntica, perda dentária e doença periodontal. Como

variáveis independentes serão avaliadas seguintes parâmetros sanguíneos: os marcadores inflamatórios (interleucina 1, proteína C-reativa, fator de crescimento tumoral-TFN e homocisteína), e marcadores nutricionais (glicemia em jejum, hemoglobina glicada, lipidograma, hemograma completo. Como variável explanatória também será aferida a pressão sistólica e diastólica.

### **Objetivo da Pesquisa:**

#### **Objetivo Primário:**

Avaliar se existe associação entre marcadores nutricionais e/ou inflamatórios e os desfechos cárie dentária, perda dentária, infecção dentária e doença periodontal em adolescentes.

### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

#### **Riscos:**

Os voluntários serão submetidos a avaliação clínica dos parâmetros nutricionais não concebendo quaisquer desconfortos ao mesmos. Todos os procedimentos de exames odontológicos e testes salivares não geram incômodo aos sujeitos, seguindo todas as normas de biossegurança, com a utilização de materiais descartáveis e instrumentais estéreis. Os exames de sangue serão realizados em laboratório com reconhecido padrão de qualidade por órgãos competentes.

#### **Benefícios:**

Os voluntários terão conhecimento da sua saúde bucal e sistêmica, sendo advertidos quando alguma alteração estiver presente. Nesses casos estará garantido o seu encaminhamento para a assistência odontológica nas Clínicas da UFMA. Os pacientes serão avaliados por dois bolsistas do Curso de Nutrição da UFMA, recebendo aconselhamento nutricional, quando necessário e, os casos de alterações nos parâmetros clínicos ou laboratoriais terão encaminhamento médico. O conhecimento que adolescentes com agravos bucais já estariam marcadores nutricionais e inflamatórios alterados, pode representar um novo conhecimento na prevenção das doenças crônicas não transmissíveis. Essa visão está alinhada com o Programa de Saúde Oral da Organização Mundial de Saúde, que preconiza estratégias em saúde pública para prevenção das doenças.

### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante seguindo a Resolução N°196/96 versão 2012 em seu Artigo III.3 - As pesquisas, em qualquer área do conhecimento envolvendo seres humanos, deverão observar as seguintes exigências: a) ser adequada aos princípios científicos que a justifiquem e com possibilidades concretas de responder a incertezas; b) estar fundamentada em fatos científicos, experimentação prévia e ou pressupostos adequados à área específica da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi anexado O TERMO DE ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO - Processo: 403315/2012-3

Titulo do Projeto: AGRAVOS BUCAIS EM ADOLESCENTES ESTÃO ASSOCIADOS AOS MARCADORES DE RISCO ÀS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSIVEIS?

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

Foi anexado O TERMO DE ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO - Processo: 403315/2012-3

Titulo do Projeto: AGRAVOS BUCAIS EM ADOLESCENTES ESTÃO ASSOCIADOS AOS MARCADORES DE RISCO ÀS DOENÇAS CRÔNICAS NÃO-TRANSMISSIVEIS?

**Recomendações:**

Todas as recomendações foram atendidas e adequadas.

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

Todas as pendências foram corrigidas e estão adequadas as resoluções de ética em pesquisa.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**SAO LUIS, 30 de Outubro de 2013.**

**Assinador por: FRANCISCO NAVARRO**

**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

**Bairro:** Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética

**CEP:** 65.080-040

**UF:** MA

**Município:** SAO LUIS

**(98)3272-8708**

**Fax:** (98)3272-8708

**E-mail:** cepufma@ufma.br

## ANEXO B – Diretrizes para publicação no Periódico 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

The Springer Author Academy is a set of comprehensive online training pages mainly geared towards first-time authors. At this point, more than 50 pages offer advice to authors on how to write and publish a journal article.

- 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, 182 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* 341:325–329
- 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

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.
- 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.
- 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), .wrl (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

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
- Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.
  - English language tutorial
  - Nature Research Editing Service
  - American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

#### 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.

### 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

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

#### Benefits:

- Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.
- Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average\*.
- Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for more information.

\*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

- Open Choice
- Funding and Support pages

#### 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.

## ANEXO C – Diretrizes para publicação no Periódico Journal of Clinical Periodontology

### Author Guidelines

Content of Author Guidelines: 1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Manuscript Submission Procedure, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance

Relevant Document: Sample Manuscript

Useful Websites: Submission Site, Articles published in Journal of Clinical Periodontology, Author Services, Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

#### 1. GENERAL

Journal of Clinical Periodontology publishes original contributions of high scientific merit in the fields of periodontology and implant dentistry. Its scope encompasses the physiology and pathology of the periodontium, the tissue integration of dental implants, the biology and the modulation of periodontal and alveolar bone healing and regeneration, diagnosis, epidemiology, prevention and therapy of periodontal disease, the clinical aspects of tooth replacement with dental implants, and the comprehensive rehabilitation of the periodontal patient. Review articles by experts on new developments in basic and applied periodontal science and associated dental disciplines, advances in periodontal or implant techniques and procedures, and case reports which illustrate important new information are also welcome.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in Journal of Clinical Periodontology. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell's Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

#### 2. ETHICAL GUIDELINES

Journal of Clinical Periodontology adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

##### 2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

Journal of Clinical Periodontology adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Please note that it is a requirement to include email addresses for all co-authors at submission. If any of the email-addresses supplied are incorrect the corresponding author will be contacted by the journal administrator.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

## 2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

## 2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

## 2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

## 2.5 Conflict of Interest and Source of Funding

Journal of Oral Rehabilitation requires that all authors (both the corresponding author and co-authors) disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship,

financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or indirectly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include but are not limited to patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. If authors are unsure whether a past or present affiliation or relationship should be disclosed in the manuscript, please contact the editorial office at [cpeedoffice@wiley.com](mailto:cpeedoffice@wiley.com). The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal.

The above policies are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org/>). It is the responsibility of the corresponding author to have all authors of a manuscript fill out a conflict of interest disclosure form, and to upload all forms together with the manuscript on submission. The disclosure statement should be included under Acknowledgements. Please find the form below:

#### Conflict of Interest Disclosure Form

#### 2.6 Appeal of Decision

Under exception circumstances, authors may appeal the editorial decision. Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by e-mailing the editorial office at [atcpeedoffice@wiley.com](mailto:atcpeedoffice@wiley.com) with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision.

Please note that all revisions and resubmissions of papers should also include a separate rebuttal and a tracked changes document to assist in peer review.

#### 2.7 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

### 3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available on the submission site. Further assistance can be obtained from the Senior Editorial Office Assistant, Kim Harris, at [cpeedoffice@wiley.com](mailto:cpeedoffice@wiley.com).

Please note that all revisions and resubmissions of papers should also include a separate rebuttal and a tracked changes document to assist in peer review.

#### 3.1. Manuscript Files Accepted

Main manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected). The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, clinical reference, main text, references, acknowledgement, statement of source of funding and any potential conflict of interest, tables, and figure legends, but no embedded figures. In

the text, please reference any figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc. to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded.

Figure files should be uploaded separately to the main text. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing.

Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

Please ensure that ALL items (figures and tables) are cited in the main text.

### 3.2. Blinded Review

All manuscripts submitted to Journal of Clinical Periodontology will be reviewed by two or more experts in the field. Papers that do not conform to the general aims and scope of the journal will, however, be returned immediately without review. Journal of Clinical Periodontology uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

### 3.3. Suggest a Reviewer

Journal of Clinical Periodontology attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the name and current email address of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the editor will choose one or two reviewers as well.

### 3.4. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

### 3.5. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

### 3.6 Resubmissions

If your manuscript was given the decision of reject and resubmit, you might choose to submit an amended version of your manuscript. This should be submitted as a new submission following the guidelines above under 3.2. In addition you should upload comments to the previous review as “supplementary files for review”.

## 4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Journal of Clinical Periodontology publishes original research articles, reviews, clinical innovation reports and case reports. The latter will be published only if they provide new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician. It is expected that any manuscript submitted represents unpublished original research.

Original Research Articles must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if

necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

Clinical Innovation Reports are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

Case Reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

## 5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

### 5.1. Format

**Language:** The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. It is preferred that manuscript is professionally edited. Please refer to English Language Editing Services offered by Wiley at <http://wileyeditingservices.com/en/>. Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

**Abbreviations, Symbols and Nomenclature:** Journal of Clinical Periodontology adheres to the conventions outlined in *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors*. Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used.

### 5.2. Structure

All articles submitted to Journal of Clinical Periodontology should include:

- Title Page
- Conflict of Interest and Source of Funding
- Clinical Relevance
- Abstract
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion

- References
- Tables (where appropriate)
- Figure Legends (where appropriate)
- Figures (where appropriate and uploaded as separate files)

All manuscripts should emphasize clarity and brevity. Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and be clearly explained where its use is unavoidable.

**Title Page:** The title must be concise and contain no more than 100 characters including spaces. The title page should include a running title of no more than 40 characters; 5-10 key words, complete names of institutions for each author, and the name, address, telephone number, fax number and e-mail address for the corresponding author.

**Conflict of Interest and Source of Funding:** Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Source of Funding Statement".

See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's Editorial on Conflict of Interest and Source of Funding and [www.icmje.org/#conflicts](http://www.icmje.org/#conflicts) for generally accepted definitions.

**Abstract:** is limited to 200 words in length and should not contain abbreviations or references. The abstract should be organized according to the content of the paper.

For Original Research Articles the abstract should be organized with aim, materials and methods, results and conclusions.

For clinical trials, it is encouraged that the abstract finish with the clinical trial registration number on a free public database such as [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov).

**Clinical Relevance:** This section is aimed at giving clinicians a reading light to put the present research in perspective. It should be no more than 100 words and should not be a repetition of the abstract. It should provide a clear and concise explanation of the rationale for the study, of what was known before and of how the present results advance knowledge of this field. If appropriate, it may also contain suggestions for clinical practice.

It should be structured with the following headings: scientific rationale for study, principal findings, and practical implications.

Authors should pay particular attention to this text as it will be published in a highlighted box within their manuscript; ideally, reading this section should leave clinicians wishing to learn more about the topic and encourage them to read the full article.

**Acknowledgements:** Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

### 5.3. Original Research Articles

These must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original

articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field.

The word limit for original research articles is 3500 words, and up to 7 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

Main Text of Original Research Articles should be organized with

- Introduction,
- Materials and Methods,
- Results and Discussion.
- References (Harvard, see section 5.7)

The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Please see Sample Manuscript.

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation.

Material and Methods: must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This includes antibodies and the constructs used to make transgenic animals, although not the animals themselves.

(a) Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A CONSORT checklist should also be included in the submission material. If your study is a randomized clinical trial, you will need to fill in all sections of the CONSORT Checklist. If your study is not a randomized trial, not all sections of the checklist might apply to your manuscript, in which case you simply fill in N/A.

Journal of Clinical Periodontology encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

(b) Statistical Analysis: As papers frequently provide insufficient detail as to the performed statistical analyses, please describe with adequate detail. For clinical trials intention to treat analyses are encouraged (the reasons for choosing other types of analysis should be highlighted in the submission letter and clarified in the manuscript).

(c) DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations: Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

(d) Experimental Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding

and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

**Results:** should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations.

**Discussion:** may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The discussion section should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

The discussion may usefully be structured with the following points in mind (modified from the proposal by Richard Horton (2002), *The Hidden Research Paper*, *The Journal of the American Medical Association*, 287, 2775-2778). Not all points will apply to all studies and its use is optional, but we believe it will improve the discussion section to keep these points in mind.

#### Summary of key finding

- \* Primary outcome measure(s)
- \* Secondary outcome measure(s)
- \* Results as they relate to a prior hypothesis

#### Strengths and Limitations of the Study

- \* Study Question
- \* Study Design
- \* Data Collection
- \* Analysis
- \* Interpretation
- \* Possible effects of bias on outcomes

#### Interpretation and Implications in the Context of the Totality of Evidence

- \* Is there a systematic review to refer to?
- \* If not, could one be reasonably done here and now?
- \* What this study adds to the available evidence
- \* Effects on patient care and health policy
- \* Possible mechanisms

#### Controversies Raised by This Study Future Research Directions

- \* For this particular research collaboration
- \* Underlying mechanisms

\* Clinical research

#### 5.4. Clinical Innovation Reports

These are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

The word limit for clinical innovation reports is 3000 words, and up to 12 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

The main text of Clinical Innovation Reports should be organized with

- Introduction,
- Clinical Innovation Report,
- Discussion and Conclusion
- References (Harvard, see section 5.7)

#### 5.5. Case Reports

Case reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

The main text of Case Reports should be organized with

- Introduction,
- Case report,
- Discussion and Conclusion
- References (see section 5.7)

#### 5.6. Reviews

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

The word limit for reviews is 4000 words.

The main text of Reviews should be organized with

- Introduction,
- Review of Current Literature,
- Discussion and Conclusion
- References (Harvard, see section 5.7)

#### 5.7. References

It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

#### Reference style (Harvard):

References in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Brown & Smith 1966). Three or more authors should always be referred to as, for example, Brown et al. 1966.

A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Biological and Medical Editors and Authors*, (1975), p. 36. London: The Royal Society of Medicine.

- a) The arrangement of the references should be alphabetical by first author's surname.
- b) The order of the items in each reference should be:
  - (i) for journal references: name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.
  - (ii) for book references: name(s) of author(s), year, chapter title, title of book in italics, edition, volume, page number(s), town of publication, publisher.
- c) Authors' names should be arranged thus: Smith, A. B., Jones, D. E. & Robinson, F. C. Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Authors' names when repeated in the next reference are always spelled out in full.
- d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1967).
- e) The title of the paper should be included without quotation marks.
- f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining in typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript) and page numbers.

Examples: Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* 10, 820-828. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00565.x

Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring, K. (2003) *Periodontology and Implant Dentistry*. 4th edition, p. 1014, Oxford. Blackwell Munksgaard.

Bodansky, O. (1960) Enzymes in tumour growth with special reference to serum enzymes in cancer. In *Enzymes in Health and Disease*, eds. Greenberg, D. & Harper, H. A., pp. 269-278. Springfield: Thomas.

URL: Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text. Example: Smith A. (1999) Select Committee Report into Social Care in the Community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report0394498.html> [accessed on 7 November 2003]

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting. Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Please note that all unpublished papers (submitted or in press) included in the reference list should be provided in a digital version at submission. The unpublished paper should be uploaded as a supplementary file for review.

#### 5.8. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Each copy should be marked with the figure number and the corresponding author's name. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible.

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size. Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by thin spaces (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

#### Preparation of Electronic Figures for Publication

Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Detailed information on our digital illustration standards can be found at <http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/echecklist.asp>.

#### Guidelines for Cover Submission

If you would like to send suggestions for artwork related to your manuscript to be considered to appear on the cover of the journal, please follow these guidelines.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

Figure Legends: should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

### 5.9. Supplementary Material

Supplementary material, such as data sets or additional figures or tables that will not be published in the print edition of the Journal but which will be viewable in the online edition, can be uploaded as 'Supporting information for review and online publication only'.

Please see <http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/suppmat.asp> for further information on the submission of Supplementary Materials.

## 6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

### 6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: [www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html](http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html). This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

### 6.2 Early View (Publication Prior to Print)

The Journal of Clinical Periodontology is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

### 6.3 Production Tracking

Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with Wiley-Blackwell's Author Services.



[http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/faqs\\_copyright.asp](http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/faqs_copyright.asp) and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>. If you select the Online Open option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant selfarchiving policy please visit: <http://www.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/go/funderstatement>.

For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this license:

Creative Commons Attribution License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services [http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/faqs\\_copyright.asp](http://authorservices.wiley.com.ez14.periodicos.capes.gov.br/bauthor/faqs_copyright.asp) and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>. Subsequently the final copyedited and proofed articles will appear either as Early View articles in a matter of weeks or in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will automatically be updated.