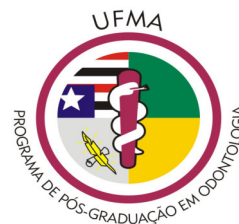


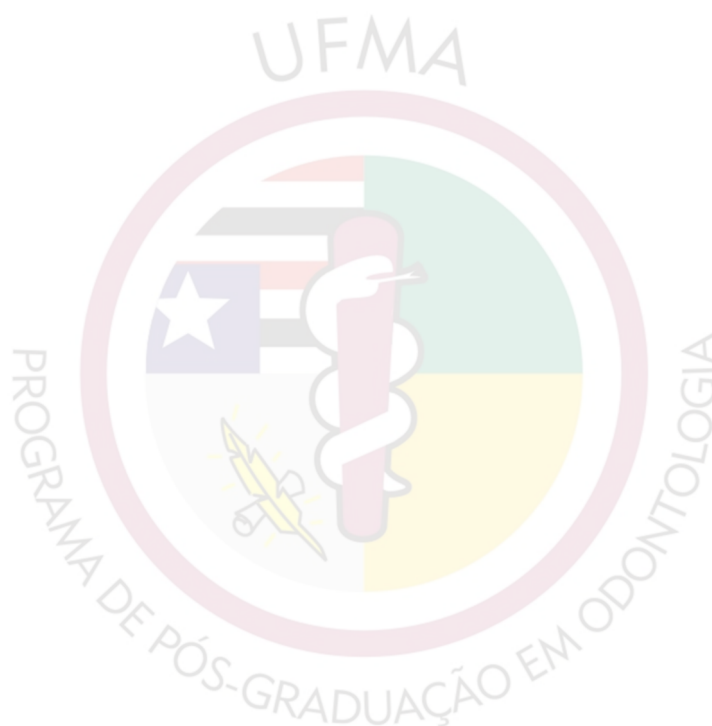


UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO



MONIQUE MARIA MELO MOUCHREK

**PARÂMETROS METABÓLICOS,
PERIODONTAIS E NÍVEIS DE
CITOCINAS EM FLUIDO CREVICULAR
GENGIVAL DE INDIVÍDUOS COM
SÍNDROME DE DOWN**



São Luís

2020

MONIQUE MARIA MELO MOUCHREK

**PARÂMETROS METABÓLICOS, PERIODONTAIS E NÍVEIS DE CITOCINAS EM
FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL DE INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DE
DOWN**

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

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Mouchrek, Monique Maria Melo.

Parâmetros metabólicos, periodontais e níveis de citocinas em fluido crevicular gengival de indivíduos com Síndrome de Down / Monique Maria Melo Mouchrek. - 2020. 98 f.

Orientador(a): Bruno Braga Benatti.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do Maranhão, 2020.

1. Citocinas. 2. Doenças periodontais. 3. Fluido crevicular gengival. 4. Síndrome de Down. 5. Síndrome metabólica. I. Benatti, Bruno Braga. II. Título.

MONIQUE MARIA MELO MOUCHREK

**PARÂMETROS METABÓLICOS, PERIODONTAIS E NÍVEIS DE CITOCINAS EM
FLUIDO CREVICULAR GENGIVAL DE INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DE
DOWN**

A Comissão julgadora da defesa do Trabalho Final de Doutorado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 17/07/2020, considerou a candidata:

() APROVADA

() REPROVADA

BANCA EXAMINADORA

- 1) Examinador (a): Cláudia Maria Coelho Alves
- 2) Examinador (a): Pierre Adriano Moreno Neves
- 3) Examinador (a): Bruno César de Vasconcelos Gurgel
- 4) Examinador (a): Patrícia Furtado Gonçalves
- 5) Presidente: Bruno Braga Benatti

Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Maria Coelho Alves

Prof^º. Dr^º. Pierre Adriano Moreno Neves

Prof^º. Dr^º. Bruno César de Vasconcelos Gurgel

Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Furtado Gonçalves

Prof^º. Dr^º Bruno Braga Benatti

Aos meus pais, Lúcia e José Carlos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por plantar em mim a semente de sempre buscar mais conhecimento e alicerce para minha atuação profissional. Por além de plantar essa semente, me fazer querer sempre regá-la, por abrir portas quando possível, janelas quando portas não abrem e me dar esperanças quando não enxergo um palmo à minha frente.

Agradeço a Deus pelos pais que me deu, pelos irmãos que me deu e por cada um com sua parcela, contribuir para o meu crescimento e respeitar minhas escolhas e decisões. À minha mãe e meu pai por nunca me fazerem duvidar da minha capacidade ou reduzir meus sonhos e crenças. Por respeitarem meu espaço e serem presentes do jeito que podem em todos os momentos. Por me inspirarem e me darem a tranquilidade de um porto seguro, fortalecendo minha saúde mental, tão preciosa em momentos de auto desafio e auto conhecimento. Aos meus irmãos Marcella, Renata e João por serem presentes, acreditarem em mim e me darem alegria também pelos meus sobrinhos e afilhadas que tanto amo. À toda minha família por todo apoio sempre.

A Deus, por do seu jeitinho único de encaixar as peças, me dar de presente o Profº Bruno como orientador. Nos permitindo juntar nossas áreas de conhecimento e estudar o que acreditamos ser benéfico para a população escolhida. Ao Profº Bruno por ter sido sempre solícito, sempre ouvidos, sempre encorajador, sempre ampliador de mentes, sempre pensar fora da caixinha, sempre fazer enxergar muito além do que nos cabia, sempre me entregar o seu melhor e tentar ser melhor cada vez mais. Obrigada por ter sido humano, acima de professor, por ter sido apoio, acima de orientador. O nosso super poder, como professor, é ensinar. E o seu além de ensinar odontologia, foi de ensinar a evoluir como pessoa. E isso, acima de uma titulação, é pra vida. Toda minha gratidão.

A Deus por me presentear com as amigas-irmãs Arethusa e Amanda que são pedaços de mim e percorrerem meu caminho nessa vida junto comigo. Esteja ele bom ou ruim. Esteja eu certa ou errada, representam o ponto de equilíbrio para extravasar a alegria ou a agonia. Às minhas amigas-irmãs Elanie e Déborah que me apoiam incondicionalmente, que são afago para o meu coração e que me inspiram.

A Deus por me agraciar com amigos que acompanharam a minha dedicação aos estudos desde o início e toleraram minhas ausências em vários momentos e fizeram parte desse processo. Rouse, Raw, Neusa, Jack, Plix e Lulu por terem sempre representado a alegria nesse caminho, o esquecimento das preocupações, a dedicação aos projetos da felicidade.

A Deus, por colocar nessa trilha o Geo, que representou durante todo esse tempo o lado bom do caminho, sendo apoio, sendo boa energia, sendo renovação de forças, sendo fonte para relembrar que era possível, sendo fonte removedora de qualquer dúvida, sendo o espairecer da mente, sendo o termômetro de novos aprendizados e novos desafios.

A Deus, por me colocar mais uma vez na UFMA, no Programa de Pós-Graduação em Odontologia. À Prof^a. Cecilia Ribeiro e Prof^a Cláudia Alves que me inspiraram e encorajaram nessa caminhada, além dos ensinamentos transmitidos e contribuição de forma direta ou indireta para o desenvolvimento deste estudo. Às Prof^{as} Adriana Vasconcelos e Ivone Santana que tive o prazer de receber mais uma vez os ensinamentos, palavras e abraços de afeto. Às Prof^{as} Ana Margarida e Luciana Almeida pela grande contribuição nas primeiras avaliações deste estudo e palavras de incentivo. A todos os professores do Programa, pelos conhecimentos transmitidos. Aos Técnicos do Laboratório de Bioquímica do Curso de Odontologia,IVALDO e Thaís, por toda ajuda na execução das fases laboratoriais e companhia. Às secretárias do Programa, Josy e Mayara, pelo apoio e ajuda em vários momentos no programa. À Alba e Seu Neves por transmitirem boa energia e ótima companhia em nossos momentos de pesquisa em clínica e estágio. À Professora Ana e sua aluna Mirtes, da Imunologia, por serem tão solícitas e contribuírem com a tese em sua fase final.

A Deus, pela professora Sueli, que aceitou embarcar nesse desafio e estudo com a nossa equipe, com toda sua competência, compromisso e seus alunos dedicados e engajados no alinhamento do nosso objetivo. A todos os meus colegas Mayra Moura, Leslie Alves, Kerry Alyne e Vandilson Rodrigues, por formarem a equipe executora deste estudo com muito zelo e contribuição. À Mayra, em especial, por estar sempre disposta a ajudar e não economizar em transmitir seus conhecimentos e por ter sido uma verdadeira companheira do início ao fim.

A Deus, por permitir o trabalho com pacientes especiais, familiares envolvidos e pacientes interessados que aceitaram participar da pesquisa, que contribuíram e se comprometeram em cada fase desta. A todos os participantes toda a minha gratidão.

A Deus, por ser a Isabel, a diretora da APAE. Por ser tão facilitadora e estimuladora de tudo que envolva uma perspectiva de melhoria para as pessoas com deficiência. Muito obrigada por essa doação de humanização e disposição para tornar um mundo melhor.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA, pelo financiamento da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de Doutorado Sanduíche concedida pelo Programa PROCAD-AMAZONIA.

To God, for making me find friends in Gainesville, Florida and at University of Florida, where I had the pleasure to meet not only people, but great souls, wonderful hearts and incredible minds. To Professor Kesavalu, thank you for everything, for being my mentor and especially for being a father to me in the United States, for giving me knowledge and life lessons. I am extremely grateful for meeting you.

Thank you very much to Professor Poly for being such a strong woman, for being the bridge that allowed me to live this incredible experience and for all your contribution to this study. To Professor Mugayar, thank you for welcoming me so kindly in your clinic for patients with special needs, for letting me follow your steps, for your friendship and lovely company.

To my labmates who inspire me: Aravind, Vijay, Preethi, Veena and Toru. I loved to meet you. Thank you for being role models of professionalism, dedication and discipline. I have learned a lot with you. Thank you for all the kindness, affection and for treating me like family.

To God, for putting Janine in my way, who taught me to be an independent woman in the USA, who was my sister partner there and is my new sister for life now. I am very grateful to you and very happy that God has put you and all your good energy and determination into my life. To the great and spectacular friends Bárbara, Paulo, Juliano, Augusto, Hélio and Mirela. For helping me, guiding me, following me, encouraging me in everything I needed, for friendship and for all the support. I have no words to describe my moments with you and live everything we lived.

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

*“Pois a sabedoria é melhor do que as joias, e
tudo o que é desejável não se compara com ela”.*

Provérbios 8,11.

RESUMO

A doença periodontal (DP) é uma alteração crônica inflamatória e infecciosa da gengiva e dos tecidos de suporte dos dentes. A persistência do biofilme microbiano em íntima proximidade com os tecidos periodontais induz um estímulo antigênico que ativa os mediadores inflamatórios do hospedeiro, os quais, como as citocinas, têm sido associados à destruição do tecido e reabsorção óssea. A progressão da DP não é apenas induzida por estes agentes microbianos, é também dependente da resposta do hospedeiro e alguns indivíduos podem apresentar uma resposta imunológica alterada, como os indivíduos com Síndrome de Down (SD), que apresentam uma alta prevalência de DP. Nesse contexto, indivíduos com SD, por apresentarem comorbidades provenientes da síndrome, as quais se tornaram mais frequentes com o aumento de expectativa de vida dessa população, podem apresentar condição metabólica e resposta imuno-inflamatória comprometida contribuindo para o acometimento de doenças bucais, envolvendo a doença periodontal e a perda de dentes. Dessa forma, o Capítulo I desta tese, intitulado: Relação entre os parâmetros metabólicos e periodontais em indivíduos com Síndrome de Down, investigou a relação entre indicadores de condição metabólica (medidas antropométricas, pressão arterial e marcadores séricos) e parâmetros periodontais em indivíduos com Síndrome de Down. Este é um estudo transversal, realizado com 49 indivíduos com SD. Os voluntários foram submetidos ao exame periodontal para medir a profundidade de sondagem (PS), o nível de inserção clínica (NIC), o índice de sangramento gengival (ISG) e o índice de placa visível (IPV). A periodontite foi classificada como leve, moderada ou severa. A condição metabólica dos participantes foi determinada pela análise dos parâmetros antropométricos: índice de massa corpórea, circunferência de cintura, do braço e muscular do braço, prega cutânea tricipital, perímetro de quadril e cintura e medição da pressão arterial. Também foi realizada a coleta de sangue para dosagem de marcadores séricos. Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e pelo coeficiente de correlação de Spearman. A periodontite moderada ou grave foi detectada em 63,3% da amostra, com altos valores de IPV ($54,6 \pm 35,8$) e ISG ($42,4 \pm 33,3$). Níveis mais altos de hemoglobina corpuscular média (HCM) e menor volume corpuscular médio (VCM) foram detectados em indivíduos com periodontite moderada ou grave ($P < 0,001$). As medidas da circunferência do braço e os níveis de colesterol HDL foram inversamente correlacionados com algumas variáveis periodontais. Além disso, os níveis de hemoglobina foram diretamente correlacionados com a porcentagem de locais com $NIC \geq 4$ mm. Nossos achados sugerem que os parâmetros periodontais podem estar relacionados a parâmetros metabólicos em indivíduos com SD.

O Capítulo II, intitulado: Níveis de citocinas no fluido crevicular gengival e sua associação com parâmetros periodontais de indivíduos com Síndrome de Down, teve o objetivo de avaliar os níveis das citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α e IFN- γ no fluido crevicular gengival (FCG) de pessoas com SD, em sítios periodontais e analisar sua relação com os parâmetros clínicos periodontais. Trata-se de um estudo de caso-controle, realizado na Universidade Federal do Maranhão, com 48 indivíduos com SD e 32 indivíduos sem síndrome. Os participantes foram submetidos à exame periodontal com mensuração de profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), índice de sangramento gengival (ISG) e índice de placa visível (IPV). Os sítios foram classificados em leve, moderado e severo. Foi realizada a coleta do FCG em todos os sítios leves e, quando presentes, nos sítios moderados e severos, para análise do nível de citocinas. As citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α e IFN- γ foram quantificadas usando o sistema analisador automático Luminex®. Os dados foram analisados pelo teste Shapiro-Wilk para normalidade da distribuição das variáveis contínuas, pelo teste Qui-quadrado ou exato de Fisher para análise comparativa das variáveis categóricas e Mann-Whitney para a análise comparativa das variáveis contínuas entre os grupos de estudo. O grupo com SD apresentou maior gravidade de doença periodontal, com periodontite moderada e grave, respectivamente em 38,8% e 24,5% dos indivíduos, enquanto os controles representaram 28,1% e 12,5% nas mesmas categorias. Além disso, apresentou concentrações estatisticamente mais elevadas de IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4, IL-6 no FCG quando comparado ao grupo controle. Quando avaliadas separadamente de acordo com a PS, observamos uma concentração mais elevada de IFN- γ , IL-17a, IL-1 β e IL-6 em bolsas rasas e de IL-17a, IL-1 β e IL-6 em bolsas profundas nos indivíduos síndrômicos. O grupo com SD mostrou correlação direta significativa da IL-1 β e inversa da IFN- γ e IL-4 com todos os parâmetros periodontais. Pudemos observar que indivíduos com SD possuem maior comprometimento periodontal e maiores níveis de citocinas no FCG, mesmo em sítios com parâmetros clínicos periodontais similares a indivíduos não síndrômicos. Esses dados reforçam o conceito de uma resposta imune alterada e menos efetiva na população com SD frente ao desafio microbiano periodontal.

Palavras-chave: Doenças periodontais; Síndrome de Down; Citocinas; Fluido crevicular gengival; Síndrome metabólica.

ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is a chronic inflammatory and infectious alteration of the gums and supporting tissues of the teeth. The persistence of microbial biofilm in close proximity to periodontal tissues induces an antigenic stimulus that activates the host's inflammatory mediators, which, like cytokines, have been associated with tissue destruction and bone resorption. The progression of PD is not only induced by these microbial agents, it is also dependent on the host's response and some individuals may have an altered immune response, such as individuals with Down Syndrome (DS), who have a high prevalence of PD. In this context, individuals with DS, due to comorbidities resulting from the syndrome, which became more frequent with the increase in life expectancy of this population, may present a metabolic condition and compromised immune-inflammatory response contributing to the onset of oral diseases, involving periodontal disease and tooth loss. Thus, Chapter I of this thesis, Relationship between metabolic and periodontal parameters in individuals with Down Syndrome, investigated the relationship between metabolic condition indicators (anthropometric measurements, blood pressure and serum markers) and periodontal parameters in individuals with Down Syndrome (DS). The cross-sectional study, carried out with 49 individuals with DS. The volunteers underwent periodontal examination to measure the probing depth (PS), the clinical attachment level (CAL), the gingival bleeding index (GBI) and the visible plaque index (VPI). Periodontitis was classified as mild, moderate or severe. The participants' metabolic condition was determined through the analysis of anthropometric parameters: body mass index, waist circumference, arm and arm muscle, tricipital skin fold, hip and waist circumference, blood pressure measurement and blood collection for dosage of serum markers. The data were analyzed using the Mann-Whitney test and Spearman's correlation coefficient. Moderate or severe periodontitis was detected in 63.3% of the sample, with high VPI (54.6 ± 35.8) and GBI (42.4 ± 33.3) values. Higher mean corpuscular hemoglobin (MCH) and lower mean corpuscular volume (MCV) levels were detected in individuals with moderate or severe periodontitis ($P < 0.001$). Arm circumference measurements and HDL cholesterol levels were inversely correlated with some periodontal variables. Moreover, hemoglobin levels were directly correlated with the percentage of sites with $CAL \geq 4$ mm. Our findings suggest that periodontal parameters may be related to markers of metabolic condition in individuals with DS. And Chapter II, Levels of cytokines in the gingival crevicular fluid and its association with periodontal parameters in individuals with Down syndrome. Case-control study, evaluated the levels of cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α and IFN- γ in gingival crevicular fluid

(GCF) of people with Down Syndrome (DS), in periodontal sites and analyzed its relationship with periodontal clinical parameters. A case-control study, carried out at the Federal University of Maranhão, with 48 individuals with DS and 32 individuals without syndrome. Participants underwent periodontal examination with measurement of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), gingival bleeding index (GBI) and visible plaque index (VPI). The sites were classified as mild, moderate and severe. The collection of GCF was performed in all light sites and, when present, in moderate and severe sites, for analysis of the level of cytokines. The cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α and IFN- γ were quantified using the automated Luminex® analyzer system. Data were analyzed using the Shapiro-Wilk test for normal distribution of continuous variables, the Chi-square test or Fisher's exact test for comparative analysis of categorical variables and Mann-Whitney for comparative analysis of continuous variables between study groups. The group with DS presented greater severity of periodontal disease, with moderate and severe periodontitis, respectively in 38.8% and 24.5% of the individuals, while the controls represented 28.1% and 12.5% in the same categories of the group. In addition, it showed statistically higher concentrations of IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4, IL-6 in the GCF when compared to the control group. When evaluated separately according to PD, we observed a higher concentration of IFN- γ , IL-17a, IL-1 β and IL-6 in shallow pockets and of IL-17a, IL-1 β and IL-6 in deep pockets in the syndromic individuals. The DS group showed a significant direct correlation between IL-1 β and an inverse correlation between IFN- γ and IL-14 with all periodontal parameters. We were able to observe that individuals with DS have higher periodontal involvement, which can be partly explained by higher levels of cytokines in the GCF, even in sites with periodontal clinical parameters similar to non-syndromic individuals. These data reinforce the concept of an altered and less effective immune response in this population in the face of the periodontal microbial challenge.

Keywords: Periodontitis; Down syndrome; Metabolic syndrome; Cytokines; Gingival crevicular fluid; Metabolic syndrome.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT	x
1 INTRODUÇÃO	13
2 CAPÍTULO I - Relação entre os parâmetros metabólicos e periodontais em indivíduos com Síndrome de Down.....	18
3 CAPÍTULO II - Níveis de citocinas no fluido crevicular gengival e sua associação com os parâmetros periodontais de indivíduos com Síndrome de Down. Estudo de caso-controle.....	42
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICE A – Questionário sociodemográfico, história médica e odontológica e hábitos de vida	68
APÊNDICE B – Ficha de exame periodontal	71
APÊNDICE C – Ficha de avaliação antropométrica.....	72
APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	74
ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	77
ANEXO B - Diretrizes para publicação no Periódico Journal of Clinical Periodontology.....	81

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doença periodontal

A doença periodontal (DP) é uma alteração crônica inflamatória e infecciosa da gengiva e dos tecidos de suporte dos dentes (ARMITAGE, 2013). O biofilme microbiano, composto principalmente por bactérias colonizadoras da superfície dentária, é o agente etiológico primário da DP (LIMA; LARA, 2013). Pode causar gengivite, que consiste em alterações teciduais confinadas à gengiva e são reversíveis com a remoção do biofilme e melhora da higiene oral, e a periodontite, uma inflamação que se estende mais profundamente aos tecidos conjuntivos subjacentes resultando em destruição dos ligamentos periodontais e reabsorção óssea, porém, grande parte da destruição dos tecidos é irreversível (GOUTOUDI; DIZA; ARVANITIDOU, 2004).

A persistência do biofilme microbiano e a íntima proximidade com os tecidos periodontais, induzem um estímulo antigênico constante (LIMA; LARA, 2013). Os antígenos, lipopolissacarídeos e outros fatores dos microorganismos são estimuladores potentes dos mediadores inflamatórios do hospedeiro. Estes mediadores inflamatórios têm sido associados à destruição do tecido (LIU; LERNER; TENG, 2010) e reabsorção óssea (VASCONCELOS et al., 2016). As citocinas, proteínas solúveis que se ligam a receptores específicos nas células-alvo, iniciam cascatas de sinalização intracelular e desempenham papéis importantes na resposta da fase aguda, que é uma reação de defesa primária do organismo (BECERIK et al., 2012; LIU; LERNER; TENG, 2010). Essa reação é mediada principalmente por citocinas pró-inflamatórias [por exemplo fator de necrose tumoral (TNF- α), interferon gama (IFN- γ), IL-1 β , IL-6, IL-12 e IL-17] e citocinas anti-inflamatórias (por exemplo, IL-4, IL-10 e IL-1 antagonista) (DUARTE et al., 2015).

Considerando que a progressão da DP não é induzida apenas por agentes microbianos, mas também pela interação dos mecanismos de defesa do hospedeiro e por fatores genéticos e ambientais, alguns indivíduos podem apresentar uma resposta imunológica diferenciada à DP, como os indivíduos com síndrome de Down (SD), que têm uma maior prevalência de DP em comparação com outra forma cromossomicamente normal e outros indivíduos com deficiência (TANAKA, M. H. et al., 2015; KHOCHT; JANAL; TURNER, 2010; SAKELLARI; ARAPOSTATHIS; KONSTANTINIDIS, 2005).

1.2 Síndrome de Down e Doença periodontal

A SD é um distúrbio genético resultante de um erro na distribuição cromossômica durante a divisão celular (KORENBERG et al., 1994). Também chamada de Trissomia do 21, foi originalmente descrita em 1866 pelo médico John Langdon Haydon Down como *Mongolian type of idiot* e em 1959 foi descoberta a presença de um cromossomo 21 extra pela equipe do pesquisador Jerome Lejeune. É uma das anormalidades genéticas mais comuns entre os seres humanos (BERMUDEZ et al., 2015) e segundo o último Censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil existem aproximadamente 300 mil pessoas com SD. (IBGE, 2010)

A síndrome traz diversas características intra-orais, como macroglossia, palato ogival, prognatismo, língua fissurada, dentes conóides, agenesias (FRYDMAN; NOWZARI, 2012) e extra orais: anormalidades hematopoiéticas, músculo-esqueléticas, nervosas, anomalias comportamentais (ZIGMOND et al., 2006), dismorfias, deficiência intelectual, cardiopatias congênitas e imunodeficiência. (KHOCHT; JANAL; TURNER, 2010).

A doença periodontal representa um problema de saúde bucal importante nesses pacientes, sendo muito comum e podendo se desenvolver desde cedo (LÓPEZ-PEREZ et al., 2002). Estudos mostram que indivíduos com SD possuem significativamente mais DP do que indivíduos sem SD, assim como, maior média de profundidade de sondagem (AL HABASHNEH et al., 2012; CHENG et al., 2007) e nível de inserção clínica (ZIGMOND et al., 2006).

São várias as tentativas para encontrar a razão para essa alta prevalência de DP nessa população e características imunológicas e metabólicas podem fazer parte desse processo. (CULEBRAS-ATIENZA; SILVESTRE; SILVESTRE-RANGIL, 2018; FRYDMAN; NOWZARI, 2012; MORINUSHI et al., 2006; YOSHIHARA et al., 2005).

Na busca para compreender se a dificuldade de destreza manual do indivíduo com SD, resultante em uma higiene bucal deficiente e acúmulo de biofilme, é a causa principal da DP, estudos compararam indivíduos com SD à indivíduos com deficiência mental (KHOCHT; JANAL; TURNER, 2010) e paralisia cerebral (AL HABASHNEH et al., 2012; SAKELLARI; ARAPOSTATHIS; KONSTANTINIDIS, 2005). Foi observado que embora a higiene oral possa ser deficiente, a quantidade de biofilme bacteriano presente não está relacionada com a gravidade da doença periodontal.

1.2.1 Aspectos Imunológicos

Um estudo com pessoas com SD avaliou se o fator etiológico principal estaria relacionado à microbiota do hospedeiro e encontrou que a composição microbiológica não representou um específico efeito para a maior prevalência de DP. (REULAND-BOSMA; VAN DER REIJDEN; VAN WINKELHOFF, 2001) Sendo assim, tem sido indicado que outros fatores podem ter um papel importante na patogênese da DP nessa população, como alterações na resposta imuno-inflamatória (LÓPEZ-PEREZ et al., 2002).

Estudos que avaliaram a resposta imuno-inflamatória do indivíduo com SD encontraram expressão reduzida de IL-10 em análise de biópsia gengival (CAVALCANTE et al., 2012), níveis séricos de IL-2 significativamente maiores (CUTANDO-SORIANO; GOMEZ-MORENO; BRAVO, 1998), maior atividade oxidativa de monócitos e granulócitos no sangue (KHOCHT et al., 2014), estresse oxidativo progressivo na saliva (KOMATSU et al., 2013), ativação prejudicada de interferons em análise de tecido gengival (TANAKA, Marcia H. et al., 2012), assim como a diminuição da quimiotaxia de neutrófilos (MORINUSHI et al., 2006; YOSHIHARA et al., 2005), redução da contagem de linfócitos B e T e presença de linfócitos T imaturos (LÓPEZ-PEREZ et al., 2002). Além disso, estudos mostram que os níveis de PGE2, leucotrieno B4 e a matriz metalopeptidase-9 no fluido do sulco gengival foram maiores em indivíduos com SD em comparação com controles pareados (TSILINGARIDIS; YUCEL-LINDBERG; MODÉER, 2003). A distribuição alterada de IgG e maior distribuição de IgG1 na saliva de indivíduos com SD também foi relatada, o que sugere um mal funcionamento imunológico na síndrome de Down (BARR-AGHOLME et al., 1997).

Dessa forma, os estudos tendem a mostrar que a resposta imunológica de indivíduos com SD é um importante fator contribuinte para a alta prevalência da DP. Considerando que a avaliação da função imunológica tem sido utilizada como parâmetro para a compreensão dos fatores associados à DP (ALMEIDA et al., 2008) e que a determinação dos níveis de mediadores inflamatórios em fluidos biológicos representa um bom indicador de atividade inflamatória (BARR-AGHOLME et al., 1997; OZMERIC, 2004), o estudo do fluido crevicular gengival (FCG) do indivíduo com DP se mostra relevante nesse processo.

A interação entre as espécies colonizadoras do biofilme gengival e os tecidos periodontais adjacentes é marcada pela liberação de substâncias biologicamente ativas no FCG. Este corresponde ao transudato do líquido intersticial do tecido gengival, que nas doenças periodontais, é transformado em exsudato inflamatório, refletindo a composição do soro e incluindo substâncias derivadas dos tecidos estruturais do periodonto e das bactérias orais que colonizam a bolsa periodontal (TELES et al., 2011)

A identificação de biomarcadores no FCG tornou-se cada vez mais importante e o fluido extensivamente investigado devido ao seu potencial para diagnóstico e auxílio no tratamento da doença periodontal. O FCG permite identificar grupos de pacientes de alto e baixo risco em relação à atividade e progressão da DP (KURDUKAR et al., 2015), assim como também, realizar uma coleta não invasiva da rica variedade de moléculas celulares e bioquímicas associadas à atividade da doença no periodonto (SHIMADA et al., 2013). Sendo assim, os estudos do FCG tornaram-se relevantes para medir in vivo os mediadores inflamatórios liberados durante o processo de atividade da DP (TELES et al., 2011). Dessa forma, o nível de citocinas no FCG pode sugerir uma alteração na expressão destas, refletindo no processo da DP.

1.2.2 Condição metabólica

O indivíduo com SD teve considerável aumento na sua expectativa de vida nos últimos anos, o que resultou em um número crescente dessa população na fase adulta. O indivíduo com SD nesta fase pode apresentar diversos distúrbios imunológicos e metabólicos (ASUA et al., 2014), além de ter um risco aumentado para o desenvolvimento de demência e doença de Alzheimer (SCHUPF, 2002). Autores pesquisaram sobre a condição metabólica em pacientes com SD no intuito de compreender sua composição corporal, seus níveis de adiposidade e possíveis implicações em sua saúde futura (CINTRA; CAMARGO, 2018; SMITH et al., 2017; KALINOSKI et al., 2012; GONZÁLES-AGÜERO et al., 2011) e encontraram que 74% da população com SD estudada apresenta algum problema nutricional, com alta prevalência de obesidade e massa de gordura no braço (CINTRA; CAMARGO, 2018), além de triglicerídeos e colesterol alterados (KALINOSKI et al., 2012). São indivíduos que possuem obesidade e dislipidemia como condições prevalentes, (ASUA et al., 2014) as quais atuam como fatores de risco para doenças cardiovasculares e ateroscleróticas (DRAHEIM; MCCUBBIN; WILLIAMS, 2002; NISHIDA et al., 1977), e consequentemente para a saúde do cérebro, podendo levar à alterações cognitivas e demência (ZACHAROPOULOU et al., 2017).

Os estudos de associação entre a saúde bucal e a saúde sistêmica vêm ganhando cada vez mais relevância na literatura, em particular o interesse entre condições metabólicas e doenças bucais, envolvendo a doença periodontal e a perda de dentes (LEE et al., 2014). Nessa perspectiva, estudos avaliam a possível associação entre a doença periodontal e alterações nos parâmetros sanguíneos, condição metabólica e indicadores antropométricos, buscando se estas podem representar fatores de risco para doenças cardiovasculares e arteriosclerose (CULEBRAS-ATIENZA; SILVESTRE; SILVESTRE-RANGIL, 2018; KIKUI et al., 2017;

LÓPEZ; LOOS; BAELUM, 2012) o que seria de grande interesse na população de indivíduos com SD.

2. CAPÍTULO I

(Artigo submetido ao periódico Journal of Clinical Periodontology)

Ma. Monique Mouchrek (Orcid ID: 0000-0001-9860-6972)

Prof. Sueli da Conceição (Orcid ID: 0000-0001-6773-2888)

Prof. Vandilson Rodrigues (Orcid ID: 0000-0002-6785-7864)

Prof. Bruno Benatti (Orcid ID: 0000-0002-2080-2217)

Tipo de Artigo: Artigo Original Periodontia Clínica

Title: Relação entre os parâmetros metabólicos e periodontais em indivíduos com Síndrome de Down

Título Resumido: Parâmetros periodontais e metabólicos em Síndrome de Down

Autores: Monique Maria Melo Mouchrek¹, Mayra Moura Franco¹, Leslie Alves da Silva¹, Kerry Alynne Campos Martins¹, Sueli Ismael Oliveira da Conceição², Vandilson Pinheiro Rodrigues¹, Bruno Braga Benatti¹

¹ Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

Correspondência:

Monique Maria Melo Mouchrek, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Avenida dos Portugueses, s/n, Campus Universitário do Bacanga, CEP: 65.085-580, São Luís, MA, Brazil. Fax: +55 98 33018572.

Email: moniquemouchrek@yahoo.com.br

Declaração de conflito de interesse e fonte de financiamento

Os autores declaram que não têm conflito de interesses. O apoio financeiro para esta pesquisa foi fornecido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA), Brasil, número da Concessão/Prêmio: 155225/2017 e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – PROCAD AMAZONIA: 88881.342874/2019-01 and finance code: 001.

RESUMO

Objetivo: Investigar a relação entre indicadores de condição metabólica (medidas antropométricas, pressão arterial e marcadores séricos) e parâmetros periodontais em indivíduos com Síndrome de Down (SD).

Materiais e métodos: Estudo transversal, realizado com 49 indivíduos com SD. Os voluntários foram submetidos a exame periodontal para medir a profundidade de sondagem (PS), o nível de inserção clínica (NIC), o índice de sangramento gengival (ISG) e o índice de placa visível (IPV). A periodontite foi classificada como leve, moderada ou severa. A condição metabólica dos participantes foi determinada através da análise dos parâmetros antropométricos: índice de massa corpórea, circunferência de cintura, do braço e muscular do braço, prega cutânea tricipital, perímetro de quadril e cintura, medição da pressão arterial e coleta de sangue para dosagem de marcadores séricos. Os dados foram analisados pelo teste de Mann-Whitney e pelo coeficiente de correlação de Spearman.

Resultados: Periodontite moderada ou grave foi detectada em 63,3% da amostra, com altos valores de IPV ($54,6 \pm 35,8$) e ISG ($42,4 \pm 33,3$). Níveis mais altos de hemoglobina corpuscular média (HCM) e menor volume corpuscular médio (VCM) foram detectados em indivíduos com periodontite moderada ou grave ($P < 0,001$). As medidas da circunferência do braço e os níveis de colesterol HDL foram inversamente correlacionados com algumas variáveis periodontais. Além disso, os níveis de hemoglobina foram diretamente correlacionados com a porcentagem de sítios com NIC ≥ 4 mm.

Conclusões: Nossos achados sugerem que os parâmetros periodontais podem estar relacionados a parâmetros metabólicos em indivíduos com SD.

Palavras-chave: Doenças Periodontais; Marcadores biológicos; Síndrome de Down; Síndrome metabólica.

ABSTRACT

Aim: To investigate the relationship between metabolic condition indicators (anthropometric measurements, blood pressure and serum markers) and periodontal parameters in individuals with Down Syndrome (DS).

Materials and methods: Cross-sectional study, carried out with 49 individuals with DS. The volunteers underwent periodontal examination to measure the probing depth (PS), the clinical attachment level (CAL), the gingival bleeding index (GBI) and the visible plaque index (VPI). Periodontitis was classified as mild, moderate or severe. The participants' metabolic condition was determined through the analysis of anthropometric parameters: body mass index, waist circumference, arm and arm muscle, tricipital skin fold, hip and waist circumference, blood pressure measurement and blood collection for dosage of serum markers. The data were analyzed using the Mann-Whitney test and Spearman's correlation coefficient.

Results: Moderate or severe periodontitis was detected in 63.3% of the sample, with high VPI (54.6 ± 35.8) and GBI (42.4 ± 33.3) values. Higher mean corpuscular hemoglobin (MCH) and lower mean corpuscular volume (MCV) levels were detected in individuals with moderate or severe periodontitis ($P < 0.001$). Arm circumference measurements and HDL cholesterol levels were inversely correlated with some periodontal variables. Moreover, hemoglobin levels were directly correlated with the percentage of sites with $CAL \geq 4$ mm.

Conclusions: Our findings suggest that periodontal parameters may be related to markers of metabolic condition in individuals with DS.

Keywords: Periodontitis; Biological markers; Down syndrome; Metabolic syndrome.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Fundamentação científica do estudo: Evidências sugerem que existe uma associação entre a condição metabólica e a periodontite. Pessoas com síndrome de Down (SD), pelo aumento da expectativa de vida nas últimas décadas, aumentaram o risco de desenvolver anormalidades metabólicas. Assim, este estudo investigou a relação entre os parâmetros metabólicos e periodontais em pacientes com SD.

Principais achados: Os parâmetros periodontais foram relacionados com as medidas antropométricas do braço médio, colesterol HDL e marcadores de hemoglobina em pacientes com SD.

Implicações práticas: A condição metabólica pode ter relação com a doença periodontal em pacientes com SD, representando uma maior predisposição para o acometimento da doença nessa população.

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Down (SD) representa uma anomalia cromossômica autossômica caracterizada por mudanças no desenvolvimento intelectual, físico, comportamental e cognitivo (Roubertoux & Kerdelhué, 2006). O indivíduo com SD teve considerável aumento na sua expectativa de vida nos últimos anos, o que resultou em um número crescente de adultos com SD (Asua et al., 2014). Esta população de adultos traz complicações além das já apresentadas no período pediátrico (alterações faciais, membros malformados, pele e músculos afetados, anormalidades átrio-ventriculares, maior incidência de leucemia e outras) (Roubertoux & Kerdelhué, 2006). São indivíduos que com o avanço da idade podem apresentar maiores distúrbios imunológicos e metabólicos, tendo obesidade e dislipidemia como condições prevalentes (Asua et al., 2014), assim como demência senil precoce e processos neurodegenerativos (Wilcock et al., 2016; Roubertoux & Kerdelhué, 2006). Além das complicações sistêmicas, a SD apresenta complicações e doenças bucais, como a doença periodontal (DP) (van de Wiel et al., 2018).

A DP corresponde a um processo infeccioso-inflamatório que envolve os tecidos de suporte e proteção dos dentes, podendo levar à destruição do periodonto, incluindo ligamento periodontal e osso alveolar, reduzindo a função mastigatória e eventualmente causando a perda dental (Pham, 2018). Estudos têm mostrado uma maior prevalência de DP em pacientes com SD, (Al Habashneh et al., 2012; Cheng et al., 2007; Zigmond et al., 2006) e com maior gravidade em comparação com outras deficiências, como paralisia cerebral e deficiência intelectual, mostrando que os fatores como destreza manual e pobre higienização bucal não são suficientes para explicar essa maior prevalência. (Khoct et al., 2010; Sakellari et al., 2005).

Da mesma forma, em um estudo microbiológico não foi encontrado diferença na microflora entre grupos com e sem SD, mostrando que a composição microbiológica não representou uma causa para essa maior prevalência de DP e que fatores de risco adicionais como deficiência imunológica podem sustentar essa etiologia (Reuland-Bosma et al., 2001), sugerindo que anormalidades na resposta imunológica de pacientes com SD são importantes fatores contribuintes para essa alta prevalência. (Cavalcante et al., 2012)

Estudos de associação entre a saúde bucal e a saúde sistêmica vêm ganhando cada vez mais relevância na literatura, em particular o interesse entre condições metabólicas e doenças bucais, envolvendo a doença periodontal e a perda de dentes. (Lee et al., 2014). Nessa

perspectiva, estudos avaliaram a possível associação entre a doença periodontal e alterações nos parâmetros sanguíneos, especificamente as células brancas e vermelhas, (Anand et al., 2014; Khan et al., 2014; López et al., 2012; Moura et al., 2011; Aljohani 2010; da P Bittencourt et al., 2004;) e alterações na condição metabólica, buscando se estas podem representar fatores de risco para doenças cardiovasculares e arterosclerose, por exemplo. Alguns estudos indicam que a DP está positivamente associada a alterações sistêmicas como intolerância à glicose, resistência à insulina, disfunção vascular, além de possível associação com alterações lipídicas e pressão arterial. (Pham, 2018; Kikui et al., 2017; Lee et al., 2014). No entanto, não há informações destas associações na população com SD, com exceção de um estudo que observou uma clara correlação da periodontite com a razão cintura/quadril (RCQ). (Culebras-Atienza et al., 2018)

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar a relação dos parâmetros metabólicos, envolvendo indicadores antropométricos e marcadores séricos, com os parâmetros periodontais em pacientes com SD.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

É um estudo transversal realizado na cidade de São Luís, Maranhão, Brasil, entre os meses de Janeiro de 2018 e Março de 2019. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, sob o parecer de número 2.530.036 e o paciente e/ou responsável legal dos pacientes com SD que tiveram interesse em participar assinaram um termo de consentimento informado.

População

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, independentemente da etnia, com idade acima de 6 anos. Os dados foram coletados nas clínicas odontológicas da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Os critérios de exclusão consistiram em fumantes ou ex-fumantes que haviam parado de fumar em um período inferior a 10 anos; indivíduos usando aparelhos ortodônticos; submetidos a tratamento periodontal nos seis meses anteriores ao exame; gestantes; pacientes com risco de endocardite infecciosa e indivíduos com histórico de antibioticoterapia e uso de anti-inflamatórios e / ou imunossuppressores nos três meses anteriores ao exame.

Cinquenta e oito indivíduos com SD foram recrutados na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), em um hospital de referência para pacientes com deficiência na rede pública de saúde de São Luís e em escolas de formação educacional de apoio a pessoas com deficiência. Os responsáveis dos pacientes responderam a um questionário que abordou dados sócio-demográficos, condições de vida, prática de higiene bucal e acesso aos cuidados odontológico. Após o início da pesquisa, sete indivíduos desistiram devido à indisponibilidade ou falta de interesse do responsável legal para continuar participando do estudo e dois indivíduos não aderiram ao exame periodontal. Assim, o tamanho final da amostra foi composto por quarenta e nove indivíduos com SD.

Exame Clínico Periodontal

O exame periodontal foi realizado por um único examinador, previamente treinado (índice Kappa intra examinador 0,89), sob luz artificial, por meio de secagem prévia da região com jato de ar, e uso de uma sonda periodontal milimetrada do tipo Carolina do Norte (Golgran®/Brasil), espelho plano e pinça clínica devidamente esterilizados.

Os dentes presentes foram avaliados em seis sítios (disto-vestibular, vestibular, méso-vestibular, disto-lingual, lingual e méso-lingual). Os seguintes parâmetros foram registrados: índice de sangramento gengival (ISG) e índice de Placa Visível (IPV). Estes índices avaliaram a presença ou ausência de inflamação ou placa em padrão binomial (dicotômico), da seguinte forma: sangramento de margem gengival e placa visível – escore 1 e ausência de sangramento e sem placa visível – escore 0 (Ainamo & Bay, 1975); profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC). A periodontite foi avaliada de acordo o CDC-AAP (Centers for Disease Control/American Academy of Periodontology), método que classifica em periodontite leve, moderada e grave. E para avaliar a gravidade e extensão da periodontite, foram utilizados os pontos de corte de NIC e PS, gerando suas médias e prevalências de acordo com a quantidade de sítios presentes (Eke et al., 2012).

Exames Antropométricos

A avaliação antropométrica foi realizada na UFMA por uma equipe de nutrição calibrada, onde mensurou-se o peso em quilogramas (kg) utilizando uma balança portátil da marca OMRON® (Kyoto, Japão) com capacidade de 150 quilogramas (kg) e precisão de 100 gramas (g). A medida da estatura foi aferida em metros (m), por meio do estadiômetro portátil

Altarexata® (Belo Horizonte, MG, Brasil), com campo de uso de 0,35 até 2,13 m e precisão de 1,0 cm. O peso e estatura dos pacientes foram mensurados atendendo aos critérios preconizados pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional – SISVAN (Sisvan, 2011).

Os dados de peso e altura foram utilizados para calcular o Índice de Massa Corporal –IMC (em Kg/m²) para os indivíduos e foi determinado pela seguinte fórmula: divisão da massa corporal (em quilogramas) pelo quadrado da altura (em metros). Como para os indivíduos brasileiros com SD não há parâmetros específicos de IMC para a faixa etária acima de 18 anos, utilizou-se os pontos de corte da Organização Mundial de Saúde, onde IMC <18,5 foi classificado como baixo peso, $\geq 18,5$ e < 25 adequado ou eutrófico, ≥ 25 e < 30 sobrepeso e ≥ 30 obesidade (OMS, 1995).

O diagnóstico nutricional dos adolescentes até os 18 anos foi determinado por meio das curvas de crescimento para crianças e adolescentes com SD desenvolvidas por Cronk e colaboradores (1988) de acordo com o sexo. Com base nessa referência, adotou-se os indicadores Peso para Idade (P/I) e a Estatura para Idade (E/I), de acordo com o sexo, para indivíduos entre dez e ≤ 19 anos. A classificação dos pontos de corte para os valores de peso e estatura, por percentil resultou em: baixo peso ou baixa estatura o percentil <25, eutrofia o percentil ≥ 25 e <75, sobrepeso ou estatura superior percentil ≥ 75 e <95 e obesidade ou estatura acima do esperado percentil >95 (Dalpicolo et al., 2004).

Para aferição da circunferência do braço (CB) em cm, utilizou-se uma fita antropométrica flexível (Sanny®, São Paulo, SP, Brasil), com comprimento de até 200 cm e precisão de 0,1 cm, seguindo os métodos recomendados por Heyward & Stolarczyk (2000). Reflete a combinação de massa muscular e reserva de gordura, sendo indicativa do estado nutricional (Rossi, 2015). Utilizou-se os valores de referência de Frisancho (1990), de acordo com as variáveis de idade e gênero para adequação. Como indicativo de Desnutrição adota-se CB <90,0%, de Eutrofia CB 90,0-110,0% e Sobrepeso 110,1-120,0% e Obesidade CB >120,0% (Blackburn & Thornton, 1979).

A prega cutânea tricipital (PCT) foi aferida em milímetros (mm), com o adipômetro (Saehan®, Saehan Corporation., S. Korea), com leitura de até 60 mm, precisão e calibração de 1 mm e seguindo as técnicas definidas por Heyward & Stolarczyk (2000). O valor obtido foi comparado à referência de Frisancho (1990) de acordo com as variáveis de idade e gênero para adequação. Como indicativo de Desnutrição adota-se CB <90,0%, de Eutrofia CB 90,0-110,0% e Sobrepeso 110,1-120,0% e Obesidade CB >120,0%. (Blackburn & Thornton, 1979)

Para aferição da circunferência da cintura (CC), em cm, utilizou-se a mesma fita antropométrica flexível. A medida da CC é utilizada como um dos indicadores para o diagnóstico de obesidade central, ou seja, adiposidade central (Rossi, 2015). Essa medida foi aferida em conformidade com os métodos preconizados pelo SISVAN (2011). Para adolescentes com faixa etária de 10 até 19 anos, de acordo com o sexo, foram adotados os valores de referência propostos por Taylor e colaboradores (2000). O ponto de corte utilizado para homens foi ≥ 94 cm, ≥ 102 cm e ≥ 80 cm, ≥ 88 cm para mulheres com idade de 20 anos ou mais anos de idade, indicado risco elevado e risco muito elevado, respectivamente (OMS, 1998).

Todas as medidas antropométricas adotadas nesta investigação foram aferidas duas vezes e calculadas as médias dos dois valores para cada indicador, exceto a PCT que foi mensurada três vezes, para posterior cálculo da sua média, seguindo o protocolo de Heyward e Stolarczyk (2000).

A pressão arterial (mmHg) foi medida na posição sentada utilizando um monitor automático de pressão arterial (Microlife, São Paulo, Brasil), duas vezes para uso da média das leituras.

Exames de Nível Sérico

A avaliação bioquímica compreendeu o colesterol total, a lipoproteína de alta densidade (HDL), a lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicerídeos e os níveis séricos das células vermelhas e brancas. A coleta de sangue foi realizada por um Técnico de Enfermagem, na UFMA, estando os participantes com 12 horas de jejum na manhã do exame. As amostras foram coletadas em tubos de polietileno, mantidas sob refrigeração (2 °C a 8 °C) em uma caixa térmica hermeticamente fechada e transportadas até o laboratório de referência para serem analisadas.

Foram seguidos os parâmetros estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (2017) para classificação do colesterol, triglicérides e glicemia em jejum em adultos e adolescentes. (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2017).

Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando os recursos do software STATA versão 14.0 (Stata Corp., College Station, Texas, USA). Inicialmente foi realizada a análise descritiva dos dados através das medidas de frequência, tendência central e de dispersão. A normalidade da distribuição das variáveis contínuas foi aferida através do teste Shapiro-Wilk. Após este

processamento, o teste Mann-Whitney foi utilizado para a análise comparativa dos indicadores da condição metabólica entre os grupos (sem/periodontite leve e periodontite moderada/grave). O coeficiente de correlação de Spearman foi calculado para estimar a força e direção (direto ou inverso) de relação dos parâmetros periodontais avaliados e os indicadores da condição metabólica. O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%.

RESULTADOS

Um total de 49 participantes diagnosticados com Síndrome de Down (44,9% homens e 55,1% mulheres), com média de idade de $23,5 \pm 9,1$ anos, foram incluídos no presente estudo. A distribuição amostral apresentada na Tabela 1 revelou que a maioria estava na faixa etária entre 20 e 29 anos (36,7%), era parda (67,3%), possuía renda familiar maior que 1 até 3 salários mínimos (57,1%) e que 42,8% dos cuidadores possuíam até o Ensino Médio completo.

A distribuição das variáveis referentes a condição periodontal e higiene bucal está expressa na Tabela 2. Observou-se uma média elevada de IPV ($54,6 \pm 35,8$) e ISG ($42,4 \pm 33,3$) na amostra. Pode-se destacar que a média de proporção de sítios com $\text{NIC} \geq 4\text{mm}$ e $\text{PS} \geq 5\text{mm}$ foi de respectivamente 8,7 e 4,0, e 46,9% da amostra apresentam pelo menos um sítio com $\text{PS} \geq 5\text{mm}$. O diagnóstico de periodontite de acordo com CDC-AAP revelou que 38,8% dos participantes apresentavam periodontite moderada e 24,5% periodontite grave. Sobre o relato de higiene bucal, a maioria realizava a escovação dental pelo menos 3 vezes ao dia (65,3%), 91,8% relatou que não utilizava o fio dental com frequência e 46,9% se queixaram de ocorrência de sangramento gengival durante a escovação dentária.

A análise comparativa dos marcadores da condição metabólica de acordo com o grau de comprometimento periodontal está expressa na Tabela 3. A análise revelou um nível estatisticamente mais elevado de hemoglobina corpuscular média (HCM) e volume corpuscular médio (VCM) no grupo com maior comprometimento periodontal ($P < 0,001$).

Além disso, foi analisada a correlação entre os indicadores da condição metabólica e parâmetros da avaliação periodontal mostrada na Tabela 4. Foi observada uma correlação inversa entre o percentil da circunferência do braço (CB) e as variáveis ISG, $\% \text{NIC} \geq 3\text{mm}$ e 4mm , $\% \text{PS} \geq 4\text{mm}$ e 5mm , assim como correlações inversas entre circunferência muscular do braço (CMB) e IPV, ISG, $\% \text{PS} \geq 4\text{mm}$ e 5mm . A análise dos marcadores séricos revelou que quanto maior o IPV e $\% \text{NIC} \geq 3\text{mm}$ menor foi o nível de HDL na amostra. Hemoglobina apresentou uma correlação direta com $\text{NIC} \geq 4\text{mm}$. Além disso, correlações diretas foram observadas entre HCM e todos os parâmetros periodontais e VCM com ISG, $\% \text{NIC} \geq 3\text{mm}$ e 4mm , $\% \text{PS} \geq 4\text{mm}$ e 5mm .

DISCUSSÃO

Nossos dados revelam uma alta prevalência de comprometimento periodontal, um nível estatisticamente mais elevado de HCM e VCM no grupo com maior comprometimento periodontal, uma correlação inversa entre a CB e CMB com ISG, NIC e PS e um menor nível de HDL quanto maior o IPV e NIC.

A avaliação da condição periodontal na população com SD não é extensamente encontrada na literatura, além disso, alguns dos estudos utilizaram o índice periodontal comunitário (IPC) para diagnosticar a periodontite, (Kikui et al., 2017; Lee et al., 2014) índice que apresenta uma limitação no número de dentes avaliados (10 dentes compreendendo primeiros e segundos molares e incisivos centrais), podendo subestimar a prevalência de bolsas profundas comprometendo o diagnóstico da doença. No presente estudo, a periodontite foi avaliada de acordo o CDC-AAP, método de avaliação que permite uma melhor descrição, onde a periodontite total se baseia na soma dos casos de periodontite leve, moderada e severa (Eke et al., 2012). Este é o primeiro estudo que avalia os indicadores metabólicos (dados antropométricos e níveis séricos) com os parâmetros periodontais (IPV, ISG, NIC e PS) em indivíduos com SD.

A alta prevalência de comprometimento periodontal encontrada neste estudo é consistente com os resultados de estudos anteriores, onde indivíduos com SD apresentaram uma prevalência entre 36,6% (van de Wiel et al., 2018), 77% (Zigmond et al., 2006) e 78,1% (López-perez et al., 2002), além de 67% de perda óssea alveolar em indivíduos de 15 a 24 anos, 100% em indivíduos com 25 anos ou mais (Barnett et al., 1986), 22,6% de periodontite crônica generalizada e 16,1% de periodontite agressiva (Sousa et al., 2018).

Devido a ausência de dados com semelhante metodologia em indivíduos com SD e para melhor compreender a realidade dos dados encontrados neste estudo, se comparou com estudos em indivíduos não sindrômicos e foi observado uma prevalência de periodontite leve, moderada e severa de 8,7%, 30% e 8,5% respectivamente, tendo a periodontite total nessa população uma prevalência de 24,4% em adultos acima de 30 anos e 70,1% na população com 65 anos ou mais (Eke et al., 2012). Já em outro estudo com não sindrômicos (Pham, 2018), em uma população com idade média de 57,8 anos foi encontrado 15% de indivíduos com periodontite leve, 12,6% com periodontite moderada e 6,8% com periodontite severa. Essa comparação mostra que a

população com SD aqui estudada, com menor ou igual média de idade, apresentou maior comprometimento periodontal do que a população não síndrômica avaliada em outros estudos.

Quanto à severidade e extensão da periodontite, há apenas um estudo em indivíduos com SD (Nuernberg et al., 2019), o qual encontrou em uma idade média de 23,8 anos que 70,3% dos indivíduos tinham um ou mais sítios com $PS \geq 4\text{mm}$ e 43,5% com $PS \geq 5\text{mm}$, dados semelhantes ao encontrado neste estudo. Já comparando com os estudos em indivíduos não síndrômicos, foi encontrado 33,2% dos indivíduos entre 35-44 anos com $NIC \geq 3\text{mm}$ e 52,7% com $PS \geq 4\text{mm}$ (Sun et al., 2018) e outro estudo mostrando 86% de adultos acima de 30 anos com $NIC \geq 3\text{mm}$ aumentando para 96,7% na faixa etária acima de 65 anos e 41% dos adultos com $PS \geq 4\text{mm}$ (Eke et al., 2012). É possível observar que a severidade e extensão da periodontite em indivíduos com SD, com a média de idade menor, se mostrou mais alta que a periodontite na faixa-etária acima de 65 anos em indivíduos não síndrômicos.

O conhecimento da condição metabólica em pessoas com SD e sua relação com a doença periodontal é pouco encontrado na literatura. Nos estudos realizados em indivíduos com SD os objetivos são específicos para obesidade (Culebras-Atienza et al., 2018; Asua et al., 2014), massas gordas e magras (Gonzáles-Agüero et al., 2011) e para conhecer sua composição corporal, seus níveis de adiposidade e possíveis implicações em sua saúde futura (Cintra & Camargo, 2018; Smith et al., 2017; Kalinoski et al., 2012; Gonzáles-Agüero et al., 2011).

Um estudo associa os achados com a condição de saúde bucal, encontrando que há correlação positiva significativa entre o indicador de obesidade e parâmetros periodontais (Culebras-Atienza et al., 2018). Os demais estudos mostram índices mais altos de resistência à insulina em pessoas com SD com obesidade abdominal (Asua et al., 2014) e que jovens com SD apresentam maior índice de gordura e menor massa magra que jovens pareados sem SD. (Gonzáles-Agüero et al., 2011). A CB e CMB, que mostraram correlação inversa com a periodontite no presente estudo, representam indicadores de desnutrição quando $CB < 90\%$, de Eutrofia quando $CB = 90-110\%$, sobrepeso quando $CB = 110,1 - 120\%$ e Obesidade quando $CB > 120\%$. São medidas que refletem as reservas tanto de energia como massa proteica, sugerindo que nesse estudo, os classificados como desnutridos, apresentariam parâmetros periodontais mais elevados.

A redução do HDL observada neste estudo também foi encontrada em população não síndrômica, onde o baixo nível do colesterol HDL foi associado à DP (Pham, 2018; Kikui et al., 2017). Outros estudos encontraram associação do HDL baixo com alto escore do CPI e com

bolsas periodontais acima de 3mm (Kampits et al., 2016; Morita et al., 2009; Katz et al., 2002), indicando que quanto maior a gravidade da DP mais baixos os níveis de HDL ao longo do tempo. Outro estudo encontrou a capacidade funcional do HDL prejudicada em condições inflamatórias periodontais, mostrando que por menores que sejam, essas alterações ainda podem prejudicar o efeito protetor do colesterol (O'Neill et al., 2015). Da mesma forma, uma meta-análise encontrou que a DP está significativamente associada à redução do HDL (Nepomuceno et al., 2017). Estes estudos (Pham, 2018; Kikui et al., 2017; Kampits et al., 2016; O'Neill et al., 2015; Morita et al., 2009; Katz et al., 2002) foram realizados em indivíduos não síndrômicos e mostraram o mesmo achado do presente estudo.

A relação entre a periodontite e dislipidemia tem sido investigada na literatura e os resultados tem mostrado que a DP pode estar relacionada ao controle metabólico lipídico. Uma possível explicação é a relação com o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica crônica (Lamster & Pagan, 2017). A inflamação periodontal pode afetar negativamente o controle lipídico sérico, aumentando o risco de doenças cardiovasculares e por sua vez a desregulação lipídica aumentaria a susceptibilidade à DP devido à inflamação sistêmica (Nepomuceno et al., 2017). Estudos em indivíduos com deficiência intelectual observaram que estes apresentam uma prevalência significativamente maior de síndrome metabólica que a população acima de 50 anos sem deficiência e maiores fatores de risco para doença cardiovascular. (de Winter et al., 2012; de Winter et al., 2011). Além disso, proteínas séricas como triglicerídeos elevados e gordura corporal total foram associadas ao aumento da aterosclerose (Draheim et al., 2002; Nishida et al., 1977). Considerado a média de idade da população com SD estudada, essa relação pode representar um fator de risco precoce para doenças cardiovasculares e aterosclerótica nestes pacientes e consequentemente para a saúde do cérebro, podendo levar à alterações cognitivas e demência (Zacharopoulou et al., 2017).

Na análise dos marcadores séricos, este estudo revelou um nível estatisticamente mais elevado de HCM e VCM no grupo com maior comprometimento periodontal (tabela 3), mostrando uma correlação direta entre estes marcadores e os parâmetros periodontais $NIC \geq 3mm$, $NIC \geq 4mm$, $PS \geq 4mm$ e $PS \geq 5mm$ (tabela 4). Além disso, uma correlação direta da hemoglobina com o $NIC \geq 4mm$ foi encontrada (tabela 4). Resultados semelhantes a este estudo foram encontrados em indivíduos não síndrômicos (Moura et al., 2011; Aljohani, 2010; da P Bittencourt et al., 2004). Por outro lado, foi observado uma concentração significativamente menor de hemoglobina em indivíduos com periodontite quando comparados a indivíduos sem

periodontite (Anand et al., 2014; Khan et al., 2014; López et al., 2012) mostrando que a periodontite influencia nos valores da hemoglobina.

São observados diversos estudos sobre o reflexo da periodontite na condição sistêmica do indivíduo, investigando possíveis alterações nos parâmetros sanguíneos, especificamente nas células brancas e vermelhas (Anand et al., 2014; Khan et al., 2014; López et al., 2012; Moura et al., 2011; Aljohani, 2010; da P Bittencourt et al., 2004). Considerando as células vermelhas, a baixa concentração da hemoglobina em indivíduos não sindrômicos e sem comprometimento sistêmico e com periodontite tem sido apontada como anemia de doença crônica, uma anemia que se manifesta em infecções crônicas e condições inflamatórias (doenças renais crônicas, intestinais como Crohn, aterosclerose, resistência à insulina e estresse oxidativo) ou distúrbios neoplásicos e que ocorre apesar da presença de reservas adequadas de ferro e vitaminas (Brazao-silva, 2019; Khan et al., 2014). A hipótese para o aparecimento da anemia de doença crônica em pessoas com periodontite é a supressão da eritropoiese na medula óssea. E esta regulação diminuída ocorreria como resposta à presença das citocinas aumentadas na circulação sanguínea (Khan et al., 2014).

As doenças inflamatórias crônicas são associadas a grande produção de citocinas inflamatórias, que podem reduzir o estímulo à produção de eritropoietina (hormônio produzido nos rins que estimula a medula a produzir eritrócitos) (Brazao-silva, 2019). Da mesma forma, estudos mostram um aumento da liberação de mediadores inflamatórios durante a ocorrência da periodontite, observando uma elevação dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1, interleucina-6, interferon-gama e fator de necrose tumoral alfa (Oliveira et al., 2012; Cairo et al., 2010; Buhlin et al., 2003; Mogi et al., 1999). Essa resposta imune sistêmica explicaria uma concentração reduzida da hemoglobina e da contagem de células vermelhas (Anand et al., 2014). Como observado, a literatura retrata estudos realizados em indivíduos não sindrômicos, alguns dos quais apresentaram resultados semelhantes ao presente estudo com SD. A ausência de estudos com a população com SD impede comparações para melhores análises.

O aumento destes marcadores séricos pode ter como outra possível explicação a alteração na tireóide, pois indivíduos com SD mostram 49% de chance de apresentar disfunção tireoidiana adquirida e 24% o hipotireoidismo subclínico aos 10 anos (Iughetti et al., 2014). Estudos mostram que indivíduos com hipertireoidismo exibiram eritrocitose e uma diminuição do VCM, enquanto pacientes com hipotireoidismo apresentavam um aumento do VCM

(Corrocher et al.,1982) e descreveram também um aumento do número de eritrócitos, da concentração de hemoglobina, e do hematócrito em pacientes com hipertireoidismo, enquanto pacientes com hipotireoidismo apresentaram baixos números de eritrócitos e de concentração de hemoglobina (Kawa et al., 2010).

Este estudo é o primeiro a pesquisar uma correlação entre os parâmetros periodontais e metabólicos em indivíduos com SD. Avaliou os parâmetros periodontais em 6 sítios de todos os dentes presentes e utilizou o método de avaliação da periodontite de acordo com CDC-AAP, que classifica a periodontite em leve, moderada e severa. Como limitação, o desenho transversal não permite afirmar a direção da causalidade na associação entre condição periodontal e metabólica nos indivíduos. Portanto, futuros estudos longitudinais, incluindo marcadores inflamatórios e um período de acompanhamento, são necessários para confirmar os presentes achados. Outra limitação foi o tamanho da amostra devido aos desafios de recrutamento. Uma amostra maior permitiria avaliar essas associações por modelagem multivariada no futuro.

Em resumo, os achados de nosso estudo mostram que indivíduos com SD apresentam alta prevalência de periodontite e que a gravidade da DP se correlaciona com indicadores antropométricos e marcadores séricos. Esses aspectos podem influenciar a condição sistêmica dos indivíduos e atuar como fatores de risco para doenças cardiovasculares, aterosclerose e demência. Cuidados multiprofissionais preventivos e precoces focados na saúde bucal e sistêmica são necessários em indivíduos com SD.

Agradecimentos

Os autores apreciam a assistência dos trabalhadores nos centros para pessoas com deficiência e o carinho dos pais / responsáveis e pacientes.

Referências

- Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal*, 25(4), 229–235.
- Al Habashneh, R., Al-Jundi, S., Khader, Y., & Nofel, N. (2012). Oral health status and reasons for not attending dental care among 12- to 16-year-old children with Down syndrome in special needs centres in Jordan. *International Journal of Dental Hygiene*, 10(4), 259–264. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2012.00545.x>
- Aljohani, H. A. (2010). Association between Hemoglobin Level and Severity of Chronic Periodontitis. *Journal of King Abdulaziz University Medical Science*, 17(1), 53–64. <https://doi.org/10.4197/Med>
- Anand, P. S., Sagar, D. K., Ashok, S., & Kamath, K. P. (2014). Association of aggressive periodontitis with reduced erythrocyte counts and reduced hemoglobin levels. *Journal of Periodontal Research*, 49(6), 719–728. <https://doi.org/10.1111/jre.12154>
- Asua, D. R. De, Parra, P., Ramón Costa, Moldenhauer, F., & Suarez, C. (2014). Research in Developmental Disabilities Evaluation of the impact of abdominal obesity on glucose and lipid metabolism disorders in adults with Down syndrome. *Research in Developmental Disabilities*, 35, 2942–2949. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2014.07.038>
- Barnett, M. L., Press, K. P., Friedman, D., & Sonnenberg, E. M. (1986). The Prevalence of Periodontitis and Dental Caries in a Down's Syndrome Population. *Journal of Periodontology*, 57(5), 288–293. <https://doi.org/10.1902/jop.1986.57.5.288>
- Blackburn, G.L, Thornton, P.A. (1979). Nutritional assessment of the hospitalized patient. *Medical Clinics of North America, Philadelphia*. 14, 1102-1108.
- Brasil. Ministério da Saúde. Orientações para a coleta de análise de dados antropométricos em serviços de saúde: Norma Técnica do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN. Brasília, 2011.
- Brazao-silva, M. T. (2019). Eritrograma para prática odontológica: Revisão de Literatura. *Revista da Academia Brasileira de Odontologia*, 8(3), 146–154.
- Buhlin, K., Gustafsson, A., Pockley, A. G., Frostegård, J., & Klinge, B. (2003). Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *European Heart Journal*, 24(23), 2099–2107. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2003.09.016>
- Cairo, F., Nieri, M., Gori, A. M., Tonelli, P., Branchi, R., Castellani, S., ... Pini-Prato, G. P. (2010). Markers of systemic inflammation in periodontal patients: Chronic versus aggressive periodontitis. An explorative cross-sectional study. *European Journal of Oral Implantology*, 3(2), 147–153.
- Cavalcante, L. B., Tanaka, M. H., Pires, J. R., Henrique Apponi, L., Aparecida Giro, E. M., Roberto Valentini, S., ... Scarel-Caminaga, R. M. (2012). Expression of the Interleukin-10 Signaling Pathway Genes in Individuals With Down Syndrome and Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 83(7), 926–935. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110056>
- Cheng, R. H. W., Leung, W. K., Corbet, E. F., & King, N. M. (2007). Oral health status of adults with Down syndrome in Hong Kong. *Special Care in Dentistry*, 27(4), 134–138. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2007.tb00335.x>

- Cintra, R. M. G. D. C., & Camargo, K. F. (2018). Perfil nutricional de pessoas com deficiência e a alta prevalência de obesidade em Síndrome de Down e na população feminina. *Revista Ciência em Extensão*, 14(3), 9–21.
- Corrocher R; Querena M; Stanzial am; de Sandre G. (1982). Microcytosis in hyperthyroidism: haematological profile in thyroid disorders. *Haematologica*, 66(6), 779–786.
- Culebras-Atienza, E., Silvestre, F., & Silvestre-Rangil, J. (2018). Possible association between obesity and periodontitis in patients with Down syndrome. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*, 23(3), 0–0. <https://doi.org/10.4317/medoral.22311>
- da P Bittencourt, M. S., Marcelo da Figueredo, C. S., & Guimarães Fischer, R. (2004). A influência do tratamento periodontal não cirúrgico sobre células sangüíneas, perfil lipídico e glicemia de pacientes portadores de periodontite crônica. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 03(1), 60–68.
- Dapicolo, F; Viebig, RF; Nacif, M.A.L. (2004) Avaliação do estado nutricional de crianças com Síndrome de Down. *Nutrição Brasil*. (6), 336-340.
- De Lima Oliveira, A. P., De Faveri, M., Gursky, L. C., Mestnik, M. J., Feres, M., Haffajee, A. D., Teles, R. P. (2012). Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(3), 295–302. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01817.x>
- de Winter, C. F., Bastiaanse, L. P., Hilgenkamp, T. I. M., Evenhuis, H. M., & Echteld, M. A. (2012). Cardiovascular risk factors (diabetes, hypertension, hypercholesterolemia and metabolic syndrome) in older people with intellectual disability: Results of the HA-ID study. *Research in Developmental Disabilities*, 33(6), 1722–1731. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2012.04.010>
- de Winter, Channa F., Magilsen, K. W., van Alfen, J. C., Willemsen, S. P., & Evenhuis, H. M. (2011). Metabolic syndrome in 25% of older people with intellectual disability. *Family Practice*, 28(2), 141–144. <https://doi.org/10.1093/fampra/cmq079>
- Draheim, C. C., McCubbin, J. A., & Williams, D. P. (2002). Differences in cardiovascular disease risk between nondiabetic adults with mental retardation with and without Down syndrome. *American Journal on Mental Retardation*, 107(3), 201–211. [https://doi.org/10.1352/0895-8017\(2002\)107<0201:DICDRB>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1352/0895-8017(2002)107<0201:DICDRB>2.0.CO;2)
- Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Thornton-Evans, G. O., & Genco, R. J. (2012). Prevalence of periodontitis in adults in the united states: 2009 and 2010. *Journal of Dental Research*, 91(10), 914–920. <https://doi.org/10.1177/0022034512457373>
- Frisancho, A.R. (1990). Anthropometric standarts for the assessment of growth and nutritional status. University of Michigan. 189.
- González-Agüero, A., Ara, I., Moreno, L. A., Vicente-Rodríguez, G., & Casajús, J. (2011). Research in Developmental Disabilities Fat and lean masses in youths with Down syndrome : Gender differences. *Research in Developmental Disabilities*, 32, 1685–1693. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2011.02.023>
- Heyward, V.H, Stolarczyk, L. M. (2000). Avaliação da composição corporal aplicada: fundamentos da composição corporal. São Paulo: Manole.

- Iughetti, L., Predieri, B., Bruzzi, P., Predieri, F., Vellani, G., Madeo, S. F., ... Bozzola, M. (2014). Ten-year longitudinal study of thyroid function in children with down's syndrome. *Hormone Research in Paediatrics*, 82(2), 113–121. <https://doi.org/10.1159/000362450>
- Kalinoski, A. X., Marques, A. C., Jung, L. G., & Xavier, G. B. (2012). Prevalência de fatores de risco da síndrome metabólica em adultos com síndrome de Down na cidade de Pelotas. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde*, 17(5), 396–402. <https://doi.org/10.12820/2317-1634.2012v17n5p396>
- Kampits, C., Rösing, C. K., Montenegro, M. M., Ribeiro, I. W. J., Saffi, M. A. L., Polanczyk, C. A., ... Hass, A. N. (2016). Impacto da Doença Periodontal no Perfil Lipídico de Pacientes com Doença Arterial Coronariana Crônica: uma Coorte Retrospectiva de 3 anos. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, 29(4), 270–279.
- Katz, J., Flugelman, M. Y., Goldberg, A., & Heft, M. (2002). Association Between Periodontal Pockets and Elevated Cholesterol and Low Density Lipoprotein Cholesterol Levels. *Journal of Periodontology*, 73(5), 494–500. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01001.x>
- Kawa M.P; Grymula K; Paczkowska E; (2010). Clinical relevance of thyroid dysfunction in human haematopoiesis: biochemical and molecular studies. *European Journal of Endocrinology* 162(2), 295–305.
- Khan N, Iqbal S, Haris M, Chandramohan S, K. S. (2014). Relationship between hemoglobin level and severity of chronic periodontitis. *International Journal Of Chemical And Lifesciences*, 3(1), 1269–1273.
- Khocht, A., Janal, M., & Turner, B. (2010). Periodontal health in down syndrome: Contributions of mental disability, personal, and professional dental care. *Special Care in Dentistry*, 30(3), 118–123. <https://doi.org/10.1111/j.1754-4505.2010.00134.x>
- Kikui, M., Kokubo, Y., Ono, T., Kida, M., Kosaka, T., & Yamamoto, M. (2017). Relationship between Metabolic Syndrome Components and Periodontal Disease in a Japanese General Population : the Suita. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 24, 495–507.
- Lamster, I. B., & Pagan, M. (2017). Periodontal disease and the metabolic syndrome. *International Dental Journal*, 67(2), 67–77. <https://doi.org/10.1111/idj.12264>
- Lee, K., Kim, E., Kim, J., Choi, Y., Mechant, A. T., Song, K., & Lee, H. (2014). The relationship between metabolic conditions and prevalence of periodontal disease in rural Korean elderly. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 58(1), 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2013.08.011>
- López-perez, R., Borges-Yáñez, S. A., Jiménez-García, G., & Maupomé, G. (2002). Oral hygiene, gingivitis, and periodontitis in persons with Down syndrome. *Special Care in Dentistry*, 22(6), 214–220.
- López, R., Loos, B. G., & Baelum, V. (2012). Hematological features in adolescents with periodontitis. *Clinical Oral Investigations*, 16(4), 1209–1216. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0628-6>
- Mogi, M., Ootogoto, J., Ota, N., Inagaki, H., Minami, M., & Kojima, K. (1999). Interleukin 1 β ,

- interleukin 6, β 2-microglobulin, and transforming growth factor- α in gingival crevicular fluid from human periodontal disease. *Archives of Oral Biology*, 44(6), 535–539. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00020-5)
- Morita, T., Ogawa, Y., Takada, K., Nishinoue, N., Sasaki, Y., Motohashi, M., & Maeno, M. (2009). Association between periodontal disease and metabolic syndrome. *Journal of Public Health Dentistry*, 69(4), 248–253. <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2009.00130.x>
- Moura, C., Moraes, G. G. de, Bittencourt, M. da S. P., & Terezan, M. L. F. (2011). A influência do tratamento periodontal não cirúrgico sobre as células brancas e vermelhas do sangue de pacientes portadores de periodontite crônica generalizada. *Revista Periodontia*, 21(1), 20–26.
- Nepomuceno, R., Pigossi, S. C., Finoti, L. S., Orrico, S. R. P., Cirelli, J. A., Barros, S. P., ... Scarel-Caminaga, R. M. (2017). Serum lipid levels in patients with periodontal disease: A meta-analysis and meta-regression. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(12), 1192–1207. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12792>
- Nishida, Y., Akaoka, I., Nishizawa, T., Maruki, M., & Maruki, K. (1977). Hyperlipidaemia in patients with down's syndrome. *Atherosclerosis*, 26(3), 369–372. [https://doi.org/10.1016/0021-9150\(77\)90090-9](https://doi.org/10.1016/0021-9150(77)90090-9)
- Nuernberg, M. A. A., Ivanaga, C. A., Haas, A. N., Aranega, A. M., Casarin, R. C. V., Caminaga, R. M. S., ... Theodoro, L. H. (2019). Periodontal status of individuals with Down syndrome: sociodemographic, behavioural and family perception influence. *Journal of Intellectual Disability Research*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/jir.12629>
- O'Neill, F., Riwanto, M., Charakida, M., Colin, S., Manz, J., McLoughlin, E., ... Deanfield, J. (2015). Structural and functional changes in HDL with low grade and chronic inflammation. *International Journal of Cardiology*, 188, 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.03.058>
- Pham, T. (2018). The association between periodontal disease severity and metabolic syndrome in Vietnamese patients. *International Journal of Dental Hygiene*, (May), 1–8. <https://doi.org/10.1111/idh.12350>
- Reuland-Bosma, W., van der Reijden, W. A., & van Winkelhoff, A. J. (2001). Absence of a specific subgingival microflora in adults with Down's syndrome. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(11), 1004–1009. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2001.281103.x>
- Rossi, L., Caruso, L., Galante A.P. (2015). Avaliação nutricional: Novas Perspectivas. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 642-646.
- Roubertoux, P. L., & Kerdelhué, B. (2006). Trisomy 21: From chromosomes to mental retardation. *Behavior Genetics*, 36(3), 346–354. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9052-0>
- Sakellari, D., Arapostathis, K. N., & Konstantinidis, A. (2005). Periodontal conditions and subgingival microflora in Down syndrome patients. A case-control study. *Journal of Clinical Periodontology*, 32(6), 684–690. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00737.x>
- Smith, A. R. da S. S., Santos, S. da S., Silva, R. C. da, & Alvarenga, M. L. (2017). Estado

- Nutricional de Crianças e Adolescentes com Síndrome de Down praticantes de judô. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*, 11(64), 410–419.
- Sociedade Brasileira de Diabetes. (2017). Conduta Terapêutica no Diabetes tipo 2: Algoritmo SBD 2017. *Sociedade Brasileira de Diabetes*, 2(January), 1–36. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31828f3c05>
- Sousa, De RCC; Giovani, E. (2018). Periodontal conditions associated with hiposalivation in patients with Down syndrome. *Odontologia*, 20(1), 77–87. <https://doi.org/10.29166/odontolog>
- Sun, H. Y., Jiang, H., Du, M. Q., Wang, X., Feng, X. P., Hu, D. Y., ... Tai, B. J. (2018). The Prevalence and Associated Factors of Periodontal Disease among 35 to 44-year-old Chinese Adults in the 4th National Oral Health Survey. *Chinese Journal of Dental Research*, 21(4), 241–247. <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.a41082>
- van de Wiel, B., van Loon, M., Reuland, W., & Bruers, J. (2018). Periodontal disease in Down's syndrome patients. A retrospective study. *Special Care in Dentistry*, 38(5), 299–306. <https://doi.org/10.1111/scd.12314>
- Wilcock, D. M., Schmitt, F. A., & Head, E. (2016). Cerebrovascular contributions to aging and Alzheimer's disease in Down syndrome. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 909–914. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.11.007>
- World Health Organization - WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva. WHO, 1995.
- World Health Organization - WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva. WHO, 1998.
- Zacharopoulou, V., Zacharopoulou, G., Karkoulas, K., Tsampalas, E., & Lazakidou, A. (2017). Atherosclerosis as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *Hellenic Atherosclerosis Society*, 8(1), 18–27.
- Zigmond, M., Stabholz, A., Shapira, J., Bachrach, G., Chaushu, G., Becker, A., ... Chaushu, S. (2006). The outcome of a preventive dental care programme on the prevalence of localized aggressive periodontitis in Down's syndrome individuals. *Journal of Intellectual Disability Research*, 50(7), 492–500. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.2006.00794.x>

Tabela 1. Distribuição das variáveis de caracterização geral da amostra

Variáveis	n	(%)
Sexo		
Masculino	22	(44.9)
Feminino	27	(55.1)
Faixa etária		
Até 19 anos	17	(34.7)
20 a 29 anos	18	(36.7)
30 anos ou mais	14	(28.6)
Cor da pele		
Branco	14	(28.6)
Negro	2	(4.1)
Pardo	33	(67.3)
Renda familiar		
Até 1 salário mínimo	14	(28.6)
Maior que 1 até 3 salários mínimos	28	(57.1)
Maior que 3 salários mínimos	7	(14.3)
Escolaridade do cuidador		
Analfabeto	4	(8.2)
Até Ensino Fundamental	19	(38.8)
Até Ensino Médio	21	(42.8)
Ensino Superior	5	(10.2)

Tabela 2. Análise descritiva das variáveis referentes a condição periodontal e higiene bucal

Variáveis	Média $\pm$ dp	Med [IIQ]	n (%)
IPV	54.6 $\pm$ 35.8	51.3 [20.7-90.3]	
ISG	42.4 $\pm$ 33.3	32.7 [13.3-73.8]	
% de sítios NIC $\geq$3mm	32.1 $\pm$ 22.4	25.5 [14.5-85.2]	
% de sítios NIC $\geq$4mm	8.7 $\pm$ 13.1	2.3 [0.6-12.5]	
% de sítios PS $\geq$4mm	7.5 $\pm$ 11.2	1.7 [0-10.8]	
% de sítios PS $\geq$5mm	4.0 $\pm$ 6.9	0 [0-5.1]	
Presença de sítio com			
NIC $\geq$ 3mm			49 (100)
NIC $\geq$ 4mm			37 (75,5)
PS $\geq$ 4mm			35 (71,4)
PS $\geq$ 5mm			23 (46,9)
Doença periodontal (CDC-AAP)			
Sem periodontite			1 (2.0)
Periodontite leve			17 (34,7)
Periodontite moderada			19 (38,8)
Periodontite grave			12 (24,5)
Frequência de escovação dental			
1 a 2 vezes			17 (34,7)
3 ou mais vezes			32 (65,3)
Uso diário de fio ou fita dental			
Sim			4 (8,2)
Não			45 (91,8)
Sangramento gengival durante escovação dentária			
Sim			23 (46,9)
Não			26 (53,1)

IPV = índice de placa visível. ISG = índice de sangramento gengival. NIC = nível de inserção clínica. PS = profundidade de sondagem. CDC-AAP = Centers for Disease Control/ American Academy of Periodontology.

Tabela 3. Análise comparativa dos componentes da condição metabólica de acordo com o grau de comprometimento periodontal

Variáveis	Periodontite		P
	Sem/ Leve	Moderada/ Grave	
	Med [IIQ]	Med IIQ]	
Dados antropométricas			
IMC (kg/m²)	25.1 [23.2-26.8]	25.0 [23.2-30.6]	0.469
PCT (mm)	27.3 [18.7-33.5]	27.0 [22.6-31.3]	0.603
CB (cm)	28.0 [27.0-29.0]	28.2 [27.0-31.0]	0.362
CMB (cm)	18.8 [17.4-21.4]	20.1 [18.7-21.7]	0.240
CP (cm)	39.0 [32.0-48.0]	36.5 [33.0-39.0]	0.207
CC (cm)	85.2 [80.7-91.5]	85.2 [79.0-92.0]	0.727
CQ (cm)	93.7 [89.5-99.1]	96.0 [89.8-103.0]	0.435
Pressão arterial (mmHg)			
Diastólica	73 [60-80]	78 [63-84]	0.280
Sistólica	107 [99-119]	110 [104-126]	0.345
Variáveis séricas			
Colesterol Total (mg/dL)	170.5 [158.0-192.0]	160.0 [136.0-173.0]	0.112
HDL (mg/dL)	51.5 [40.0-57.0]	44.0 [39.0-50.0]	0.064
LDL (mg/dL)	92.0 [84.0-109.0]	90.0 [72.0-98.0]	0.294
Triglicérides (mg/dL)	110.0 [72.0-166.0]	111.0 [91.0-155.0]	0.868
Glicemia em jejum (mg/dL)	86.5 [78.0-96.0]	82.0 [76.0-88.0]	0.383
Insulina (µU/mL)	17.4 [7.4-22.3]	8.4 [6.4-18.5]	0.114
Eritrócito (mm³)	4.6 [4.5-5.0]	4.4 [4.2-4.8]	0.066
Hemoglobina (g/dL)	14.0 [13.5-15.6]	14.8 [13.9-15.9]	0.209
Hematócrito (%)	40.7 [39.3-45.4]	43.0 [41.0-45.4]	0.155
Plaquetas (1000/mm³)	295.5 [237.0-330.0]	168.0 [213.0-313.0]	0.225
Leucócitos (1000/mm³)	6.0 [5.4-6.9]	5.7 [4.7-6.6]	0.319
Neutrófilo (1000/mm³)	2.8 [2.4-3.7]	2.8 [2.2-3.6]	0.740
HCM (pg)	29.1 [28.0-31.1]	32.5 [31.3-33.8]	<0.001*
VCM (fL)	86.3 [84.4-89.8]	94.8 [91.9-98.3]	<0.001*

IMC = índice de massa corporal. PCT = prega cutânea do tríceps. CB = circunferência do braço. CMB = circunferência muscular do braço. CP = perímetro da panturrilha. CC = perímetro da cintura. CQ = perímetro do quadril. VCM = volume corpuscular médio. HCM = hemoglobina corpuscular média.

*Diferenças estatisticamente significantes (P < 0,05).

Table 4. Análise de correlação entre os parâmetros periodontal e marcadores da condição metabólica

Variáveis	IPV	ISS	% NIC ≥3mm	% NIC ≥4mm	% PS ≥4mm	% PS ≥5mm
Dados antropométricos						
IMC (kg/m ²)	R = -0.066 P = 0.656	R = -0.043 P = 0.768	R = -0.075 P = 0.608	R = 0.044 P = 0.764	R = -0.066 P = 0.653	R = -0.079 P = 0.589
PCT (mm)	R = 0.023 P = 0.656	R = 0.114 P = 0.459	R = 0.043 P = 0.777	R = -0.004 P = 0.975	R = -0.074 P = 0.628	R = -0.026 P = 0.865
PCT percentil	R = 0.045 P = 0.768	R = 0.058 P = 0.705	R = 0.023 P = 0.880	R = -0.036 P = 0.812	R = -0.117 P = 0.446	R = -0.036 P = 0.814
CB (cm)	R = -0.012 P = 0.934	R = -0.058 P = 0.697	R = -0.031 P = 0.836	R = 0.034 P = 0.819	R = -0.113 P = 0.446	R = -0.121 P = 0.414
CB percentil	R = -0.280 P = 0.056	R = -0.387 P = 0.007	R = -0.307 P = 0.035	R = -0.354 P = 0.014	R = -0.434 P = 0.002	R = -0.446 P = 0.001*
CMB (cm)	R = -0.060 P = 0.691	R = -0.142 P = 0.350	R = -0.021 P = 0.890	R = 0.031 P = 0.875	R = -0.072 P = 0.637	R = -0.125 P = 0.411
CMB adequada	R = -0.311 P = 0.037	R = -0.430 P = 0.003	R = -0.225 P = 0.136	R = -0.272 P = 0.069	R = -0.295 P = 0.048	R = -0.396 P = 0.007*
CP (cm)	R = -0.116 P = 0.492	R = -0.190 P = 0.258	R = -0.171 P = 0.309	R = -0.090 P = 0.594	R = -0.215 P = 0.199	R = -0.181 P = 0.282
CC (cm)	R = -0.106 P = 0.500	R = -0.158 P = 0.315	R = -0.135 P = 0.391	R = -0.102 P = 0.520	R = -0.183 P = 0.245	R = -0.160 P = 0.309
CQ (cm)	R = -0.118 P = 0.454	R = -0.058 P = 0.713	R = -0.002 P = 0.987	R = 0.003 P = 0.981	R = -0.089 P = 0.571	R = -0.117 P = 0.460
Razão CC/CQ	R = -0.097 P = 0.538	R = -0.190 P = 0.226	R = -0.199 P = 0.206	R = -0.242 P = 0.122	R = 0.221 P = 0.159	R = -0.135 P = 0.391
Variáveis séricas						
Coolesterol Total (mg/dL)	R = -0.185 P = 0.206	R = -0.146 P = 0.314	R = -0.139 P = 0.339	R = -0.194 P = 0.179	R = -0.212 P = 0.143	R = -0.195 P = 0.178
HDL (mg/dL)	R = -0.288 P = 0.046	R = -0.208 P = 0.149	R = -0.303 P = 0.033	R = -0.250 P = 0.082	R = -0.256 P = 0.075	R = -0.192 P = 0.186
LDL (mg/dL)	R = -0.093 P = 0.526	R = -0.122 P = 0.401	R = -0.066 P = 0.649	R = -0.135 P = 0.352	R = -0.146 P = 0.305	R = -0.126 P = 0.385
Triglicérides (mg/dL)	R = -0.135 P = 0.359	R = 0.023 P = 0.873	R = 0.016 P = 0.908	R = -0.006 P = 0.965	R = -0.035 P = 0.811	R = -0.100 P = 0.493
Glicemia em jejum (mg/dL)	R = 0.150 P = 0.307	R = 0.177 P = 0.222	R = 0.119 P = 0.412	R = 0.021 P = 0.881	R = -0.015 P = 0.917	R = 0.103 P = 0.480
Insulina (μU/mL)	R = -0.134 P = 0.361	R = -0.014 P = 0.920	R = -0.233 P = 0.106	R = 0.150 P = 0.300	R = -0.144 P = 0.322	R = -0.053 P = 0.715
Eritrócito (mm ³)	R = -0.077 P = 0.600	R = -0.155 P = 0.286	R = -0.120 P = 0.408	R = -0.118 P = 0.417	R = -0.197 P = 0.173	R = -0.108 P = 0.459
Hemoglobina (g/dL)	R = 0.231 P = 0.114	R = 0.224 P = 0.121	R = 0.236 P = 0.101	R = 0.352 P = 0.012	R = 0.280 P = 0.050	R = -0.234 P = 0.104
Hematócrito (%)	R = 0.136 P = 0.356	R = 0.108 P = 0.456	R = 0.116 P = 0.424	R = 0.267 P = 0.063	R = 0.158 P = 0.276	R = 0.128 P = 0.379
Plaquetas (1000/mm ³)	R = -0.222 P = 0.127	R = -0.260 P = 0.070	R = -0.028 P = 0.846	R = -0.222 P = 0.124	R = -0.246 P = 0.088	R = -0.236 P = 0.102
Leucócitos (1000/mm ³)	R = -0.254 P = 0.080	R = -0.014 P = 0.920	R = 0.045 P = 0.756	R = -0.116 P = 0.426	R = -0.116 P = 0.427	R = -0.088 P = 0.547
Neutrófilo (1000/mm ³)	R = -0.201 P = 0.168	R = -0.053 P = 0.713	R = 0.097 P = 0.503	R = -0.045 P = 0.758	R = -0.079 P = 0.586	R = -0.030 P = 0.835
HCM (pg)	R = 0.295 P = 0.041	R = 0.415 P = 0.003	R = 0.408 P = 0.003*	R = 0.507 P < 0.001	R = 0.481 P < 0.001	R = 0.385 P = 0.006
VCM (fL)	R = 0.214 P = 0.144	R = 0.345 P = 0.014	R = 0.319 P = 0.025	R = 0.412 P = 0.003	R = 0.374 P = 0.008	R = 0.284 P = 0.047

R = coeficiente de correlação de Spearman. Correlações estatisticamente significantes estão sinalizadas em negrito.

3. CAPÍTULO II

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

Ma. Monique Mouchrek (Orcid ID: 0000-0001-9860-6972)

Prof. Sueli da Conceição (Orcid ID: 0000-0001-6773-2888)

Prof. Vandilson Rodrigues (Orcid ID: 0000-0002-6785-7864)

Prof. Bruno Benatti (Orcid ID: 0000-0002-2080-2217)

Tipo de artigo: Artigo original - Periodontia clínica

Título: Níveis de citocinas no fluido crevicular gengival e sua associação com parâmetros periodontais de indivíduos com Síndrome de Down. Estudo caso-controle.

Título resumido: Níveis de citocinas e doença periodontal na Síndrome de Down

Autores: Monique Maria Melo Mouchrek¹, Sueli Ismael Oliveira da Conceição², Vandilson Pinheiro Rodrigues¹, Bruno Braga Benatti¹

¹ Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

Correspondência:

Monique Maria Melo Mouchrek, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Avenida dos Portugueses, s/n, Campus Universitário do Bacanga, CEP: 65.085-580, São Luís, MA, Brazil. Fax: +55 98 33018572.

Email: moniquemouchrek@yahoo.com.br

Declaração de conflito de interesse e fontes de financiamento

Os autores declaram que não possuem conflito de interesse. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e desenvolvimento científico do Maranhão (FAPEMA), Brasil. Número de financiamento: 155225/2017 e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – PROCAD AMAZONIA: 88881.342874/2019-01.

RESUMO

Objetivo: avaliar os níveis das citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α e IFN- γ no fluido crevicular gengival (FCG) de pessoas com Síndrome de Down (SD), em sítios periodontais e analisar sua relação com os parâmetros clínicos periodontais.

Materiais e métodos: Estudo de caso-controle, realizado na Universidade Federal do Maranhão, com 48 indivíduos com SD e 32 indivíduos sem síndrome. Os participantes foram submetidos à exame periodontal com mensuração de profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), índice de sangramento gengival (ISG) e índice de placa visível (IPV). Os sítios foram classificados em leve, moderado e severo. Foi realizada a coleta do FCG em todos os sítios rasos e, quando presentes, nos sítios médios e profundos, para análise do nível de citocinas. As citocinas IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α e IFN- γ foram quantificadas usando o sistema analisador automático Luminex®. Os dados foram analisados pelo teste Shapiro-Wilk para normalidade da distribuição das variáveis contínuas, pelo teste Qui-quadrado ou exato de Fisher para análise comparativa das variáveis categóricas e Mann-Whitney para a análise comparativa das variáveis contínuas entre os grupos de estudo.

Resultados: Grupo com SD apresentou maior gravidade de doença periodontal, com periodontite moderada e grave, respectivamente em 38,8% e 24,5% dos indivíduos, enquanto os controles representaram 28,1% e 12,5% nas mesmas categorias do grupo. Além disso apresentou concentrações estatisticamente mais elevadas de IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4, IL-6 no FCG quando comparado ao grupo controle. Quando avaliadas separadamente de acordo com a PS, observamos uma concentração mais elevada de IFN- γ , IL-17a, IL-1 β e IL-6 em bolsas rasas e de IL-17a, IL-1 β e IL-6 em bolsas profundas nos indivíduos síndrômicos. O grupo com SD mostrou correlação direta significativa da IL-1 β e inversa da IFN- γ e IL-14 com todos os parâmetros periodontais.

Conclusão: Pudemos observar que indivíduos com SD possuem maior comprometimento periodontal e maiores níveis de citocinas no FCG, mesmo em sítios com parâmetros clínicos periodontais similares a indivíduos não síndrômicos. Esses dados reforçam o conceito de uma resposta imune alterada e menos efetiva nessa população frente ao desafio microbiano periodontal.

Descritores: Doenças periodontais; Síndrome de Down; Citocinas; Fluido crevicular gengival.

ABSTRACT

Aim: to evaluate the levels of cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α and IFN- γ in gingival crevicular fluid (GCF) of people with Down Syndrome (DS), in periodontal sites and analyze its relationship with periodontal clinical parameters.

Materials and methods: Case-control study, carried out at the Federal University of Maranhão, with 48 individuals with DS and 32 individuals without syndrome. Participants underwent periodontal examination with measurement of probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), gingival bleeding index (GBI) and visible plaque index (VPI). The sites were classified as mild, moderate and severe. The collection of GCF was performed in all light sites and, when present, in moderate and severe sites, for analysis of the level of cytokines. The cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α and IFN- γ were quantified using the automated Luminex® analyzer system. Data were analyzed using the Shapiro-Wilk test for normal distribution of continuous variables, the Chi-square test or Fisher's exact test for comparative analysis of categorical variables and Mann-Whitney for comparative analysis of continuous variables between study groups.

Results: Group with DS presented greater severity of periodontal disease, with moderate and severe periodontitis, respectively in 38.8% and 24.5% of the individuals, while the controls represented 28.1% and 12.5% in the same categories of the group. In addition, it showed statistically higher concentrations of IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4, IL-6 in the GCF when compared to the control group. When evaluated separately according to PD, we observed a higher concentration of IFN- γ , IL-17a, IL-1 β and IL-6 in shallow pockets and of IL-17a, IL-1 β and IL-6 in deep pockets in the syndromic individuals. The DS group showed a significant direct correlation between IL-1 β and an inverse correlation between IFN- γ and IL-14 with all periodontal parameters.

Conclusions: We were able to observe that individuals with DS have higher periodontal involvement, which can be partly explained by higher levels of cytokines in the GCF, even in sites with periodontal clinical parameters similar to non-syndromic individuals. These data reinforce the concept of an altered and less effective immune response in this population in the face of the periodontal microbial challenge.

Keywords: Periodontitis; Down syndrome; Cytokines; Gingival crevicular fluid.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Fundamentação científica do estudo: Evidências têm mostrado que indivíduos com Síndrome de Down (SD) apresentam alta prevalência de doença periodontal (DP), sendo a resposta imuno-inflamatória apontada como a principal responsável pela patogênese da DP nessa população. A DP e o aumento no nível de citocinas, proveniente dessa doença, podem representar um fator de risco impactando na saúde sistêmica desse indivíduo. Assim, esse estudo investiga a relação entre os níveis de citocinas e os parâmetros periodontais em indivíduos com SD.

Principais conclusões: Indivíduos com SD mostram maior comprometimento periodontal, relacionado a maiores níveis de citocinas inflamatórias mesmo em sítios em com parâmetros clínicos similares a indivíduos não sindrômicos.

Implicações práticas: A intervenção odontológica preventiva e curativa da DP pode resultar em diminuição da resposta imuno-inflamatória alterada impactando positivamente na saúde sistêmica dos indivíduos com SD.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma doença infecciosa caracterizada pelo colapso inflamatório dos tecidos moles e duros (Becerik et al., 2012). A persistência do biofilme microbiano e a íntima proximidade com os tecidos periodontais, induzem a um estímulo antigênico constante. (Lima & Lara, 2013). Os antígenos, lipopolissacarídeos e outros fatores dos microorganismos são estimuladores potentes dos mediadores inflamatórios do hospedeiro. Estes mediadores inflamatórios são associados à destruição do tecido (Liu et al., 2010) e reabsorção óssea (Vasconcelos et al., 2016) e são representados principalmente por citocinas pró-inflamatórias [fator de necrose tumoral (TNF)- α , interferon (IFN)- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12 e IL-17] e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10 e IL-1 antagonista) (Duarte et al., 2015). As citocinas, proteínas solúveis que se ligam a receptores específicos nas células-alvo, iniciam cascatas de sinalização intracelular e desempenham papéis importantes na resposta da fase aguda, que é uma reação de defesa primária do organismo (Liu et al., 2010).

A presença de periodontopatógenos, o principal agente etiológico da DP, é necessária, mas não mostra ser suficiente para a progressão da doença, a qual depende também do sistema imunológico do hospedeiro (Becerik et al., 2012). A prevalência e a gravidade da inflamação gengival podem aumentar mesmo na presença de baixos níveis de placa, mostrando que a resposta imuno-inflamatória desempenha um papel importante na patogênese da DP na população com SD. (López-perez et al., 2002)

A avaliação da resposta imuno-inflamatória pode ser realizada pela identificação de biomarcadores, os quais, de acordo com o Grupo de Trabalho sobre Definições de Biomarcadores do Instituto Nacional de Saúde, correspondem a indicadores de processos biológicos normais, processos patogênicos ou resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica (Atkinson et al., 2001). A busca de biomarcadores no fluido crevicular gengival (FCG) tornou-se importante devido ao seu potencial de diagnóstico ou prognóstico do periodonto na saúde e na doença, identificando grupos de pacientes de alto e baixo risco em relação à atividade e progressão da DP. (Kurdukar et al., 2015). O FCG tem sido extensivamente investigado pois apresenta uma rica variedade de moléculas celulares e bioquímicas associadas à atividade da doença (Shimada et al., 2013), podendo ser encontrado enzimas derivadas do hospedeiro e seus inibidores, mediadores inflamatórios e modificadores da resposta do hospedeiro e produtos de decomposição de tecidos (Kurdukar et al., 2015). O

FCG permite uma coleta não invasiva e de fácil realização para analisar, in vivo, os mediadores inflamatórios liberados durante os processos da DP (Teles et al., 2011).

Estudos que avaliaram biomarcadores no FCG de indivíduo com SD encontraram níveis maiores de metaloproteinases (Tsilingaridis et al., 2014) (Halinen et al., 1996; Tsilingaridis et al., 2003; Yamazaki-Kubota et al., 2010), de prostaglandina E2 (Tsilingaridis et al., 2003; Barr-Agholme et al., 1997), leucotrieno B4 (Tsilingaridis et al., 2003) e citocinas pró-inflamatórias (Tsilingaridis et al., 2012), no entanto, poucos estudos avaliaram a expressão das citocinas no FCG de indivíduos com SD e sua correlação com os sinais clínicos da doença, podendo esta ser uma importante forma de avaliação da sua produção, atuação e reflexo quanto ao desenvolvimento e progressão da DP.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis de citocinas (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17a, TNF- α e IFN- γ) no FCG e analisar como essas moléculas se apresentam em sítios saudáveis e com periodontite em pessoas com e sem SD e correlacionar esses níveis com os parâmetros clínicos periodontais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

É um estudo tipo caso-controle realizado na cidade de São Luís, Maranhão, Brasil, entre os meses de Janeiro de 2018 e Março de 2019. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, sob o parecer de número 2.530.036. O estudo foi composto por dois grupos, um grupo de indivíduos com SD e um grupo controle formado por indivíduos sem SD. Todos os participantes e seus responsáveis legais (quando requerido) foram informados sobre os objetivos e métodos do estudo e assinaram o termo de consentimento informado.

População

Pacientes com Síndrome de Down e sem síndrome, de ambos os gêneros, com qualquer etnia e idade acima de 6 anos foram incluídos no estudo. A coleta dos dados foi realizada na clínica odontológica do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Os critérios de exclusão utilizados foram: indivíduos fumantes ou ex-fumantes que pararam de fumar em um período de menos de 10 anos, indivíduos usuários de aparelho ortodôntico, indivíduos que foram submetidos a tratamento periodontal nos últimos seis meses,

gestantes e indivíduos com história de antibioticoterapia, uso de antiinflamatórios e/ou de imunossupressores nos últimos 3 meses.

Um total de cinquenta e oito pacientes com SD foi recrutado na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), no hospital de referência em atendimento odontológico a pacientes com deficiência da rede pública de São Luís do Maranhão e em escolas com ensino educacional para pessoas com deficiência. Após o andamento da pesquisa, sete pacientes foram perdidos por indisponibilidade ou não interesse do responsável em continuar no estudo e dois pacientes por não colaborarem com o atendimento odontológico. Assim, o tamanho final da amostra do grupo com SD foi composto por quarenta e nove indivíduos.

Já o grupo de participantes sem SD foi composto por trinta e quatro indivíduos recrutados nas clínicas odontológicas do curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão. Durante o andamento da pesquisa dois pacientes não estiveram presentes em todas as fases de coleta, dessa forma, o tamanho final da amostra do grupo controle foi composto por trinta e dois indivíduos sem SD.

Os pacientes e os responsáveis dos pacientes com SD responderam a um questionário que abordou dados sócio-demográficos, condições de vida, prática de higiene bucal e acesso aos cuidados odontológico.

Exame Clínico Periodontal

O exame periodontal foi realizado por um único examinador, previamente treinado (índice Kappa intra examinador 0,89), sob luz artificial, por meio de secagem prévia da região com jato de ar, e uso de uma sonda periodontal milimetrada do tipo Carolina do Norte (Golgran®/ Brasil), espelho plano e pinça clínica devidamente esterilizados.

Os dentes presentes foram avaliados por meio da padronização em seis locais (disto-vestibular, vestibular, mésio-vestibular, disto-lingual, lingual e mésio-lingual). Os seguintes parâmetros foram registrados: índice de sangramento gengival (ISG) e índice de Placa Visível (IPV), estes índices avaliaram a presença ou ausência de inflamação ou placa em padrão binomial (dicotômico), da seguinte forma: sangramento de margem gengival e placa visível – escore 1 e ausência de sangramento e sem placa visível – escore 0 (Ainamo & Bay, 1975); profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC). A periodontite foi avaliada de acordo o CDC-AAP (Centers for Disease Control/American Academy of Periodontology), método que classifica em periodontite leve, moderada e severa (Eke et al., 2012).

Coleta de fluido

A coleta do fluido crevicular gengival foi realizada pelo método de absorção com cones de papel absorvente (marca Dentsply® #20, Tanariman Industrial Ltda, Vila Gertrudes, SP, Brasil). Após o isolamento relativo com algodão em rolete, o biofilme dental foi removido e os dentes secos com jato de ar. Os cones foram delicadamente introduzidos no sulco/bolsa periodontal até que se encontrasse uma pequena resistência. Após 15 segundos (Georgios Tsilingaridis et al., 2012) de inserção os cones foram removidos e acondicionados imediatamente e separadamente em Eppendorfs armazenados no gelo e em seguida as amostras foram congeladas a -80° até a realização da quantificação de citocinas por imunoensaio no Multiplex. Em cada paciente foram coletados três ou seis ou nove cones de papel, a depender da classificação que os sítios apresentavam. Se estivessem presentes apenas sítios considerados rasos (PS até 3mm) esse paciente teria três cones coletados em três sítios rasos. Se estivessem presentes sítios considerados rasos (PS até 3mm) e médios (PS de 4 a 6mm) esse paciente teria seis cones coletados, três em sítios rasos e três em sítios médios. Se estivessem presentes sítios considerados rasos (PS até 3mm), médios (PS de 4 a 6mm) e profundos (PS acima de 7mm) esse paciente teria nove cones coletados, três em sítios rasos, três em sítios médios e três em sítios profundos.

Luminex

Para análise no Luminex, as amostras de cada indivíduo foram agrupadas no mesmo eppendorf por classificação dos sítios (rasos, médios e profundos) e diluídas em 100 µl de solução tampão PBS e analisadas quanto à quantificação das citocinas IFN- γ , IL-17a, IL 1 β , IL-4, IL-6 e TNF- α em pg/ml. As concentrações foram medidas simultaneamente 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.

Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando os recursos do software SPSS versão 18.0 (IBM, Chicago, IL, USA). A estatística descritiva utilizou medidas de frequência, média e desvio-padrão. O teste Qui-quadrado ou exato de Fisher foi utilizado na análise comparativa das variáveis categóricas. A normalidade da distribuição das variáveis contínuas foi avaliada utilizando o teste Shapiro-Wilk. Após este procedimento o teste Mann-Whitney foi utilizado

para a análise comparativa das variáveis contínuas entre os grupos de estudo. A análise de correlação foi processada utilizando o coeficiente de correlação de Spearman. Os resultados foram apresentados em formato de tabela, gráfico Box-plot e Heat Map para a análise de correlação. Para todos os testes foi adotado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Um total de 81 pacientes (49 com SD e 32 controles) foram avaliados neste estudo. A Tabela 1 apresenta a análise comparativa das características gerais, de higiene bucal e condição periodontal entre os grupos. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de estudo para os dados demográficos. Observou-se que a frequência de uso de fio dental foi estatisticamente mais elevada no grupo controle ($P < 0.001$). Os dados revelaram uma frequência estatisticamente mais elevada de categoria de maior gravidade de doença periodontal no grupo com SD ($P < 0.001$), no qual periodontite moderada e grave foram observadas em, respectivamente 38,8% e 24,5% deste grupo, enquanto que entre os controles, as mesmas categorias representaram 28,1% e 12,5% do grupo. Observou-se, também, que o índice de placa visível foi estatisticamente mais elevado no grupo com SD ($P = 0.006$).

A análise revelou que o grupo com SD apresentou concentrações estatisticamente mais elevadas de IFN- γ ($P = 0.042$), IL-17a ($P < 0.001$), IL-1 β ($P = 0.001$), IL-4 ($P = 0.009$), IL-6 ($P = 0.012$) no FCG quando comparado ao grupo controle (Figura 1).

A Tabela 2 apresenta a análise comparativa do nível de citocina no FCG entre os grupos de acordo com a profundidade da sonda periodontal. Nos sítios rasos, o grupo com SD apresentou concentração mais elevada de IFN- γ ($P = 0.005$), IL-17a ($P < 0.001$), IL-1 β ($P = 0.008$) e IL-4 ($P < 0.001$). Nos sítios moderados, o grupo com SD apresentou concentração estatisticamente mais elevada apenas para IL-6 ($P = 0.016$). Enquanto que nos sítios profundos, o grupo com SD apresentou concentrações mais elevadas de IL-17a ($P = 0.019$), IL-1 β ($P = 0.018$) e IL-6 ($P = 0.019$).

A análise de correlação entre as citocinas e parâmetros periodontais nos grupos de estudo está expressa na Figura 2. No grupo com SD, observou-se correlações diretas significantes entre todas as citocinas no FCG (coeficiente positivo; $P < 0.05$), com exceção de IL-1 β , que apresentou concentração no FCG independente das demais citocinas. Ainda no grupo com SD, na análise de correlação entre citocinas e variáveis periodontais, observou-se que correlações inversas significantes entre IFN- γ e IL-4 com todas as variáveis periodontais (coeficiente negativo; $P < 0,05$). Além disso, observou-se correlações diretas entre o nível de

IL-1 β com todas as variáveis periodontais. Uma correlação inversa significativa foi detectada entre IL-6 e ISG.

A análise correlação para o grupo controle (Figura 2) também revelou concentração independente de IL-1 β com as demais citocinas. A citocinas TNF- α apresentou correlação direta com IFN- γ e IL-6. Enquanto que as demais citocinas apresentaram correlações diretas entre si. Já a análise entre citocinas e variáveis periodontais revelou que apenas IL-1 β apresentou correlações diretas significantes com as variáveis periodontais avaliadas, com exceção do ISG. E foi observada também correlações inversas significantes entre o ISG com as citocinas IL-6 e TNF- α .

DISCUSSÃO

Neste estudo, o grupo com SD mostrou maior gravidade da DP, maior índice de placa visível e níveis mais elevados das citocinas IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4 e IL-6 no FCG do que o grupo com indivíduos não sindrômico. Nossos achados corroboram com estudos que relatam maior prevalência da DP em pessoas com SD quando comparadas a pessoas sem SD (Carrada et al., 2016; Al Habashneh et al., 2012; Cutando-Soriano, Gomez-Moreno et al., 1998) ou também com outras deficiências (Khocht et al., 2011; Reuland-Bosma et al., 2001). No entanto, uma pior higiene oral parece não ser a única razão para explicar essa maior prevalência (Ferreira et al., 2016), indicando que a DP está relacionada ao comprometimento da resposta imunológica do hospedeiro (Reuland-Bosma et al., 2001).

A resposta inflamatória e imune a patógenos periodontais envolve um grupo de reações protetoras e prejudiciais, mediadas, dentre outros componentes moleculares, pelas citocinas (Jaedicke et al., 2016), biomarcadores que também são estabelecidos como indicadores de reabsorção óssea alveolar (Almehmadi & Alghamdi, 2018). Estudo de revisão e metanálise (Stadler et al., 2016) mostra maior quantidade de citocinas em FCG de pessoas com DP quando comparadas a pessoas sem a DP, assim como inúmeros estudos demonstram maiores níveis de citocinas no FCG de indivíduos com DP (Lavù et al., 2017; Baeza et al., 2016; Escalona et al., 2016; Kinney et al., 2014; Becerik et al., 2012; Konopka et al., 2012), sendo estas amplamente utilizadas como um método de avaliação da resposta imune do hospedeiro às doenças periodontais. No entanto, esses dados são escassos em pessoas com SD.

Neste estudo, os níveis das citocinas IFN- γ , IL-17a, IL-1 β , IL-4 e IL-6 no FCG de indivíduos com SD estavam mais elevados do que nos indivíduos não sindrômicos. Outros estudos que analisaram o FCG de indivíduos com SD observaram alteração na dinâmica do FCG de acordo com a gravidade da DP e maiores níveis de proteína inflamatória de macrófago

1 α e 1 β com forte relação com os parâmetros clínicos periodontais (Reddy et al., 2018). Além disso, foram encontrados maiores níveis de metaloproteinases da matriz (MMP)-3, MMP-8 e MMP-9 (Tsilingaridis et al., 2014), de MMP-2 e MMP-8 (Yamazaki-Kubota et al., 2010), de prostaglandina E2, leucotrieno B4 e MMP-9 (Tsilingaridis et al., 2003), indicados como possível consequência de anormalidades no sistema imunológico inato e adquirido no grupo com SD.

Estudos anteriores que avaliaram citocinas de forma semelhante ao nosso estudo, observaram maior volume de FCG e concentrações significativamente maiores de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IFN- γ e TNF- α no grupo de 24 indivíduos com SD comparados com 29 sem SD (Tsilingaridis et al., 2012), além de nenhuma diferença significativa no nível de IL-1 β quando comparados 19 indivíduos com SD com 19 sem SD (Barr-Agholme et al., 1997). Além da amostra populacional maior, nosso estudo avaliou os parâmetros clínicos em 6 sítios em cada dente, realizou a coleta de FCG em 3 sítios de cada nível (raso, médio e profundo) de acordo com a PS e coletou os dados clínicos de ISG, PS, IPV e NIC, diferentemente do estudo anterior que avaliou ISG e PS em 4 sítios por dente, incluiu no estudo apenas indivíduos com ISG menor que 50% e coletou o FCG nas mesiais dos dentes 16, 26, 36, 46, 41 e distal do 11 (Tsilingaridis et al., 2012).

Neste estudo, a coleta de FCG por níveis de PS permitiu uma comparação sítio a sítio, considerando os sítios leves, moderados e profundos entre os grupos caso e controle. Além de mostrar no grupo com SD um maior comprometimento periodontal relacionado à maiores níveis de citocinas no FCG, uma análise da resposta imunológica em sítios representativos de diferentes estágios da doença foi realizada. Pudemos observar que em condições clínicas similares, indivíduos com SD possuem maiores níveis de citocinas inflamatórias, tanto em sítios rasos quanto em sítios profundos, confirmando que esta resposta imunológica exacerbada ocorre desde os estágios iniciais da doença.

Estes níveis de citocinas significativamente mais elevados no grupo com SD, estão correlacionados com todos os parâmetros clínicos periodontais aqui avaliados, confirmando que são um bom parâmetro de avaliação de destruição dos tecidos periodontais nestes indivíduos. Na análise de correlação das citocinas entre si e das citocinas com os parâmetros periodontais, a IL-1 β mostra uma atuação independente das outras citocinas tanto no grupo caso quanto no controle, e por outro lado mostra uma correlação direta com todos os parâmetros clínicos periodontais no grupo com SD e quase todos no grupo controle. Nosso estudo reforça a associação entre a periodontite e a elevação da IL-1 β no FCG observada em outros estudos (Jentsch et al., 2017; Lavu et al., 2017; Escalona et al., 2016; Oh et al., 2015; Kinney et al.,

2014; Becerik et al., 2012; Konopka et al., 2012;) e também mostra a IL-1 β significativamente relacionada com os parâmetros clínicos da periodontite (Kaushik et al., 2011).

A IL-1 β em nível mais elevado tem sido associada com maiores chances de desenvolver a DP, atuando como um biomarcador de fator de risco para essa doença (Fitzsimmons et al., 2010), além de ser encontrada como um melhor marcador de inflamação do que os parâmetros de PS e ISG (Oh et al., 2015). É uma citocina pró-inflamatória que tem entre suas funções, durante a periodontite, o recrutamento de neutrófilos e a ativação de osteoclastos, além da ativação de células T e B durante infecções (Jaedicke et al., 2016). O excesso de IL-1 β é responsável pelo aumento do fluxo sanguíneo local, infiltração de neutrófilos e ativação da renovação do tecido conjuntivo através da estimulação da secreção de MMP de osteoclastos, fibroblastos e neutrófilos (Barksby et al., 2007). No que se refere aos indivíduos com SD, estudos apontam o aumento da expressão da IL-1 β no cérebro destes e respostas pró-inflamatórias também aumentadas, atuando como possível marcador de neuroinflamação, demência e risco de doença de Alzheimer nessa população (Griffin et al., 1998, 1989).

As citocinas IL-4 e IFN- γ no grupo SD, diferentemente do grupo controle, mostraram uma correlação inversa com todos os parâmetros clínicos da periodontite, se manifestando em menores níveis na presença de maiores IPV, ISG e PS. A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória que age equilibrando a ação de destruição das citocinas pró-inflamatórias. No indivíduo com SD, sua redução pode sugerir uma ação deficiente favorecendo a destruição periodontal. Já a citocina IFN- γ em alto nível aumenta a atividade fagocítica de monócitos e neutrófilos, o que ajuda a conter a infecção (Gemmell & Seymour, 2004), no entanto, a literatura não mostra um consenso em relação à sua presença no FCG, sendo observado um aumento (Shaddox et al., 2011) e diminuição (Zein Elabdeen et al., 2017) da IFN- γ em alguns estudos e nenhuma alteração em outros (Oliveira et al., 2012) (Thunell et al., 2010) quando comparados indivíduos com e sem DP.

Este é um dos poucos estudos que compara os níveis de citocinas inflamatórias no FCG e sua relação com os parâmetros clínicos periodontais em indivíduos com SD. Além disso, o uso do método de avaliação da periodontite de acordo com CDC-AAP, comparando sítio a sítio dos dentes, permitiu avaliar os níveis de citocinas nos diferentes grupos, porém em condições clínicas similares, avaliando desde os estágios iniciais da doença. Como limitação tem-se o tamanho da amostra devido aos desafios de recrutamento.

Em conclusão, indivíduos com SD demonstraram maior comprometimento periodontal do que indivíduos não sindrômicos, o que está relacionado com maiores níveis de citocinas inflamatórias no FCG, mesmo em sítios no mesmo estágio de acometimento periodontal que indivíduos sem a SD. Este achado reforça o conceito de uma resposta imune alterada e menos efetiva, exigindo maior atenção e prevenção do profissional cirurgião-dentista.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos trabalhadores dos centros de atendimento para pessoas com deficiência pelos seus cuidados, assistência e carinho com os pacientes e envolvidos na pesquisa. E também a todos os colaboradores e órgão financiador.

Referências

- Ainamo, J., & Bay, I. (1975). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal*, 25(4), 229–235.
- Al Habashneh, R., Al-Jundi, S., Khader, Y., & Nofel, N. (2012). Oral health status and reasons for not attending dental care among 12- to 16-year-old children with Down syndrome in special needs centres in Jordan. *International Journal of Dental Hygiene*, 10(4), 259–264. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2012.00545.x>
- Almehmadi, A. H., & Alghamdi, F. (2018). Biomarkers of alveolar bone resorption in gingival crevicular fluid: A systematic review. *Archives of Oral Biology*, 93(April), 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.05.004>
- Atkinson, A. J., Colburn, W. A., DeGruttola, V. G., DeMets, D. L., Downing, G. J., Hoth, D. F., ... Zeger, S. L. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 69(3), 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
- Baeza, M., Garrido, M., Hernández-Ríos, P., Dezerega, A., García-Sesnich, J., Strauss, F., ... Hernández, M. (2016). Diagnostic accuracy for apical and chronic periodontitis biomarkers in gingival crevicular fluid: An exploratory study. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(1), 34–45. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12479>
- Barksby, H. E., Lea, S. R., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clinical and Experimental Immunology*, 149(2), 217–225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2007.03441.x>
- Barr-Agholme, M., Krekmanova, L., Yucel-Lindberg, T., Shinoda, K., & Modéer, T. (1997). Prostaglandin E2 level in gingival crevicular fluid from patients with Down syndrome. *Acta Odontologica Scandinavica*, 55(2), 101–105. <https://doi.org/10.3109/00016359709115400>
- Becerik, S., Öztürk, V. Ö., Atmaca, H., Atilla, G., & Emingil, G. (2012). Gingival Crevicular Fluid and Plasma Acute-Phase Cytokine Levels in Different Periodontal Diseases. *Journal of Periodontology*, 83(10), 1304–1313. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.110616>
- Carrada, C. F., Scalioni, F. A. R., Cesar, D. E., Devito, K. L., Ribeiro, L. C., & Ribeiro, R. A. (2016). Salivary periodontopathic bacteria in children and adolescents with down syndrome. *PLoS ONE*, 11(10), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162988>
- Cutando-Soriano, A., Gomez-Moreno, G., & Bravo, M. (1998). Free interleukin-2 receptors in children with trisomy 21 (Down's syndrome) and different levels of periodontal disease. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 8(3), 177–180. <https://doi.org/10.1046/j.1365-263X.1998.00088.x>
- Duarte, P. M., Bastos, M. F., Fermiano, D., Rabelo, C. C., Perez-Chaparro, P. J., Figueiredo, L. C., ... Feres, M. (2015). Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. *Journal of Periodontal Research*, 50(1), 18–27. <https://doi.org/10.1111/jre.12180>
- Eke, P. I., Dye, B. A., Wei, L., Thornton-Evans, G. O., & Genco, R. J. (2012). Prevalence of

- periodontitis in adults in the united states: 2009 and 2010. *Journal of Dental Research*, 91(10), 914–920. <https://doi.org/10.1177/0022034512457373>
- Escalona, L. A., Mastromatteo-Alberga, P., & Correnti, M. (2016). Cytokine and metalloproteinases in gingival fluid from patients with chronic periodontitis. *Investigacion clinica*, 57(2), 131–142.
- Ferreira, R., Michel, R. C., Gregghi, S. L. A., De Resende, M. L. R., Sant’Ana, A. C. P., Damante, C. A., & Zangrando, M. S. R. (2016). Prevention and periodontal treatment in Down syndrome patients: A systematic review. *PLoS ONE*, 11(6), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158339>
- Fitzsimmons, T. R., Sanders, A. E., Bartold, P. M., & Slade, G. D. (2010). Local and systemic biomarkers in gingival crevicular fluid increase odds of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 37(1), 30–36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01506.x>
- Gemmell, E., & Seymour, G. J. (2004). Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 35, 21–41. <https://doi.org/10.1111/j.0906-6713.2004.003557.x>
- Griffin, W. S. T., Sheng, J. G., Mckenzie, J. E., Royston, M. C., Gentleman, S. M., Brumback, R. A., ... Mrak, R. E. (1998). Life-long overexpression of S100 β in Down’s syndrome: Implications for Alzheimer pathogenesis. *Neurobiology of Aging*, 19(5), 401–405. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(98\)00074-8](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(98)00074-8)
- Griffin, W. S. T., Stanley, L. C., Ling, C., White, L., MacLeod, V., Perrot, L. J., ... Araoz, C. (1989). Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86, 7611–7615. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.19.7611>
- Halinen, S., Sorsa, T., Ding, Y., Ingman, T., Salo, T., Kontinen, Y. T., & Saari, H. (1996). Characterization of Matrix Metalloproteinase (MMP-8 and -9) Activities in the Saliva and in Gingival Crevicular Fluid of Children With Down’s Syndrome. *Journal of Periodontology*, 67(8), 748–754. <https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.8.748>
- Jaedicke, K. M., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2016). Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 70(1), 164–183. <https://doi.org/10.1111/prd.12117>
- Jentsch, H. F. R., Arnold, N., Richter, V., Deschner, J., Kantyka, T., & Eick, S. (2017). Salivary, gingival crevicular fluid and serum levels of ghrelin and chemerin in patients with periodontitis and overweight. *Journal of Periodontal Research*, 52(6), 1050–1057. <https://doi.org/10.1111/jre.12476>
- Kaushik, R., Yeltiwar, R. K., & Pushpanshu, K. (2011). Salivary Interleukin-1 β Levels in Patients With Chronic Periodontitis Before and After Periodontal Phase I Therapy and Healthy Controls: A Case-Control Study. *Journal of Periodontology*, 82(9), 1353–1359. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.100472>
- Khocht, A., Heaney, K., Janal, M., & Turner, B. (2011). Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontitis in Down syndrome. *Journal of oral science*, 53(2), 193–202. <https://doi.org/10.2334/josnurd.53.193>
- Kinney, J. S., Morelli, T., Oh, M., Braun, T. M., Ramseier, C. A., Sugai, J. V., & Giannobile,

- W. V. (2014). Crevicular Fluid Biomarkers and Periodontal Disease Progression. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(2), 113–120.
- Konopka, Pietrzak, A., & Brzezińska-Błaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*, 47, 681–688. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01480.x>
- Kurdukar, P. A., Kurdukar, A. A., Mahale, S. A., Amol, D., & Beldar, M. (2015). Biomarkers in Gingival Crevicular Fluid. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(10), 104–109. <https://doi.org/10.9790/0853-14109104109>
- Lavu, V., Venkatesan, V., Venugopal, P., Lakkakula, B. V. K. S., Paul, S. F. D., Peria, K., & Rao, S. R. (2017). Clinical Relevance of Cytokines Gene Polymorphisms and Protein Levels in Gingival Cervical Fluid from Chronic Periodontitis Patients. *Iranian journal of immunology*, 14(1), 51–58.
- Lima, H., & Lara, V. (2013). Immunological aspects of inflammatory periodontal disease: involvement of mast cells. *UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e Saúde*, 15(3), 225–229.
- Liu, Y. C. G., Lerner, U. H., & Teng, Y. T. A. (2010). Cytokine responses against periodontal infection: Protective and destructive roles. *Periodontology 2000*, 52(1), 163–206. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00321.x>
- López-perez, R., Borges-Yáñez, S. A., Jiménez-García, G., & Maupomé, G. (2002). Oral hygiene, gingivitis, and periodontitis in persons with Down syndrome. *Special Care in Dentistry*, 22(6), 214–220.
- Oh, H., Hirano, J., Takai, H., & Ogata, Y. (2015). Effects of initial periodontal therapy on interleukin-1 β level in gingival crevicular fluid and clinical periodontal parameters. *Journal of Oral Science*, 57(2), 67–71. <https://doi.org/10.2334/josnusd.57.67>
- Oliveira, A., Faveri, M., Gursky, L., Mestnik, M., Feres, M., Haffajee, A., ... Teles, R. (2012). Effects of periodontal therapy on GCF cytokines in generalized aggressive periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(3), 295–302.
- Reddy, V. K., Kommineni, N. K., Padakandla, P., Togaru, H., Indupalli, J. P., & Nanga, S. P. (2018). Evaluation of Chemokines in the Gingival Crevicular Fluid of Children with Down Syndrome. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 11(4), 288–293. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1528>
- Reuland-Bosma, W., van der Reijden, W. A., & van Winkelhoff, A. J. (2001). Absence of a specific subgingival microflora in adults with Down's syndrome. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(11), 1004–1009. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2001.281103.x>
- Scalioni, F. A. R., Carrada, C. F., Martins, C. C., Ribeiro, R. A., & Paiva, S. M. (2018). Periodontal disease in patients with Down syndrome: A systematic review. *Journal of the American Dental Association*, 149(7), 628–639.e11. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.03.010>
- Shaddox, L. M., Wiedey, J., Calderon, N. L., Magnusson, I., Bimstein, E., Bidwell, J. A., ... Wallet, S. M. (2011). Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis. *Journal of Dental Research*, 90(9), 1140–1144.

<https://doi.org/10.1177/0022034511413928>

- Shimada, Y., Tabeta, K., Sugita, N., & Yoshie, H. (2013). Profiling biomarkers in gingival crevicular fluid using multiplex bead immunoassay. *Archives of Oral Biology*, 58(6), 724–730. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.11.012>
- Stadler, A. F., Angst, P. D. M., Arce, R. M., Gomes, S. C., Oppermann, R. V., & Susin, C. (2016). Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(9), 727–745. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12557>
- Teles, R., Sakellari, D., Teles, F., Konstantinidis, A., Kent, R., Socransky, S., & Haffajee, A. (2011). Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. *Journal of Periodontology*, 81(1), 89–98. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090397>
- Thunell, D., Tymkiw, K., Johnson, G., Joly, S., Burnell, K., Cavanaugh, J., ... Guthmiller, J. (2010). A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *Physiology & behavior*, 45(1), 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Tsilingaridis, G., Yucel-Lindberg, T., Concha Quezada, H., & Mod  r, T. (2014). The relationship between matrix metalloproteinases (MMP-3, -8, -9) in serum and peripheral lymphocytes (CD8+, CD56+) in Down syndrome children with gingivitis. *Journal of Periodontal Research*, 49(6), 742–750. <https://doi.org/10.1111/jre.12157>
- Tsilingaridis, Georgios, Yucel-Lindberg, T., & Mod  r, T. (2003). Enhanced levels of prostaglandin E2, leukotriene B4, and matrix metalloproteinase-9 in gingival crevicular fluid from patients with Down syndrome. *Acta Odontologica Scandinavica*, 61(3), 154–158. <https://doi.org/10.1080/00016350310002270>
- Tsilingaridis, Georgios, Yucel-Lindberg, T., & Mod  r, T. (2012). T-helper-related cytokines in gingival crevicular fluid from adolescents with Down syndrome. *Clinical Oral Investigations*, 16(1), 267–273. <https://doi.org/10.1007/s00784-010-0495-6>
- Vasconcelos, R. C., Costa, A. de L. L., Freitas, R. de A., Bezerra, B. A. do A., dos Santos, B. R. M., Pinto, L. P., & Gurgel, B. C. de V. (2016). Immunoexpression of HIF-1   and VEGF in periodontal disease and healthy gingival tissues. *Brazilian Dental Journal*, 27(2), 117–122. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201600533>
- Yamazaki-Kubota, T., Miyamoto, M., Sano, Y., Kusumoto, M., Yonezu, T., Sugita, K., ... Ishihara, K. (2010). Analysis of matrix metalloproteinase (MMP-8 and MMP-2) activity in gingival crevicular fluid from children with Down's syndrome. *Journal of Periodontal Research*, 45(2), 170–176. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01214.x>
- Zein Elabdeen, H. R., Mustafa, M., Ali, R., & Bolstad, A. I. (2017). Cytokine profile in gingival crevicular fluid and plasma of patients with aggressive periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 75(8), 616–622. <https://doi.org/10.1080/00016357.2017.1372623>

Tabela 1. Distribuição das variáveis de caracterização geral, higiene bucal e condição periodontal entre os grupos de estudo.

Variáveis	Síndrome de Down (n = 49)	Controle (n = 32)	P valor
Dados demográficos			
Idade [mean ±sd]	23.4 ±9.1	25.9 ±11.5	0.402
Sexo [n (%)]			0.185
Masculino	22 (44.9)	20 (62.5)	
Feminino	27 (55.1)	12 (37.5)	
Etnia [n (%)]			0.051
Branco	14 (28.6)	3 (9.4)	
Não-branco	35 (71.4)	29 (90.6)	
Renda Familiar [n (%)]			0.083
≤ 1 Salário mínimo	14 (28.6)	6 (19.3)	
Entre 1 a 3	28 (57.1)	14 (45.2)	
> 3	7 (14.3)	11 (35.5)	
Dados de Saúde Oral			
Escovação [n (%)]			0.386
< 3 vezes ao dia	17 (34.7)	15 (46.9)	
≥ 3 vezes ao dia	32 (65.3)	17 (53.1)	
Uso de fio dental [n (%)]			<0.001*
Sim	4 (8.2)	23 (71.9)	
Não	45 (91.8)	9 (28.1)	
Uso de enxaguatório bucal [n (%)]			1.000
Sim	10 (20.4)	6 (18.7)	
Não	39 (79.6)	26 (81.3)	
Uso de limpador de língua [n (%)]			1.000
Sim	3 (6.1)	2 (6.3)	
Não	46 (93.9)	30 (93.7)	
Atendimento Odontológico [n (%)]			0.080
Sim	41 (83.7)	31 (96.9)	
Não	8 (16.3)	1 (3.1)	
Orientação de Higiene Oral [n (%)]			0.680
Sim	37 (75.5)	22 (68.7)	
Não	12 (24.5)	10 (31.3)	
Condição Periodontal CDC/AAP [n (%)]			0.001*
Saudável	1 (2.0)	11 (34.4)	
Periodontite Leve	17 (34.7)	8 (25.0)	
Periodontite Moderada	19 (38.8)	9 (28.1)	
Periodontite Severa	12 (24.5)	4 (12.5)	
Parâmetros periodontais (média ±dp)			
IPV	54.4 ±36.0	30.0 ±19.2	0.006*
ISG	42.4 ±33.4	36.2 ±20.9	0.869
% sítios com PS ≥ 4 mm	7.4 ±11.3	3.3 ±4.9	0.167
% sítios com PS ≥ 5 mm	3.8 ±6.9	1.5 ±2.7	0.755
% sítios com NIC ≥ 4 mm	8.9 ±13.4	4.2 ±6.6	0.078
% sítios com NIC ≥ 5 mm	4.8 ±8.9	2.1 ±4.0	0.790

dp = desvio padrão. CDC/AAP = Center for Disease Control and Prevention/ American Academy of Periodontology. IPV = Índice de placa visível. ISG = Índice de sangramento gengival. PS = profundidade de sondagem. NIC = nível de inserção clínica. *Diferença estatisticamente significante (P valor < 0.05).

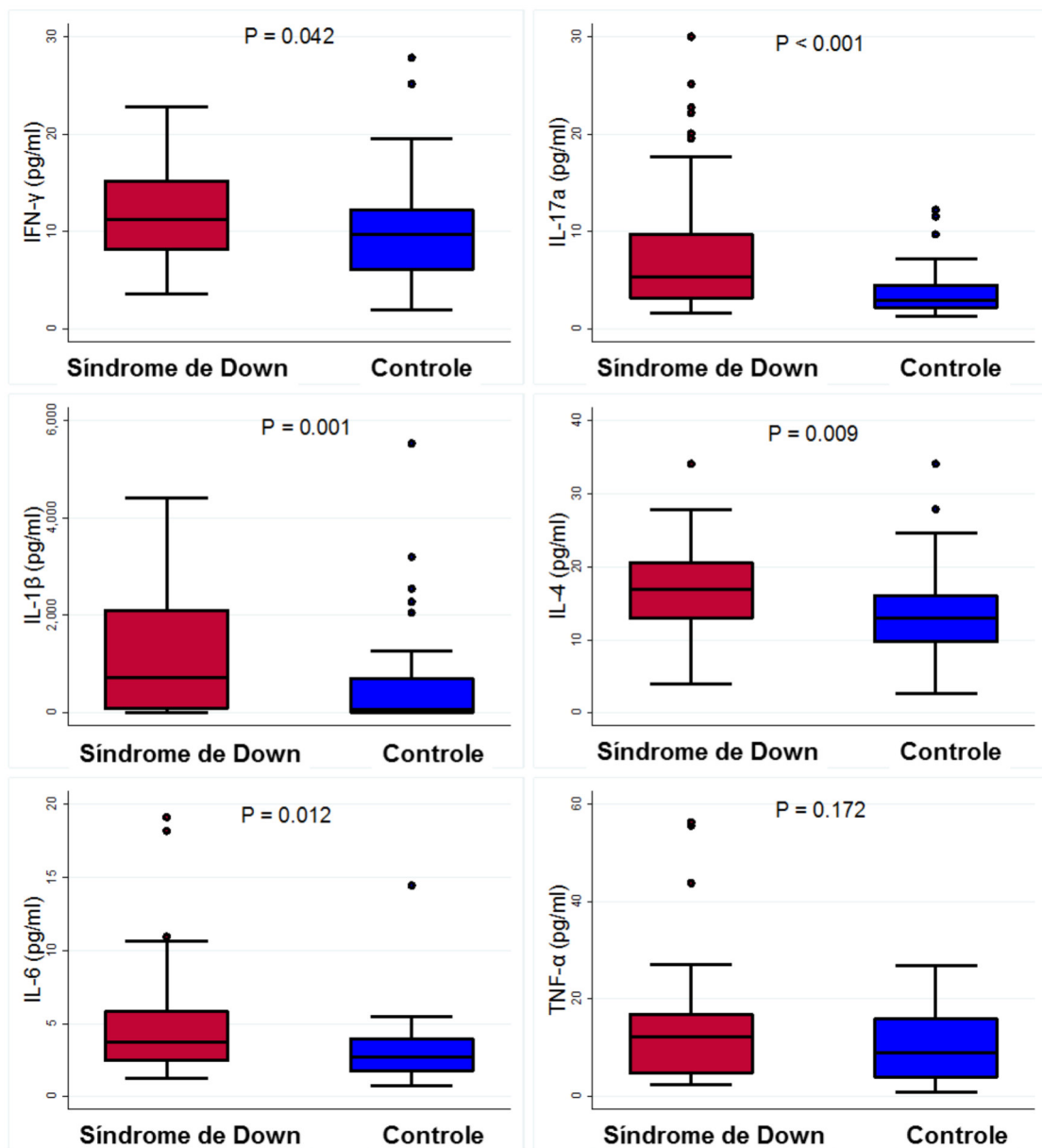


Figura 1. Análise comparativa do nível de citonas no FCG entre os grupos

Tabela 2. Análise comparativa da concentração citocinas no fluido crevicular gengival de acordo com a profundidade do sítio coletado.

Citocinas FCG	Sítios rasos (PS ≤ 3mm)		Sítios moderados (PS 4-6 mm)		Sítios profundos (PS ≥ 7 mm)	
	Síndrome Down	Controle	Síndrome Down	Controle	Síndrome Down	Controle
	Média ±dp	Média ±dp	Média ±dp	Média ±dp	Média ±dp	Média ±dp
IFN- γ (pg/ml)	14.29 ±17.41	9.92 ±5.60	13.05 ±5.60	12.01 ±6.45	15.21 ±2.52	10.95 ±11.70
	P = 0.005*		P = 0.328		P = 0.200	
IL-17a (pg/ml)	5.76 ±3.96	3.63 ±2.06	9.12 ±6.43	5.50 ±3.07	15.02 ±9.85	3.04 ±1.68
	P < 0.001*		P = 0.068		P = 0.019*	
IL-1 β (pg/ml)	736.8 ±961.1	395.2 ±1025.1	1639.9 ±1388.4	1036.7 ±1056.4	2573.7 ±1314.5	191.3 ±287.2
	P = 0.008*		P = 0.105		P = 0.018*	
IL-4 (pg/ml)	16.11 ±4.66	12.81 ±3.59	18.09 ±6.46	16.75 ±6.93	19.42 ±2.89	13.18 ±9.15
	P < 0.001*		P = 0.148		P = 0.232	
IL-6 (pg/ml)	3.38 ±1.54	3.31 ±2.57	4.95 ±3.29	3.03 ±1.06	8.39 ±5.45	2.36 ±1.50
	P = 0.145		P = 0.016*		P = 0.019*	
TNF- α (pg/ml)	13.62 ±10.23	12.21 ±7.26	15.67 ±13.34	10.57 ±5.98	26.09 ±20.37	5.74 ±4.79
	P = 0.893		P = 0.274		P = 0.055	

FCG = Fluido Crevicular Gengival. dp = desvio padrão. * Diferença estatisticamente significativa (P valor < 0.05).

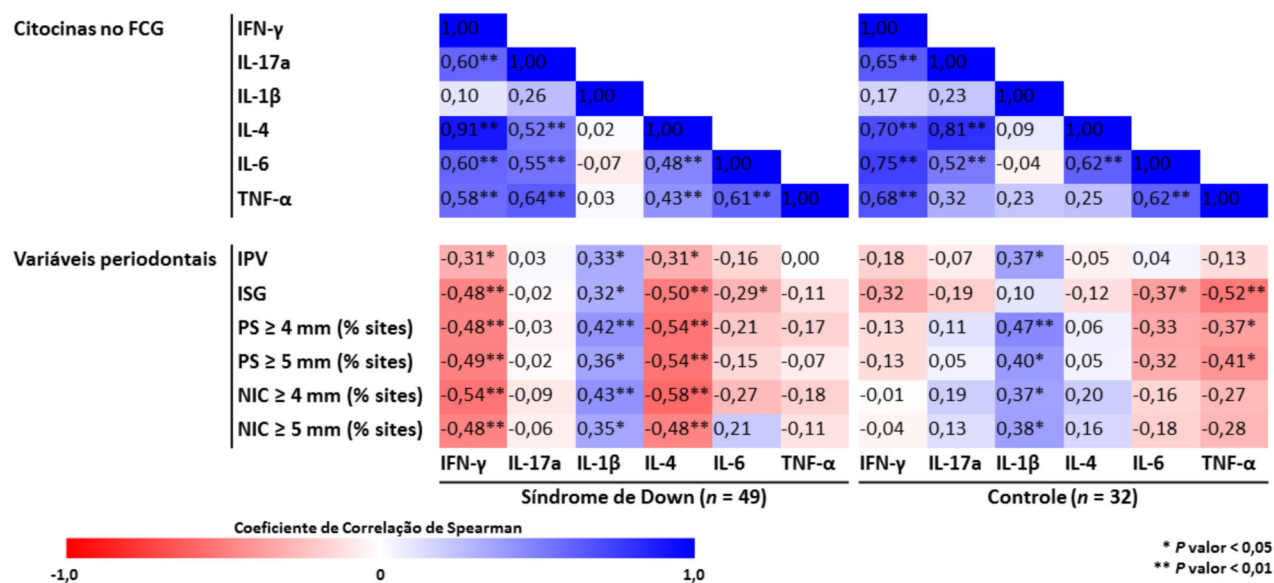


Figura 2. Mapa de calor exibindo Coeficiente de correlação de Spearman entre citocinas no FCG e parâmetros periodontais nos grupos de estudo. IPV = Índice de placa visível. ISG = Índice de sangramento gengival. PS = profundidade de sondagem. NIC = nível de inserção clínica.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos que buscam a relação da doença periodontal com a condição sistêmica dos pacientes têm tido cada vez mais importância para a prática clínica do cirurgião-dentista. As condições metabólicas, sistêmicas e deficiência na resposta imune do indivíduo com Síndrome de Down podem refletir de forma negativa nos tecidos periodontais, facilitando o desenvolvimento e progressão da doença periodontal. No entanto, os mecanismos que envolvem essa relação ainda precisam ser elucidados para maior compreensão e possíveis atuações frente à prevenção das doenças do periodonto nessa população.

No Capítulo I desta tese, verificou-se que indivíduos com Síndrome de Down apresentam alta prevalência de periodontite desde jovens e que a gravidade da doença periodontal se correlaciona com indicadores antropométricos e marcadores séricos. Já no Capítulo II, observou-se que indivíduos com Síndrome de Down demonstram maior comprometimento periodontal do que indivíduos não sindrômicos, mostrando relação com maiores níveis de citocinas inflamatórias no fluido crevicular gengival, sugerindo que indivíduos com esta síndrome possuem uma resposta imune alterada e menos efetiva.

REFERÊNCIAS

- AL HABASHNEH, R. et al. Oral health status and reasons for not attending dental care among 12- to 16-year-old children with Down syndrome in special needs centres in Jordan. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 10, n. 4, p. 259–264, 2012.
- ALMEIDA, Luciana Salles Branco de et al. Influência da IgA nas doenças periodontais. **Periodontia**, v. 17, n. 3, p. 30–34, 2008.
- ARMITAGE, Gary C. Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics : a 50-year perspective. **Periodontology** 2000, v. 62, p. 20–36, 2013.
- ASUA, Diego Real De et al. Research in Developmental Disabilities Evaluation of the impact of abdominal obesity on glucose and lipid metabolism disorders in adults with Down syndrome. **Research in Developmental Disabilities**, v. 35, p. 2942–2949, 2014.
- BARR-AGHOLME, Monica et al. Prostaglandin E2 level in gingival crevicular fluid from patients with Down syndrome. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 55, n. 2, p. 101–105, 1997.
- BECERIK, Sema et al. Gingival Crevicular Fluid and Plasma Acute-Phase Cytokine Levels in Different Periodontal Diseases. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 10, p. 1304–1313, 2012.
- BERMUDEZ, Beatriz Elizabeth Bagatin Veleza et al. Down syndrome: Prevalence and distribution of congenital heart disease in Brazil. **Sao Paulo Medical Journal**, v. 133, n. 6, p. 521–524, 2015.
- CAVALCANTE, Lícia Bezerra et al. Expression of the Interleukin-10 Signaling Pathway Genes in Individuals With Down Syndrome and Periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 7, p. 926–935, 2012.
- CHENG, Ronald H.W. et al. Oral health status of adults with Down syndrome in Hong Kong. **Special Care in Dentistry**, v. 27, n. 4, p. 134–138, 2007.
- CINTRA, Renata Maria Galvão De Campos; CAMARGO, Karina Fernandes. Perfil nutricional de pessoas com deficiência e a alta prevalência de obesidade em Síndrome de Down e na população feminina. **Revista Ciência em Extensão**, v. 14, n. 3, p. 9–21, 2018.
- CULEBRAS-ATIENZA, E; SILVESTRE, FJ; SILVESTRE-RANGIL, J. Possible association between obesity and periodontitis in patients with Down syndrome. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugia Bucal**, v. 23, n. 3, p. 0–0, 2018. Disponível em: <<http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/aop/22311.pdf>>.
- CUTANDO-SORIANO, Antonio; GOMEZ-MORENO, Gerardo; BRAVO, Manuel. Free interleukin-2 receptors in children with trisomy 21 (Down's syndrome) and different levels of periodontal disease. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 8, n. 3, p. 177–180, 1998.
- DRAHEIM, Christopher C.; MCCUBBIN, Jeffrey A.; WILLIAMS, Daniel P. Differences in cardiovascular disease risk between nondiabetic adults with mental retardation with and without Down syndrome. **American Journal on Mental Retardation**, v. 107, n. 3, p. 201–211, 2002.
- DUARTE, P. M. et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a

different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **Journal of Periodontal Research**, v. 50, n. 1, p. 18–27, 2015.

FRYDMAN, Alon; NOWZARI, Hessam. Down syndrome-associated periodontitis: a critical review of the literature. **Compendium of continuing education in dentistry**, v. 33, n. 5, p. 356–361, 2012.

GONZÁLES-AGÜERO, A et al. Research in Developmental Disabilities Fat and lean masses in youths with Down syndrome : Gender differences. **Research in Developmental Disabilities**, v. 32, p. 1685–1693, 2011.

GOUTOUDI, Paschalina; DIZA, Evdoxia; ARVANITIDOU, Malamatenia. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1 β and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. **Journal of Dentistry**, v. 32, n. 7, p. 511–520, 2004.

IBGE. Banco de Dados Agregados. **Censo Demográfico e Contagem da População. Censo demográfico 2010: características gerais da população, religião e deficiência**. 2012. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br/cd/cd2010CGP.asp?o=13&i=P>. Acesso em: 9 jun. 2020.

KALINOSKI, Angélica X et al. Prevalência de fatores de risco da síndrome metabólica em adultos com síndrome de Down na cidade de Pelotas. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 17, n. 5, p. 396–402, 2012.

KHOCHT, Ahmed et al. Oxidative Burst Intensity of Peripheral Phagocytic Cells and Periodontitis In Down Syndrome. **Bone**, v. 49, n. 1, p. 29–35, 2014.

KHOCHT, Ahmed; JANAL, Malvin; TURNER, Bobby. Periodontal health in down syndrome: Contributions of mental disability, personal, and professional dental care. **Special Care in Dentistry**, v. 30, n. 3, p. 118–123, 2010.

KIKUI, Miki et al. Relationship between Metabolic Syndrome Components and Periodontal Disease in a Japanese General Population : the Suita. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, v. 24, p. 495–507, 2017.

KOMATSU, Tomoko et al. Increased oxidative stress biomarkers in the saliva of Down syndrome patients. **Archives of Oral Biology**, v. 58, p. 1246–1250, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.03.017>>.

KORENBERG, J. R. et al. Down syndrome phenotypes: The consequences of chromosomal imbalance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 91, p. 4997–5001, 1994.

KURDUKAR, Priyanka A et al. Biomarkers in Gingival Crevicular Fluid. **IOSR Journal of Dental and Medical Sciences Ver. IX**, v. 14, n. 10, p. 104–109, 2015. Disponível em: <www.iosrjournals.org>.

LEE, Kyeong-soo et al. The relationship between metabolic conditions and prevalence of periodontal disease in rural Korean elderly. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 58, n. 1, p. 125–129, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.archger.2013.08.011>>.

LIMA, HG; LARA, VS. Immunological aspects of inflammatory periodontal disease: involvement of mast cells. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 15, n. 3, p. 225–229, 2013.

LIU, Yen Chun G.; LERNER, Ulf H.; TENG, Yen Tung A. Cytokine responses against periodontal infection: Protective and destructive roles. **Periodontology** 2000, v. 52, n. 1, p. 163–206, 2010.

LÓPEZ-PEREZ, Ruben et al. Oral hygiene, gingivitis, and periodontitis in persons with Down syndrome. **Special Care in Dentistry**, v. 22, n. 6, p. 214–220, 2002.

LÓPEZ, Rodrigo; LOOS, Bruno G.; BAEUM, Vibeke. Hematological features in adolescents with periodontitis. **Clinical Oral Investigations**, v. 16, n. 4, p. 1209–1216, 2012.

MORINUSHI, Takanobu et al. A Comparison of the Gingival Health of Children with Down Syndrome to Healthy Children Residing in an Institution. **Special Care in Dentistry**, v. 26, n. 1, p. 13–19, 2006.

NISHIDA, Y. et al. Hyperlipidaemia in patients with down's syndrome. **Atherosclerosis**, v. 26, n. 3, p. 369–372, 1977.

OZMERIC, Nurdan. Advances in periodontal disease markers. **Clinica Chimica Acta**, v. 343, p. 1–16, 2004.

REULAND-BOSMA, W.; VAN DER REIJDEN, W. A.; VAN WINKELHOFF, A. J. Absence of a specific subgingival microflora in adults with Down's syndrome. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 28, n. 11, p. 1004–1009, 2001.

SAKELLARI, D.; ARAPOSTATHIS, K. N.; KONSTANTINIDIS, A. Periodontal conditions and subgingival microflora in Down syndrome patients. A case-control study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 6, p. 684–690, 2005.

SCHUPF, Nicole. Genetic and host factors for dementia in Down's syndrome. **British Journal of Psychiatry**, v. 180, p. 405–410, 2002.

SHIMADA, Yasuko et al. Profiling biomarkers in gingival crevicular fluid using multiplex bead immunoassay. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 6, p. 724–730, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.11.012>>.

SMITH, Aline Ribeiro da Silva Santos et al. Estado Nutricional de Crianças e Adolescentes com Síndrome de Down praticantes de judô. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 11, n. 64, p. 410–419, 2017.

TANAKA, M. H. et al. The effect of conventional mechanical periodontal treatment on red complex microorganisms and clinical parameters in Down syndrome periodontitis patients: a pilot study. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, p. 601–608, 2015.

TANAKA, Marcia H. et al. Expression of interferon- γ , interferon- α and related genes in individuals with Down syndrome and periodontitis. **Cytokine**, v. 60, p. 875–881, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.08.020>>.

TELES, RP et al. Relationships among gingival crevicular fluid biomarkers, clinical parameters of periodontal disease, and the subgingival microbiota. **Journal of Periodontology**, v. 81, n. 1, p. 89–98, 2011.

TSILINGARIDIS, Georgios; YUCEL-LINDBERG, Tülay; MODÉER, Thomas. Enhanced levels of prostaglandin E2, leukotriene B4, and matrix metalloproteinase-9 in gingival

crevicular fluid from patients with Down syndrome. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 61, n. 3, p. 154–158, 2003.

VASCONCELOS, Roseane Carvalho et al. Immunoeexpression of HIF-1 α and VEGF in periodontal disease and healthy gingival tissues. **Brazilian Dental Journal**, v. 27, n. 2, p. 117–122, 2016.

YOSHIHARA, Toshihiro et al. Effect of periodic preventive care on the progression of periodontal disease in young adults with Down's syndrome. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, p. 556–560, 2005.

ZACHAROPOULOU, V et al. Atherosclerosis as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. v. 8, n. 1, p. 18–27, 2017.

ZIGMOND, Maora et al. The outcome of a preventive dental care programme on the prevalence of localized aggressive periodontitis in Down's syndrome individuals. **Journal of Intellectual Disability Research**, v. 50, n. 7, p. 492–500, 2006.

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

ROTEIRO DE COLETA DE DADOS

DATA:

FICHA N°

Nome do paciente:

Idade (data de nascimento):

RG/CPF:

Cidade/Estado:

NÚMERO CONTATO:

NOME RESP:

Sexo: () feminino / () masculino

Qual a cor da sua pele?

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

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)

Como você considera a sua saúde?

1. () Excelente
 2. () Boa
 3. () Regular
 4. () Ruim
 5. () Muito ruim
 99. () Não sabe

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

Você FICOU DOENTE nos últimos 2 anos?

1. () SIM. Qual foi a doença? _____
 2. () NÃO
 99. () Não lembra/Não sabe

Você toma alguma VITAMINA no momento?

1. () SIM. QUAL? _____
 2. () NÃO

Você toma algum SUPLEMENTO PROTEICO para GANHO DE MASSA MUSCULAR?

1. () SIM. QUAL? _____
 2. () NÃO

Você está tomando ALGUM MEDICAMENTO atualmente?

1. () SIM . 2. () NÃO

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

Você tem alguma ALERGIA?

1. () SIM. Alergia a _____
 2. () NÃO
 99. () Não sabe

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

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 _____
 88. () Não se aplica

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

Escova: 1.() macia 2.() média
 3.() dura 88.() Não se aplica

Cabeça da escova: 1.() pequena
 2. () média 3.() grande
 88.() Não se aplica

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

Você já foi ao dentista?

1. () SIM
 2. () NÃO
 99. () NÃO SABE

Já recebeu orientação de higiene bucal: 1. () Sim 2.() Não

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

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

Você já teve DOR DE DENTE?

1. () SIM
 2. () NÃO

Quando ocorreu a sua dor de dente?

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

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

Quanto tempo durou a dor?

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

Você acordou à noite por causa desta dor?

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

Deixou de fazer alguma coisa por causa da dor?

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

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

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

Você já notou sangramento em sua gengiva durante a escovação?

1. () SIM
 2. () NÃO

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.

A ~~sua~~ é mãe dele (a) de forma NATURAL ou ADOTIVA?

1. () Natural 2. () Adotiva

Grau de instrução da Mãe ou responsável:

1. () Analfabeto
 2. () 1º grau completo
 3. () 1º grau incompleto
 4. () 2º grau completo
 5. () 2º grau incompleto
 6. () Nível superior
 7. () Sem informação

Grau de instrução do Pai ou responsável:

1. () Analfabeto
 2. () 1º grau completo
 3. () 1º grau incompleto
 4. () 2º grau completo
 5. () 2º grau incompleto
 6. () Nível superior
 7. () Sem informação

Quem é o CHEFE DA SUA FAMÍLIA (aquele com maior renda com quem que o paciente vive/mora)?

1. () Pai do (a) paciente
 2. () Mãe do(a) paciente

3. () Avô do(a) paciente
 4. () Avô do(a) paciente
 5. () Tio do(a) paciente
 6. () Tia do(a) paciente
 7. () Padrasto do(a) paciente
 8. () Madrasta do(a) paciente
 9. () Irmão do(a) paciente
 10. () Irmã do(a) paciente
 99. () Não sabe
 13. () Outro: _____

Renda familiar:

1. () Abaixo de um salário mínimo
 2. () Um salário mínimo
 3. () Acima de um salário mínimo
 4. () Acima de três salários mínimos

O paciente nasceu prematuro?

1. () SIM
 2. () NÃO

Se prematuro, o paciente nasceu de quantos meses de gestação? _____

88. () Não se aplica

O paciente nasceu de um parto de gêmeos?

1. () SIM
 2. () NÃO
 99. () Não sabe

Qual o tipo de parto que o paciente nasceu:

1. () Natural ou normal
 2. () Cesário
 99. () Não sabe

Qual a causa da ~~cesária~~ ~~césaria~~?

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~~ 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 = ~~mionectomia~~ ~~plástica~~ perineal
16. ()
outro _____
- _____
88. () não se aplica
99. () não sabe

O paciente 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

Condições de vida (educação e atividades práticas):

Educação regular atualmente:

1.() Sim 2.() Não Ano/série:

Educação regular passada:

1.() Sim. 2.() Não Ano/série:

Reforço: 1.() Sim 2.() Não

Instituição especial: 1.() Sim 2.() Não

Sabe ler: 1.() Sim 2.() Não

Sabe escrever: 1.() Sim 2.() Não

Atividade extracurricular /

Capacitação para o trabalho:

1.() Sim

2.() Não Qual:

Trabalha: 1.() Sim 2.() Não
Valor:

Aposentadoria: 1.() Sim 2.() Não

Atividades práticas:

Come sozinho: 1() Sim 2() Não

Sai sozinho: 1() Sim 2() Não

Usa banheiro sozinho: 1() Sim

2() Não

Se veste sozinho: 1() Sim 2() Não

Prepara refeições: 1() Sim 2() Não

Cuida de casa: 1() Sim 2() Não

Transporta-se: 1() Sim 2() Não

Toma remédios: 1() Sim 2() Não

Usa o telefone: 1() Sim 2() Não

APÊNDICE B - Ficha de exame periodontal

GRUPO							PACIENTE												Data:										
	PROFUNDIDADE DE SONDAGEM						Nível gengival						NIC						Sangramento						IPV				
	DV	V	MV	DL	L	ML	DV	V	MV	DL	L	ML	DV	V	MV	DL	L	ML	DV	V	MV	DL	L	ML	V	L	M	D	
18																													
17																													
16																													
15																													
14																													
13																													
12																													
11																													
21																													
22																													
23																													
24																													
25																													
26																													
27																													
28																													
38																													
37																													
36																													
35																													
34																													
33																													
32																													
31																													
41																													
42																													
43																													
44																													
45																													
46																													
47																													
48																													

*Hiperplasia (-); Recessão (+)

APÊNDICE C - Ficha de avaliação atropométrica

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
Pesquisa: NÍVEIS SALIVARES DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A
DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN

Nome paciente : _____ Telefones do responsável pelo paciente: _____		QUEST																																																																																				
1	Data de nascimento do paciente: ____/____/____	DATNAS																																																																																				
2	Quem é o chefe da família? (Pessoa que ganha mais) (1) Pai (2) Mãe (3) Tio (4) Avós (5) Paciente (6) Outros	CHEFE																																																																																				
3	Situação empregatícia do chefe da família: (1) Trabalha (4) Desempregado(a) (2) Aposentado(a) (5) Mais de uma alternativa (3) Beneficiário(a) de programas sociais: Qual? _____	SITEMPRE																																																																																				
4	Grau de instrução do chefe da família (Pessoa que tem maior renda): (0) Analfabeto / Fundamental 1 Incompleto (1) Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto (2) Fundamental 2 Completo / Médio Incompleto (4) Médio Completo / Superior Incompleto (7) Superior Completo	GRAUINSTRUCHEF																																																																																				
5	Grau de instrução do paciente, caso ele não seja o chefe da família: (0) Analfabeto / Fundamental 1 Incompleto (1) Fundamental 1 Completo / Fundamental 2 Incompleto (2) Fundamental 2 Completo / Médio Incompleto (4) Médio Completo / Superior Incompleto (7) Superior Completo	GRAUINSTRUCPAC																																																																																				
5	+ Classificação Econômica Brasil – CCEB (Total de pontos para posse de itens e Grau de instrução do chefe de família). Posse de Itens: Circular <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th colspan="5">Quantidade de itens</th> </tr> <tr> <th></th> <th>0</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4 OU +</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>7</td> <td>10</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de empregados mensais, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>7</td> <td>10</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>5</td> <td>8</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de banheiros</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>6</td> <td>8</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel</td> <td>0</td> <td>3</td> <td>6</td> <td>6</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de geladeiras</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>3</td> <td>5</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de freezers independentes ou parte da geladeira duplex</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>6</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>6</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de lavadora de louças</td> <td>0</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>4</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de fornos de micro-ondas</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>4</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional</td> <td>0</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>3</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table>		Quantidade de itens						0	1	2	3	4 OU +	Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular	0	3	7	10	14	Quantidade de empregados mensais, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana	0	3	7	10	13	Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho	0	3	5	8	11	Quantidade de banheiros	0	3	6	8	11	DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel	0	3	6	6	6	Quantidade de geladeiras	0	2	3	5	5	Quantidade de freezers independentes ou parte da geladeira duplex	0	2	4	6	6	Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones	0	2	4	6	6	Quantidade de lavadora de louças	0	1	3	4	6	Quantidade de fornos de micro-ondas	0	2	4	4	4	Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional	0	1	3	3	3	Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca	0	2	2	2	2	CEEB POSSE Soma dos itens 4 + 5 + 6 e 7
	Quantidade de itens																																																																																					
	0	1	2	3	4 OU +																																																																																	
Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular	0	3	7	10	14																																																																																	
Quantidade de empregados mensais, considerando apenas os que trabalham pelo menos cinco dias por semana	0	3	7	10	13																																																																																	
Quantidade de máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho	0	3	5	8	11																																																																																	
Quantidade de banheiros	0	3	6	8	11																																																																																	
DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD e desconsiderando DVD de automóvel	0	3	6	6	6																																																																																	
Quantidade de geladeiras	0	2	3	5	5																																																																																	
Quantidade de freezers independentes ou parte da geladeira duplex	0	2	4	6	6																																																																																	
Quantidade de microcomputadores, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks e desconsiderando tablets, palms ou smartphones	0	2	4	6	6																																																																																	
Quantidade de lavadora de louças	0	1	3	4	6																																																																																	
Quantidade de fornos de micro-ondas	0	2	4	4	4																																																																																	
Quantidade de motocicletas, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional	0	1	3	3	3																																																																																	
Quantidade de máquinas secadoras de roupas, considerando lava e seca	0	2	2	2	2																																																																																	
6	A família tem acesso à água encanada? (4) Sim (0) Não	AGUAENC																																																																																				

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
Pesquisa: NÍVEIS SALIVARES DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A
DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN

7	A casa na qual a família reside fica em rua pavimentada? (2) Sim (0) Não	RUAPAV						
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS								
1.	Peso ao nascer: _____ g (do cartão da criança ou relato)	PESONAS <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
2.	Comprimento ao nascer: _____ cm (do cartão da criança ou relato)	COMPNAS <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
3.	Peso atual 1: _____ kg	PESO1AT <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
4.	Peso atual 2: _____ kg	PESO2AT <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
5.	Média Peso atual: _____ kg	MÉDIA PESOAT <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
6.	Comprimento Atual 1: _____ m	COM1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
7.	Comprimento Atual 2: _____ m	COM2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
8.	Média comprimento atual: _____ m	MÉDIA COMPAT <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
9.	IMC: _____ kg/m ²	IMC <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
10.	Prega Cutânea Tricipital 1: _____ mm	PCT1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
11.	Prega Cutânea Tricipital 2: _____ mm	PCT2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
12.	Prega Cutânea Tricipital 2: _____ mm	PCT2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
13.	Média PCT: _____ mm	MÉDIA PCT <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
14.	Circunferência do Braço1: _____ cm	CB 1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
15.	Circunferência do Braço2: _____ cm	CB 2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
16.	Média da Circunferência do Braço: _____ cm	Média da CB <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
17.	Circunferência da Cintura 1: _____ cm	CC 1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
18.	Circunferência da Cintura 2: _____ cm	CC 2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
19.	Média CC: _____ cm	MÉDIA CC <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
20.	Circunferência do Quadri 1: _____ cm	CQ 1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
21.	Circunferência do Quadri 2: _____ cm	CQ 2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
22.	Média CQ: _____ cm	MÉDIA CQ <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
23.	Circunferência do Pescoço1: _____ cm	CP 1 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
24.	Circunferência do Pescoço2: _____ cm	CP 2 <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
25.	Média CP: _____ cm	MÉDIA CP <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
26.	Data da entrevista: ____/____/____	DE <table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						
Nome do entrevistador : _____								

APÊNDICE D - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este documento tem o objetivo de convidá-lo a participar do trabalho de Tese de Doutorado intitulado “Níveis salivares de citocinas inflamatórias e sua associação com a doença periodontal em pacientes com síndrome de down” desenvolvido sob orientação do Prof. Dr. Bruno Braga Benatti, da Universidade Federal do Maranhão – UFMA e pela aluna Monique Maria Melo Mouchrek do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFMA.

Justificativa e Objetivos

A alta prevalência da doença periodontal em indivíduos com síndrome de down representa o problema de saúde bucal mais agravante nessa população. Considerando que os estudos mostram que a resposta alterada do indivíduo com síndrome de down parece ser a principal causa dessa alta prevalência e que a determinação dos níveis de mediadores inflamatórios em fluidos biológicos é um bom indicador de atividade inflamatória, elucidar a possível relação entre a doença periodontal e a resposta imuno-inflamatória se faz necessário, visando conhecer os fatores imunológicos responsáveis por tornar esses pacientes mais suscetíveis à DP. Desta forma, os objetivos do presente trabalho são:

- a) Identificar os níveis de citocinas inflamatórias na saliva de pacientes com síndrome de down e sem síndrome de down.
- b) Verificar a existência de relação entre os níveis de citocinas inflamatórias e os parâmetros clínicos periodontais.
- c) Comparar os marcadores inflamatórios entre os pacientes com síndrome de down e sem síndrome de down.

Procedimentos

Todos os indivíduos selecionados para o estudo serão examinados clinicamente. O exame periodontal será realizado por um único examinador, previamente treinado sob luz artificial, por meio de secagem prévia da região com jato de ar, e uso de uma sonda periodontal milimetrada do tipo Carolina do Norte, espelho plano e pinça clínica devidamente esterilizados. O coeficiente de correlação intra-examinador será calculado pelo índice Kappa.

O exame periodontal será realizado em todos os dentes presentes, por meio da padronização em seis locais (disto-vestibular, vestibular, méso-vestibular, disto-lingual, lingual e méso-lingual). Os seguintes parâmetros serão registrados: profundidade de sondagem (PS), nível de inserção (NI), índice de sangramento

gengival (ISG), índice de Placa Visível (IPV) (será registrado para cada indivíduo como a porcentagem de superfícies dentárias com biofilme visível ao examinador oral), distância da junção cimento-esmalte para o fundo do sulco gengival ou da bolsa (em mm) e distância da margem gengival ao ponto apical do fundo de sulco gengival ou da bolsa (em mm).

Após o exame periodontal será realizada em outra sessão a coleta de fluido gengival (com cone de papel no sítio periodontal por 15 segundos) e sangue, seguida pela avaliação antropométrica e aferição da pressão arterial. O tratamento periodontal será realizado caso o paciente apresente necessidade.

Desconfortos, riscos e benefícios

O exame periodontal e coleta de fluido gengival ao serem realizados podem causar um desconforto mínimo, com dor e presença de sangramento, da mesma forma que a coleta de sangue. No entanto, o uso da sonda periodontal e a inserção do cone de papel serão realizados com a menor pressão digital possível para evitar o provável desconforto, assim como a punção para coleta de sangue será realizada com a introdução da agulha de forma vagarosa e os profissionais capacitados para executá-la tomarão os cuidados para a segurança necessária. Como benefícios os pacientes terão o diagnóstico das alterações que possam vir a apresentar e a execução do tratamento periodontal, adquirindo uma maior qualidade de vida.

Garantia de esclarecimentos

Todos os voluntários têm garantido o direito de receber esclarecimentos sobre a metodologia a ser empregada, antes e durante o curso do projeto.

O participante receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone do pesquisador (a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação antes e durante a pesquisa. Em acréscimo, poderá contatar com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA pelo endereço: Avenida dos Portugueses s/n, Campus Universitário Bacanga, Prédio do CEB velho PPPG - CEP (Bloco C, sala 07), com telefone para contato: 3272-8708.

Liberdade de se recusar a participar

Os participantes têm o direito de se recusar a participar e também de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização e sem prejuízo para os mesmos.

Garantia de sigilo

Fica garantido o sigilo profissional referente aos dados pessoais dos participantes, respeitando os valores culturais, sociais, morais, religiosos e éticos dos mesmos. Os resultados serão divulgados mediante sua autorização e apenas na elaboração de trabalhos científicos, congressos e periódicos específicos da área da Odontologia.

Para efeitos éticos e legais, eu, _____ ,
_____(nacionalidade), _____ (profissão),
portador do RG _____, CIC/CPF nº _____,
residente à _____, na cidade
de _____, Estado _____, declaro ter entendido tudo o que me foi explicado e que
aceito, de livre e espontânea vontade, participar como voluntário desta pesquisa.

São Luís, _____ de _____ de 20__.

Assinatura ou impressão digital do participante ou representante legal.

Assinatura do Profissional responsável pelo esclarecimento do participante.

Aluna: Monique Maria Melo Mouchrek

Orientador: Bruno Braga Benatti

CPF: 618.351.963-49

RG: 124309799-7

TEL: 988655498

CPF: 275982318-00

RG: 27072554-4

TEL: 30870088

ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: NÍVEIS SALIVARES DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS E SUA ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN

Pesquisador: Monique Maria Melo Mouchrek

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79605917.2.0000.5087

Instituição Proponente: Universidade Federal do Maranhão

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.530.026

Apresentação do Projeto:

A doença periodontal (DP) é uma alteração crônica inflamatória e infecciosa da gengiva e dos tecidos de suporte dos dentes. Suas condições clínicas não são induzidas apenas por agentes microbianos, mas também pela interação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como de fatores genéticos e ambientais. Alguns indivíduos podem apresentar uma reação diferenciada à DP, como os pacientes com síndrome de Down (SD). A literatura mostra que a DP é mais prevalente em pacientes com SD do que em pacientes não síndrômicos, representando assim um problema de saúde para esses indivíduos. A disfunção das células T, diminuição da capacidade fagocitária e aumento dos níveis de prostaglandina E2 no fluido do sulco gengival têm sido apontados como possíveis explicações para a avançada destruição periodontal nesses indivíduos, assim como a diminuição da quimiotaxia de neutrófilos, redução da contagem de linfócitos B e presença de linfócito T reduzidos e imaturos. Os linfócitos T helper (Th) se diferenciam em Th1, Th2, Th17 e Treg que irão atuar na autoimunidade, inflamação e destruição tecidual. Citocinas dos linfócitos Th1 (IL-1, IL-6, IL-12, IFN- γ , GM-CSF e TNF- α) e Th17 (IL-17) são citocinas pro-inflamatórias, e as citocinas dos linfócitos Th2 (IL-4, IL-6 e IL-10) são conhecidas como citocinas anti inflamatórias. Assim, o desequilíbrio das quantidades das citocinas Th1, Th2 e Th17 no tecido gengival pode causar reabsorção óssea e destruição do colágeno durante a evolução da inflamação periodontal. Considerando que a avaliação imunológica tem sido utilizada como um importante parâmetro para

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SÃO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

**UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO**



Continuação do Parecer: 2.530.026

a compreensão de fatores associados à doença periodontal e a maior susceptibilidade dos pacientes com SD ao desenvolvimento de infecções, avaliar a função imunológica dos indivíduos com SD se torna apropriada. A análise da saliva pode ser especialmente benéfica na determinação da condição periodontal atual. Esta pode ser usada como um fluido diagnóstico não invasivo para medir os biomarcadores liberados durante o início e a progressão da DP. Considerando a necessidade de estabelecer estratégias não-invasivas, rápidas e fáceis para o diagnóstico de doenças, tem sido ampliado o interesse em avaliar o potencial da saliva como marcador inflamatório. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é comparar os níveis salivares de IL-1, IL-4, IL-6, IL-17, INF- e TNF- entre indivíduos com SD com DP e indivíduos não sindrômicos com DP. Além disso, examinar as correlações entre as concentrações dessas citocinas e os parâmetros clínicos da doença periodontal.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a influência da síndrome de Down na resposta imune-inflamatória dos tecidos periodontais perante a doença periodontal.

Objetivo Secundário:

- Identificar os níveis de citocinas inflamatórias na saliva de pacientes com SD e sem SD ambos com e sem doença periodontal.
- Comparar os níveis de citocinas inflamatórias na saliva entre: Pacientes com SD com doença periodontal x Pacientes sem SD com doença periodontal em Pacientes com SD sem doença periodontal x Pacientes sem SD sem doença periodontal.
- Comparar os níveis de citocinas inflamatórias na saliva com os parâmetros clínicos periodontais apresentados em cada grupo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O exame periodontal a ser realizado pode causar um desconforto mínimo, com dor e presença de sangramento, da mesma forma que a coleta de sangue. No entanto, o uso da sonda periodontal será realizado com a menor pressão digital possível para evitar o provável desconforto, assim como a punção para coleta de sangue será realizada com a introdução da agulha de forma vagarosa e os profissionais capacitados para executá-la tomarão os cuidados para a segurança necessária.

Benefícios:

Realizar o tratamento dos voluntários da pesquisa que apresentarem doença periodontal. Realizar

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

**UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO**



Continuação do Parecer: 2.530.026

orientação nutricional aos que necessitarem. Ter o conhecimento da capacidade intelectual dos indivíduos com Síndrome de Down.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta todos os elementos necessários ao seu pleno desenvolvimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatórios foram entregues e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

Não existem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_856668.pdf	01/02/2018 12:36:53		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_ATUALpdf.pdf	01/02/2018 12:36:26	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	01/02/2018 12:35:50	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_ATUAL.docx	01/02/2018 12:34:49	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito
Outros	autorizacaodoc.docx	18/09/2017 09:45:39	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito
Outros	Autorizacao_clinicas.jpeg	10/07/2017 19:53:21	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	17/04/2017 21:53:51	Monique Maria Melo Mouchrek	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

UFMA - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO MARANHÃO



Continuação do Parecer: 2.530.026

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO LUIS, 07 de Março de 2018

Assinado 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
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

ANEXO B – Diretrizes para publicação no Periódico Journal of Clinical Periodontology

Author Guidelines

Sections

1. Submission
2. Aims and Scope
3. Manuscript Categories and Requirements
4. Preparing the Submission
5. Editorial Policies and Ethical Considerations
6. Author Licensing
7. Publication Process After Acceptance
8. Post Publication
9. Editorial Office Contact Details

1. SUBMISSION

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once the submission materials have been prepared in accordance with the Author Guidelines, manuscripts should be submitted online at <https://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>

[Click here](#) for more details on how to use ScholarOne.

Data protection

By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed. You can learn more at <https://authorservices.wiley.com/statements/data-protection-policy.html>.

Preprint policy

Please find the Wiley preprint policy here.

This journal accepts articles previously published on preprint servers.

Journal of Clinical Periodontology will consider for review articles previously available as preprints. Authors may also post the submitted version of a manuscript to a preprint server at any time. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article.

For help with submissions, please contact: cpeedoffice@wiley.com

2. AIMS AND SCOPE

The aim of the *Journal of Clinical Periodontology* is to provide the platform for exchange of scientific and clinical progress in the field of Periodontology and allied disciplines, and to do so at the highest possible level. The Journal also aims to facilitate the application of new scientific knowledge to the daily practice of the concerned disciplines and addresses both practicing clinicians and academics. The Journal is the official publication of the European Federation of Periodontology but wishes to retain its international scope.

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.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

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.

i. Original Research Articles

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.

Word limit: 3,500 words maximum, excluding references.

Abstract: 200 words maximum; must be structured, under the sub-headings: Aim(s), Materials and methods, Results, Conclusion(s).

Figures/Tables: Total of no more than 7 figures and tables.

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.

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

ii. Clinical Innovation Reports

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.

Word limit: 3,000 words maximum, excluding references.

Main text: should be organized with Introduction; Clinical Innovation Report; Discussion and Conclusion.

Figures/Tables: Total of no more than 12 figures and tables.

iii. 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.

Main text: should be organised with Introduction; Case report; Discussion and Conclusion.

iv. Reviews and Systematic 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.

Wherever possible, reviews should be constructed and submitted as Systematic Reviews, or at the very least provide robust descriptions of the methods that would allow readers to reproduce these. 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.

Note: For Systematic Reviews, the Journal adheres to the PRISMA reporting guidelines - PRISMA checklists should be included in submissions.

Word limit: 4,000 words maximum, excluding references.

Main text: should be organized with Introduction; Review; Discussion and Conclusion.

Revisions and Resubmissions

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.

4. PREPARING THE SUBMISSION

Free Format submission

Journal of Clinical Periodontology now offers Free Format submission for a simplified and streamlined submission process.

Before you submit, you will need:

- Your manuscript: this can be a single file including text, figures, and tables, or separate files – whichever you prefer. All required sections should be contained in your manuscript, including a title page with all author details, including affiliations and email addresses, a statement of clinical relevance, abstract, introduction, methods, results, and conclusions. Figures and tables should have legends. References may be submitted in any style or format, as long as it is consistent throughout the manuscript. If the manuscript, figures or tables are difficult for you to read, they will also be difficult for the editors and reviewers. If your manuscript is difficult to read, the

editorial office may send it back to you for revision.

(Why is this important? We need to make sure your manuscript is suitable for review.)

- Statements relating to our ethics and integrity policies:
 - Conflict of interest disclosure
 - Statement of funding source
 - Ethical approval statement
 - Patient consent statement (if appropriate)
 - permission to reproduce material from other sources
- A separate Conflict of Interest form for each author.
(Why is this important? We need to uphold rigorous ethical standards for the research we consider for publication.)
- Your co-author details, including affiliation and email address. *(Why is this important? We need to keep all co-authors informed of the outcome of the peer review process.)*
- An ORCID ID, freely available at <https://orcid.org>. *(Why is this important? Your article, if accepted and published, will be attached to your ORCID profile. Institutions and funders are increasingly requiring authors to have ORCID IDs.)*

To submit, login at <https://mc.manuscriptcentral.com/jcpe> and create a new submission. Follow the submission steps as required and submit the manuscript.

If you are invited to revise your manuscript after peer review, the journal will also request the revised manuscript to be formatted according to journal requirements as described below.

Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: main text file; figures.

Main Text File

The text file should be presented in the following order:

- i. A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's [best practice SEO tips](#));
- ii. A short running title of less than 40 characters;
- iii. The full names of the authors;
- iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- v. Acknowledgments;
- vi. Abstract and keywords;
- vii. Clinical Relevance
- viii. Main text;
- ix. References;
- x. Tables (each table complete with title and footnotes);
- xi. Figure legends;
- xiii. Appendices (if relevant).

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Authorship

Please refer to the journal's authorship policy the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on eligibility for author listing.

Acknowledgments

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the section 'Conflict of Interest' in the Editorial Policies and Ethical Considerations section below. Submitting authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Abstract

The 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.

Keywords

Please provide 1-5 keywords. When appropriate keywords are available, they should be taken from those recommended by the US National Library of Medicine's Medical Subject Headings (MeSH) browser list at www.nlm.nih.gov/mesh. Authors may add specific keywords.

Main Text

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.

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; 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.

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.

References should be prepared according to the Publication Manual of the American Psychological Association (6th edition). This means in text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the [APA FAQ](#). Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article

Beers, S. R. , & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159, 483–486. doi:[10.1176/appi.ajp.159.3.483](https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.3.483)

Book

Bradley-Johnson, S. (1994). *Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school* (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

Chapter in an Edited Book

Borström, I., & Elbro, C. (1997). Prevention of dyslexia in kindergarten: Effects of phoneme awareness training with children of dyslexic parents. In C. Hulme & M. Snowling (Eds.), *Dyslexia: Biology, cognition and intervention* (pp. 235–253). London: Whurr.

Internet Document

Norton, R. (2006, November 4). How to train a cat to operate a light switch [Video file]. Retrieved from <http://www.youtube.com/watch?v=Vja83KLQXZs>

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.

Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Figures

Although authors are encouraged to send the highest-quality figures possible, for peer-review purposes, a wide variety of formats, sizes, and resolutions are accepted.

[Click here](#) for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

Colour Figures. Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white.

Reproduction of Copyright Material

If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, credit must be shown in the contribution. It is the author's responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit Wiley's Copyright Terms & Conditions FAQ at http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-terms--conditions_301.html

Data Citation

Please review Wiley's data citation policy [here](#).

Additional Files

Appendices

Appendices will be published after the references. For submission they should be supplied as separate files but referred to in the text.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. It is hosted online and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc.

[Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note: if data, scripts, or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points

The following points provide general advice on formatting and style.

- 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.

Resource Identification Initiative

The journal supports the Resource Identification Initiative, which aims to promote research resource identification, discovery, and reuse. This initiative, led by the Neuroscience Information Framework and the Oregon Health & Science University Library, provides unique identifiers for antibodies, model organisms, cell lines, and tools including software and databases. These IDs, called Research Resource Identifiers (RRIDs), are machine-readable and can be used to search for all papers where a particular resource was used and to increase access to critical data to help researchers identify suitable reagents and tools.

Authors are asked to use RRIDs to cite the resources used in their research where applicable in the text, similar to a regular citation or Genbank Accession number. For antibodies, authors should include in the citation the vendor, catalogue number, and RRID both in the text upon first mention in the Methods section. For software tools and databases, please provide the name of the resource followed by the resource website, if available, and the RRID. For model organisms, the RRID alone is sufficient.

Additionally, authors must include the RRIDs in the list of keywords associated with the manuscript.

To Obtain Research Resource Identifiers (RRIDs)

1. Use the Resource Identification Portal, created by the Resource Identification Initiative Working Group.
2. Search for the research resource (please see the section titled “Search Features and Tips” for more information).
3. Click on the “Cite This” button to obtain the citation and insert the citation into the manuscript text.

If there is a resource that is not found within the Resource Identification Portal, authors are asked to register the resource with the appropriate resource authority. Information on how to do this is provided in the “Resource Citation Guidelines” section of the Portal.

If any difficulties in obtaining identifiers arise, please contact rii-help@scicrunch.org for assistance.

Example Citations

Antibodies: "Wnt3 was localized using a rabbit polyclonal antibody C64F2 against Wnt3 (Cell Signaling Technology, Cat# 2721S, RRID: AB_2215411)"

Model Organisms: "Experiments were conducted in *c. elegans* strain SP304 (RRID:CGC_SP304)"

Cell lines: "Experiments were conducted in PC12 CLS cells (CLS Cat# 500311/p701_PC-12, RRID:CVCL_0481)"

Tools, Software, and Databases: "Image analysis was conducted with CellProfiler Image Analysis Software, V2.0 (<http://www.cellprofiler.org>, RRID:nif-0000-00280)"

Wiley Author Resources

Manuscript Preparation Tips: Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley’s best practice tips on Writing for Search Engine Optimization.

Article Preparation Support: Wiley Editing Services offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for Preparing Your Article for general guidance about writing and preparing your manuscript.

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.

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.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Peer Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Manuscripts are single-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is available here.

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 cpeedoffice@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.

Human Studies and Subjects

For manuscripts reporting medical studies that involve human participants, a statement identifying the ethics committee that approved the study and confirmation that the study conforms to recognized standards is required, for example: Declaration of Helsinki; US Federal Policy for the Protection of Human Subjects; or European Medicines Agency Guidelines for Good Clinical Practice. It should also state clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study.

Patient anonymity should be preserved. When detailed descriptions, photographs, or videos of faces or identifiable body parts are used that may allow identification, authors should obtain the individual's free prior informed consent. Authors do not need to provide a copy of the consent form to the publisher; however, in signing the author license to publish, authors are required to confirm that consent has been obtained. Wiley has a standard patient consent form available for use. Where photographs are used they need to be cropped sufficiently to prevent human subjects being recognized; black eye bars should not be used as they do not sufficiently protect an individual's identity).

Animal Studies

A statement indicating that the protocol and procedures employed were ethically reviewed and approved, as well as the name of the body giving approval, must be included in the Methods section of the manuscript. Authors are encouraged to adhere to animal research reporting standards, for example the ARRIVE guidelines for reporting study design and statistical analysis; experimental procedures; experimental animals and housing and husbandry. Authors should also state whether experiments were performed in accordance with relevant institutional and national guidelines for the care and use of laboratory animals:

- US authors should cite compliance with the US National Research Council's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, the US Public Health Service's Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals, and Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.
- UK authors should conform to UK legislation under the Animals (Scientific Procedures) Act 1986 Amendment Regulations (SI 2012/3039).
- European authors outside the UK should conform to Directive 2010/63/EU.

Clinical Trial Registration

The journal requires that clinical trials are prospectively registered in a publicly accessible database and clinical trial registration numbers should be included in all papers that report their results. Authors are asked to include the name of the trial register and the clinical trial registration number at the end of the abstract. If the trial is not registered, or was registered retrospectively, the reasons for this should be explained.

Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. Authors are required to adhere to recognised research reporting standards. The EQUATOR Network collects more than 370 reporting guidelines for many study types, including for:

- Randomised trials : CONSORT
Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines. 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.
- Observational studies : STROBE
- Systematic reviews : PRISMA
- Case reports : CARE
- Qualitative research : SRQR
- Diagnostic / prognostic studies : STARD
- Quality improvement studies : SQUIRE
- Economic evaluations : CHEERS
- Animal pre-clinical studies : ARRIVE
- Study protocols : SPIRIT
- Clinical practice guidelines : AGREE

We also encourage authors to refer to and follow guidelines from:

- [Future of Research Communications and e-Scholarship \(FORCE11\)](#)
- [National Research Council's Institute for Laboratory Animal Research guidelines](#)
- [The Gold Standard Publication Checklist from Hooijmans and colleagues](#)
- [Minimum Information Guidelines from Diverse Bioscience Communities \(MIBBI\) website](#)
- [FAIRsharing website](#)

Species Names

Upon its first use in the title, abstract, and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species, and authority) in parentheses. For well-known species, however, scientific names may be omitted from article titles. If no common name exists in English, only the scientific name should be used.

Genetic Nomenclature

Sequence variants should be described in the text and tables using both DNA and protein designations whenever appropriate. Sequence variant nomenclature must follow the current HGVS guidelines; see varnomen.hgvs.org, where examples of acceptable nomenclature are provided.

Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL, or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL, and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: ‘These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345’. Addresses are as follows:

- DNA Data Bank of Japan (DDBJ): www.ddbj.nig.ac.jp
- EMBL Nucleotide Archive: ebi.ac.uk/ena
- GenBank: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank

Proteins sequence data should be submitted to either of the following repositories:

- Protein Information Resource (PIR): pir.georgetown.edu
- SWISS-PROT: expasy.ch/sprot/sprot-top

Structural Data

For papers describing structural data, atomic coordinates and the associated experimental data should be deposited in the appropriate databank (see below). Please note that the data in databanks must be released, at the latest, upon publication of the article. We trust in the cooperation of our authors to ensure that atomic coordinates and experimental data are released on time.

- Organic and organometallic compounds: Crystallographic data should not be sent as Supporting Information, but should be deposited with the *Cambridge Crystallographic Data Centre* (CCDC) at ccdc.cam.ac.uk/services/structure%5Fdeposit.
- Inorganic compounds: *Fachinformationszentrum Karlsruhe* (FIZ; fiz-karlsruhe.de).
- Proteins and nucleic acids: *Protein Data Bank* (rcsb.org/pdb).
- NMR spectroscopy data: *BioMagResBank* (bmr.b.wisc.edu).

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).

Conflict of Interest

The journal requires that all 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 directly 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. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

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

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

Funding

Authors should list all funding sources at submission. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

Authorship

The journal follows the ICMJE definition of authorship, which indicates that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND

2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he or she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged. These authorship criteria are intended to reserve the status of authorship for those who deserve credit and can take responsibility for the work. The criteria are not intended for use as a means to disqualify colleagues from authorship who otherwise meet authorship criteria by denying them the opportunity to meet criterion #s 2 or 3. Therefore, all individuals who meet the first criterion should have the opportunity to participate in the review, drafting, and final approval of the manuscript.

Data Sharing and Data Accessibility

Please review Wiley's policy [here](#). This journal encourages and peer review data sharing.

The journal encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

All accepted manuscripts may elect to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data. If you have shared data, this statement will describe how the data can be accessed, and include a persistent identifier (e.g., a DOI for the data, or an accession number) from the repository where you shared the data. Sample statements are available [here](#). If published, statements will be placed in the heading of your manuscript.

Human subject information in databases. The journal refers to the World Health Medical Association Declaration of Taipei on Ethical Considerations Regarding Health Databases and Biobanks.

Publication Ethics

This journal is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE). Note this journal uses iThenticate's CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read Wiley's Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley's Publication Ethics Guidelines can be found [here](#).

ORCID

As part of the journal's commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. Find more information [here](#).

6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [OnlineOpen](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please [click here](#). (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please [click here](#).)

Self-Archiving definitions and policies. Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please [click here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: If you choose to publish using OnlineOpen you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please [click here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted article received in production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with [Wiley Author Services](#). The author will be asked to sign a publication license at this point.

Accepted Articles

The journal offers Wiley's Accepted Articles service for all manuscripts. This service ensures that accepted 'in press' manuscripts are published online shortly after acceptance, prior to copyediting or typesetting. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance and appear in PDF format only. They are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked and are indexed by PubMed. After the final version article is published (the article of record), the DOI remains valid and can still be used to cite and access the article.

Accepted Articles will be indexed by PubMed; submitting authors should therefore carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript so it is accurate for indexing. Subsequently, the final copyedited and proofed articles will appear in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will update automatically.

Proofs

Authors will receive an e-mail notification with a link and instructions for accessing HTML page proofs online. Page proofs should be carefully proofread for any copyediting or typesetting errors. Online guidelines are provided within the system. No special software is required, all common browsers are supported. Authors should also make sure that any renumbered tables,

figures, or references match text citations and that figure legends correspond with text citations and actual figures. Proofs must be returned within 48 hours of receipt of the email. Return of proofs via e-mail is possible in the event that the online system cannot be used or accessed.

Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. Early View (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Access and sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

Promoting the Article

To find out how to best promote an article, [click here](#).

Article Promotion Support

Wiley Editing Services offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

Measuring the Impact of an Article

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with Kudos and Altmetric.

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

For queries about submissions, please contact cpeedoffice@wiley.com

Author Guidelines Updated 26 November 2019