

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM BIOCÊNCIAS E
SAÚDE – NÍVEL MESTRADO

ADRIANA CHASSOT BRESOLIN

**ANÁLISE DO EFEITO DE TRATAMENTOS PERIODONTAIS
NA EVOLUÇÃO DA PERIODONTITE EM CRIANÇAS
PORTADORAS DE CARDIOPATIA CONGÊNITA E CRIANÇAS
COM CORAÇÃO ESTRUTURALMENTE NORMAL**

CASCAVEL-PR
JULHO/2013

ADRIANA CHASSOT BRESOLIN

**ANÁLISE DO EFEITO DE TRATAMENTOS PERIODONTAIS
NA EVOLUÇÃO DA PERIODONTITE EM CRIANÇAS
PORTADORAS DE CARDIOPATIA CONGÊNITA E CRIANÇAS
COM CORAÇÃO ESTRUTURALMENTE NORMAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de Concentração: Processo Saúde-doença

ORIENTADOR: Carlos Augusto Nassar

CO-ORIENTADOR: Edson Antonio Alves da Silva

CASCAVEL-PR

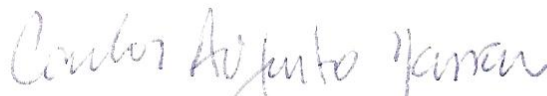
JULHO/2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

ADRIANA CHASSOT BRESOLIN

ANÁLISE DO EFEITO DE TRATAMENTOS PERIODONTAIS NA
EVOLUÇÃO DA PERIODONTITE EM CRIANÇAS PORTADORAS DE
CARDIOPATIA CONGÊNITA E CRIANÇAS COM CORAÇÃO
ESTRUTURALMENTE NORMAL

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do Título de Mestre em
Biotecnologia e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela
Banca Examinadora.



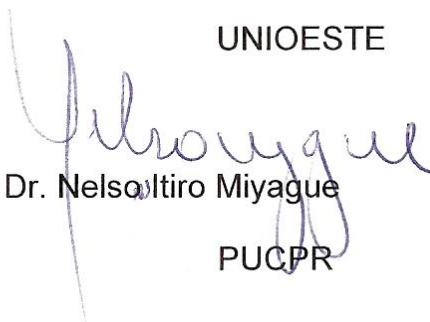
Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Nassar

UNIOESTE



Prof. Dr. Mauro Carlos Agner Busato

UNIOESTE



Prof. Dr. Nelson Itiro Miyague

PUCPR

CASCADEL-PR

(julho/2013)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos nossos pequenos pacientes, sem eles não seria possível desenvolver esta pesquisa. As dificuldades que uma classe menos favorecida tem em receber um atendimento médico e odontológico de qualidade faz com que essas crianças e seus responsáveis, meio inconscientemente e certamente com grande humildade, se doem a uma causa científica. Não fazem ideia da grandeza desse ato. A eles, a gratidão por tanta confiança.

Não poderia deixar de fazer um agradecimento especial ao Professor Doutor Carlos Augusto Nassar, coordenador e membro executor desta pesquisa, profissional incansável, que não mediu esforços e com quem aprendi muito. Agradeço a confiança plena depositada em mim.

À Professora Doutora Patrícia Oehlmeyer Nassar, que, além de ajudar na execução da pesquisa, teve de abdicar tempo valioso de convívio familiar.

Aos Professores Alex Sandro Jorge e Edson Antonio Alves da Silva, que disponibilizaram horas de estudo ao meu lado, inclusive em período de férias. Deram-me a honra de conhecê-los e poder chamá-los de amigos.

À Larissa Nicole Pasqualotto e Mariana Menegassi Pronsati, que literalmente colocaram a mão na massa. Certamente serão dentistas capacitadas. Agradeço também aos funcionários da Clínica Odontológica da Unioeste.

À agora médica Giselle Lustosa de Mello, que na minha difícil tarefa de ensinar uma formação profissional, aprendi que por mais sobrecarregada que se possa estar, é possível ainda se dedicar à pesquisa.

Aos diretores do Hospital Universitário do Oeste do Paraná que acreditaram nesta pesquisa, e aos seus funcionários, em especial à assistente social Genilda, às Auxiliares de Enfermagem e Enfermeiras do Ambulatório do HU, e os funcionários do Laboratório de Análises Clínicas.

À minha secretária Lúcia com seu comprometimento em auxiliar-me.

Às Professoras Doutoradas que revisaram, fizeram sugestões valiosas e muito colaboraram para a elaboração desta tese. Maria Lúcia Frison, Rose Meire Brancalhão, Maria Lúcia Bonfleur, Rosa Maria Rodrigues, Claudia Silveira Vieira e

Carmem Maria Costa Mendonça Fiori, obrigada por compartilharem seu tempo e conhecimento comigo.

Agradeço, em particular, ao meu marido Daniel e aos meus filhos Leonardo e João Gabriel, que não deixaram de me influenciar positivamente todos os dias, mas, sem dúvida alguma, tiveram que ter uma excepcional paciência.

Por último, o agradecimento mais relevante, aos membros da banca de defesa desta dissertação. Professores Doutores Nelson Itiro Miyague e Mauro Carlos Agner Busato, sinto-me lisonjeada por aceitarem ao convite.

RESUMO GERAL

Os efeitos da doença periodontal sobre a cavidade oral são bem conhecidos, contudo, os mesmos também podem produzir efeitos sistêmicos, incluindo a associação com a doença cardiovascular adquirida. Aceitam-se como possíveis mecanismos desta inter-relação as alterações do metabolismo lipídico, a ação de marcadores inflamatórios, que são comuns a ambas as doenças, e até mesmo a ação direta de bactérias orais no processo da aterosclerose. Sendo assim, devido às associações biológicas entre as doenças e o fato da doença aterosclerótica iniciar-se na infância, um comportamento voltado aos cuidados com a saúde oral e controle metabólico, desde a mais tenra idade, é essencial para pacientes portadores de doenças cardiovasculares. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a efetividade de duas modalidades de tratamento, a saber, a Raspagem e Alisamento Radicular Convencional (RAR) e a Desinfecção Total de Boca em Estágio Único (DBEU), aplicados a crianças portadoras de doença periodontal com cardiopatia congênita e com coração estruturalmente normal. Neste estudo relacionou-se os tratamentos tanto com parâmetros clínicos periodontais [índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NI) e sangramento à sondagem (SS)], quanto com parâmetros sanguíneos de perfil lipídico [colesterol total (CT) e frações, triglicerídeos (TRG)] e marcadores inflamatórios [fibrinogênio (FGN), proteína C reativa ultrasensível (PCR ULTRA), interleucina 6 (IL6), fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$)]. Os pacientes foram distribuídos em 4 grupos, *grupo 1* (17) – Cardiopatia Congênita e RAR, *grupo 2* (14) – Coração Normal e RAR, *grupo 3* (16) Cardiopatia Congênita e DBEU e *grupo 4* (15) – Coração Normal e DBEU. Os resultados demonstraram uma significativa melhora nos parâmetros clínicos periodontais ($p < 0.05$) nos grupos estudados. Quanto aos parâmetros lipídicos, houve destaque maior, com melhora significativa ($p < 0.05$) nos parâmetros de CT, TRG e VLDL. Houve também melhora do PCR ULTRA nos grupos de pacientes com cardiopatia congênita e crianças normais tratados com RAR ($p < 0.05$). Destaques ocorreram nos parâmetros de FGN e IL6 ($p < 0.05$) com a melhora em todos os grupos. Assim, dentro desses resultados, podemos concluir que ambos os tratamentos periodontais foram efetivos nesses grupos de crianças.

Palavras-chaves: Periodontite; Cardiopatias Congênitas; Metabolismo Lipídico; Mediadores da Inflamação; Criança.

GENERAL ABSTRACT

TITLE: ANALYSIS OF THE PERIODONTAL TREATMENTS EFFECT IN THE PERIODONTITIS EVOLUTION IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE AND STRUCTURALLY NORMAL HEART

ABSTRACT: The effects of periodontal disease in the oral cavity are well known, however, they can also produce systemic side effects, including the association with the acquired cardiovascular disease. It may be possible to accept as mechanisms of this interrelation, the changes in the lipid metabolism, the inflammatory markers action, which are common to both diseases, and also the direct action of oral bacteria in the atherosclerosis process. Thus, due to the biological associations between diseases and the fact of the atherosclerosis to begin in the childhood period, a behavior based on oral health care and metabolic control, from an early age, is essential for patients with cardiovascular disease. The aim of this research was to evaluate the effectiveness of two periodontal treatment methods, such as the conventional scaling and root planing (SRP) and the full-mouth scaling and root planing (FMSRP), applied to children suffering from periodontal disease with congenital heart disease and structurally normal heart. In this study, the treatments were related to the clinical periodontal parameters [plaque index (PI), gingival index (GI), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL) and bleeding on probing (BOP)] as well as the blood parameters, such as lipid profile [total cholesterol (TC) and fractions, triglycerides (TRG)] and inflammatory markers [fibrinogen (FGN), C-reactive protein (CRP ULTRA), interleukin 6 (IL6), and tumor necrosis factor alpha ($TNF\alpha$)]. The patients were divided into 4 groups: group 1 (17) - Congenital Heart Disease and SRP, group 2 (14) - Normal Heart and SRP, group 3 (16) Congenital Heart Disease and FMSRP and group 4 (15) - Normal Heart and FMSRP. The results showed a significant improvement in clinical periodontal parameters ($p < 0.05$) in the studied groups. Considering the lipid parameters, there was a greater evidence in the TC, TRG and VLDL parameters results, with a significant improvement ($p < 0.05$). There was also an improvement in PCR ULTRA with the congenital heart disease and also normal children treated with SRP ($p < 0,05$). The FGN and IL6 parameters ($p < 0.05$) were really improved in all groups. Thus, within these results, we conclude that both periodontal treatments were effective in these children groups.

KEYWORDS: Periodontitis; Heart Defects, Congenital; Lipid Metabolism; Inflammation Mediators; Child.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Distribuição dos 62 pacientes de acordo com os tratamentos realizados.

.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Avaliação Clínica Odontológica de Pacientes Portadores de Cardiopatia Congênita e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.....	31
Tabela 2: Avaliação Clínica Odontológica de Crianças Portadoras de Coração Estruturalmente Normal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012	32
Tabela 3: Avaliação Laboratorial de Pacientes Portadores de Cardiopatia Congênita e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.	33
Tabela 4: Avaliação Laboratorial de Crianças Portadoras de Coração Estruturalmente Normal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012	34
Tabela 5: Avaliação Clínica Odontológica de Crianças Portadoras de Doença Periodontal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012	35
Tabela 6: Avaliação Laboratorial de Crianças Portadoras de Doença Periodontal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIA	Comunicação interatrial
CIV	Comunicação interventricular
CoAo	Coarctação de aorta
CT	Colesterol total
DBEU	Desinfecção total da boca em estágio único
E AoV	Estenose aórtica valvar
EPV	Estenose pulmonar valvar
FFA	Ácidos graxos livres
FGN	Fibrinogênio
HDL	Lipoproteína de alta densidade
ICAM	Expressão da molécula de adesão intercelular
IG	Índice Gengival
IL1 β	Interleucina 1 beta
IL6	Interleucina 6
IP	Índice de placa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeos
MMPs	Metaloproteinases da matriz
NI	Nível de inserção clínica
PCA	Persistência do canal arterial
PCR	Proteína C reativa
PCR ULTRA	Proteína C reativa ultrassensível
PMNs	Polimorfonucleares
PS	Profundidade de sondagem
RAR	Raspagem e alisamento radicular convencional
SS	Sangramento à sondagem
SUS	Sistema único de saúde
T4F	Tetralogia de Fallot
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
TRG	Triglicerídeos
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	11
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.1 EPIDEMIOLOGIA DAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS E INCIDÊNCIA DE ALTERAÇÕES DENTAIS E ORAIS NESTE GRUPO DE PACIENTES	16
1.2 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA DOENÇA PERIODONTAL E SUA ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS SISTÊMICAS, ENTRE ELAS A DOENÇA ATEROSCLERÓTICA	17
1.3 RELAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS DO PERIODONTO COM OS NÍVEIS LIPÍDICOS E A GÊNESE DA PLACA ATEROSCLERÓTICA	19
1.4 INTERDISCIPLINARIDADE E POLÍTICAS DE SAÚDE DO BRASIL ENVOLVENDO A DOENÇA PERIODONTAL, ATEROSCLEROSE E CRIANÇAS PORTADORAS DE CARDIOPATIA CONGÊNITA	21
2 MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA	26
2.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL	27
2.3 TRATAMENTOS PERIODONTAIS REALIZADOS	28
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
3 RESULTADOS	30
4 DISCUSSÃO	37
CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44
APÊNDICES	51
ANEXOS	55
ARTIGO CIENTÍFICO 1	58
ARTIGO CIENTÍFICO 2	86

INTRODUÇÃO GERAL

A placa bacteriana é a responsável pelo surgimento e manutenção da doença periodontal, mas são os mecanismos de defesa do hospedeiro que desempenham importante papel na sua patogênese (GENCO; OFFENBACHER; BECK, 2002; VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013). É geralmente aceito que certos organismos dentro da flora microbiana da placa dental são os agentes etiológicos principais da periodontite. A periodontite é uma das doenças crônicas inflamatórias mais comuns do mundo (EKE *et al.*, 2012), de 44% a 57% da população adulta sofrem de periodontite moderada, enquanto que cerca de 10% sofrem de periodontite grave (BECK; OFFENBACHER, 2001).

Há muito tempo se reconhece que condições sistêmicas podem contribuir para a expressão de doenças periodontais. Apesar do conhecimento de que doenças sistêmicas são capazes de aumentar o risco à periodontite, apenas a partir do final do século passado começaram a surgir evidências de que infecções da cavidade bucal, notadamente as doenças periodontais, são capazes de influenciar a severidade de determinadas doenças sistêmicas (MATTILA *et al.*, 1989).

A plausibilidade biológica da associação entre doenças periodontais e cardiovasculares é bastante estudada e inclui alguns possíveis mecanismos, como, por exemplo, altas concentrações de colesterol e ação de bactérias orais no processo de aterosclerose, ou ainda, a participação de proteínas de fase aguda que podem estar aumentadas na periodontite crônica (FISCHER, 2005).

Hipertensão arterial, dislipidemia, predisposição genética, tabagismo, obesidade, sedentarismo e diabetes melito são bem conhecidos como os fatores de risco clássicos para a aterosclerose, assim como também são conhecidas as suas complicações, como o infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral isquêmico (SABA-CHUJFI; PEREIRA; DIAS, 2007). Em um recente estudo, Mansur e Favarato (2012) observaram que, apesar da redução progressiva da mortalidade por doença cardiovascular no Brasil, as taxas de morte continuam elevadas e podem ser decorrentes da alta prevalência da doença e pobre controle dos fatores de risco. Apesar disso, esses fatores de risco não justificam toda a variação na incidência de doenças cardiovasculares e doenças cerebrovasculares. Nesse contexto, vem sendo

estudado outros fatores de risco para alterações cardiovasculares, dentre eles a doença periodontal (DIAS, 2002).

A doença periodontal é capaz de predispor à doença vascular, devido a uma rica fonte microbiana subgengival, que lhe é ofertada, e produtos de resposta do hospedeiro. Ainda, os profissionais da saúde devem estar cientes de que essas doenças compartilham muitos fatores de risco e têm similaridades evidentes nos mecanismos patogênicos básicos (GENCO; VAN DYKE, 2010; KINANE; LOWE, 2000). Possíveis mecanismos para a relação infecção-inflamação locais e alterações sistêmicas que estariam relacionados à capacidade da inflamação crônica, como a periodontite, são capazes de iniciar e manter níveis sistêmicos elevados de diversas citocinas relacionadas à resposta da fase aguda da inflamação (EBERSOLE; CAPPELLI, 2000; VAN DYKE; VAN WINKELHOFF, 2013).

Diversos mecanismos biológicos pelo qual a doença periodontal pode causar a doença cardiovascular têm sido propostos. Sendo assim, merece mais consideração a possibilidade de que a periodontite possa ser um estímulo potencial a evocar uma resposta inflamatória sistêmica (MATTILA *et al.*, 2002).

As periodontites estão associadas ao aumento dos níveis de PCR e de fibrinogênio, sendo que esses têm predisposição independente para as doenças coronarianas. Existem evidências de que o aumento dos níveis de marcadores sistêmicos da inflamação, como a PCR e a IL6, está associado a doenças cardiovasculares (PACKARD; LIBBY, 2008; ZHU *et al.*, 2000).

D'Aiuto *et al.* (2005) analisaram os efeitos em curto prazo da Terapia Periodontal nos marcadores de inflamação e colesterol, encontrando mudanças na inflamação que foram independentes de idade, gênero, massa corpórea e etnia, porém, uma significativa interação entre fumantes e regime terapêutico foi encontrada. Esse estudo mostrou um decréscimo no CT e LDL depois de dois meses da terapia periodontal, concluindo, assim, que a periodontite causa moderada inflamação sistêmica em indivíduos sistemicamente saudáveis e que o tratamento periodontal pode ser coadjuvante no controle dos níveis de colesterol dos indivíduos. Katz *et al.* (2002) em um estudo analisaram a relação entre lipídios e a doença periodontal, com fatores de controle relatados: colesterol elevado, alta massa corpórea, idade, pressão diastólica e fumo. Constataram que a presença de bolsas periodontais foi positivamente associada aos altos níveis de colesterol e LDL nos homens.

Com a finalidade de interromper esse ciclo de resposta inflamatória, se preconiza o tratamento da doença periodontal. O tratamento básico é o mais comumente realizado, constituindo-se, principalmente, de instrução e motivação da higiene oral, bem como da raspagem e alisamento radicular. Sabe-se, atualmente, que o sucesso clínico desse modelo tradicional decorre, sobretudo, da redução de periodontopatógenos, acompanhada de aumento das bactérias chamadas benéficas (CORTELLI; COSTA; LIMA, 2010). Com o propósito de evitar a transmissão de patógenos das bolsas periodontais não tratadas para as recentemente instrumentadas, e também para as bolsas em fase de reparação tecidual, o conceito de *one-stage-full-mouth disinfection*, outro tratamento periodontal conhecido como desinfecção total de boca em estágio único (DBEU), foi proposto pelo grupo de pesquisadores de Leuven, Bélgica, coordenado por Marc Quirynen (QUIRYNEN *et al.*, 1995). O protocolo original proposto pelos pesquisadores incluía a desinfecção de toda a cavidade bucal, associado ao uso de enxaguatórios bucais à base de clorexidina. Agentes antimicrobianos, tais como a clorexidina, são usados frequentemente como adjunto à terapia periodontal. Desde 1970, a clorexidina tem sido usada com sucesso na Odontologia, por ser um efetivo agente bactericida contra bactérias gram-negativas e gram-positivas, bem como contra outros microrganismos, e é considerada o padrão-ouro de antimicrobiano para bochecho (MCCOY *et al.*, 2008).

Não só a prevenção da doença periodontal como também da doença aterosclerótica tem gerado interesse dentro da faixa etária pediátrica, já que há anos estudos demonstram que concentrações de LDL colesterol estão positivamente associadas às estrias de gordura na aorta e nas artérias coronárias de crianças (BERENSON *et al.*, 1992; MCGILL *et al.*, 2000; MODELLI *et al.*, 2011). Existem evidências, ainda, de que crianças e adultos portadores de cardiopatia congênita parecem ser mais predispostos a essas duas situações, que certamente levarão a danos irreversíveis no futuro (GIANNAKOULAS *et al.*, 2009; PEMBERTON *et al.*, 2010).

Baseado-se nas informações supracitadas, pode-se levantar alguns questionamentos: qual o melhor tipo de tratamento periodontal para saúde de crianças com cardiopatia congênita? Como se comportam os níveis lipídicos nesse grupo de pacientes após os diferentes tratamentos periodontais? Por diminuir o risco de uma doença aterosclerótica, o tratamento periodontal auxiliaria na qualidade de

vida de crianças portadoras de cardiopatia congênita? Existe dependência dos níveis lipídicos ou também dos fatores inflamatórios associados?

O objetivo geral desta pesquisa foi comparar o efeito de duas modalidades de tratamento periodontal, na evolução da periodontite em crianças portadoras de cardiopatia congênita e com coração estruturalmente normal.

Os objetivos específicos desta pesquisa foram:

1. Avaliar a efetividade de duas modalidades de tratamento:

- Raspagem e Alisamento Radicular Convencional (RAR)
- Desinfecção Total de Boca em Estágio Único (DBEU).

2. Relacionar a modalidade de tratamento com:

- Parâmetros clínicos periodontais de índice de placa (IP), índice gengival (IG), profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NI) e sangramento à sondagem (SS).
- Níveis sanguíneos de colesterol total (CT) e frações, triglicerídeos (TRG), fibrinogênio, proteína C reativa ultrasensível (PCR ULTRA), citocinas pró-inflamatórias (IL6 e $TNF\alpha$).

Para que se atenda aos objetivos supracitados, organizou-se o trabalho da seguinte forma: o Capítulo 1, consta de uma revisão da literatura, citando os principais fatos relacionados aos temas abordados nesta pesquisa: cardiopatias congênitas, doenças periodontais, processos inflamatórios envolvidos e formação da placa aterosclerótica. Ainda, neste capítulo, devido ao fato dessa dissertação ser vinculada a um programa de mestrado interdisciplinar, será enfatizada a relação dessas doenças com interdisciplinaridade e políticas de saúde. No segundo capítulo, serão apresentados os encaminhamentos metodológicos, com explicação de como foram efetuadas as avaliações clínicas odontológicas e laboratoriais, como foram executados os tratamentos odontológicos e como se realizou a análise estatística. No Capítulo 3, serão expostos os resultados encontrados e no Capítulo 4, se discutirão os dados. Por fim, delinearemos as considerações finais desta pesquisa.

Como norma do programa de pós-graduação, serão anexados nas páginas finais, os dois artigos, previamente encaminhados à revista científica, contendo partes dos resultados obtidos.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 EPIDEMIOLOGIA DAS CARDIOPATIAS CONGÊNITAS E INCIDÊNCIA DE ALTERAÇÕES DENTAIS E ORAIS NESTE GRUPO DE PACIENTES

As cardiopatias congênitas são atualmente um foco de preocupação para os gestores de saúde que têm como desafio a melhoria dos índices de qualidade de vida e do coeficiente de mortalidade infantil, uma vez que as malformações cardiovasculares são responsáveis por 48% dos óbitos por anomalias congênitas e por 7,9% de todos os óbitos em menores de um ano (HAGEMANN; ZIELINSKY, 2004). A incidência de cardiopatia congênita tem variado em diversos estudos de 4 até 14 por 1.000 nascidos vivos (HAGEMANN; ZIELINSKY, 2004; HOFFMAN; KAPLAN, 2002; MARELLI *et al.*, 2007), sendo que a prevalência dessas cardiopatias vem aumentando com o passar do tempo. Em adultos, o aumento de cardiopatia congênita foi de 85% em 15 anos, e em crianças com cardiopatia grave foi de 22% durante o mesmo período (MARELLI *et al.*, 2007). Isso se deve ao avanço da cardiologia pediátrica nas últimas décadas, com a introdução de novas técnicas cirúrgicas e melhorias nos cuidados anestésicos e de pós-operatório. Pelo exposto, o número de pacientes com cardiopatias graves, que necessitam de cuidados odontológicos especializados só tende a aumentar. Os autores Hoffman e Kaplan (2002), em estudo sobre incidência de doença cardíaca congênita, encontraram como sendo as mais frequentes, por milhão de nascidos vivos, a Comunicação Interventricular (CIV) com média de 3.570, Comunicação Interatrial (CIA) 941, Persistência do Canal Arterial (PCA) 799, Estenose Pulmonar Valvar (EPV) 729, Tetralogia de Fallot (T4F) 421, Coarctação de Aorta (CoAo) 409 e Estenose Aórtica Valvar (EAoV) 401.

Em atenção à importância do tratamento dental nesses pacientes com cardiopatia congênita, existem poucos estudos relacionando alterações dentais e orais a esse grupo de cardiopatias. O primeiro estudo mais abrangente que abordou o assunto foi realizado por Hakala, em 1967, na Universidade Helsinki, que enumerou os fatores que levavam a maior incidência de cárie e seu aparecimento precoce nas crianças cianóticas, entre eles a maior frequência da respiração bucal, o edema da gengiva e o elevado índice de gengivite que acarreta uma maior retenção de resíduos alimentares com aumento da flora bacteriana, a excepcional posição da

criança cardiopata na família que assume uma atitude protetora equivocada, levando a um excesso de indulgência, como, por exemplo, na forma de doces e, por último, a aversão dos dentistas "por medo de complicações" de tratar uma criança com doença cardíaca grave (HAKALA, 1967). Uma maior prevalência de cáries também foi encontrada por outros autores que citaram diferentes causas, como, por exemplo, a presença de fatores predisponentes, incluindo o aumento da susceptibilidade dos dentes de desenvolver defeitos de esmalte e o uso crônico de medicação adocicada (HALLETT; RADFORD; SEOW, 1992). Observou-se também que os pacientes cardiológicos pediátricos com dentição mista são os que apresentam maior incidência de cáries (BUSUTTIL NAUDI *et al.*, 2006).

A saúde bucal precária encontrada nos pacientes com cardiopatia congênita também é resultado de um inadequado cuidado de higiene por parte da criança e dos pais, que negligenciam a limpeza dos dentes. A razão para isso pode ser a preocupação com os aspectos da saúde relacionados à cardiopatia dos filhos (HALLETT; HADFORD; SEOW, 1992). Escovar os dentes duas ou mais vezes ao dia resulta em redução significativa nas cáries (BUSUTTIL NAUDI *et al.*, 2006) e diminui o risco de bacteremia, que pode levar à endocardite infecciosa nesses pacientes. O risco será maior na presença de infecção gengival, trauma nos procedimentos dentários e durante uma simples escovação (HALL, 1980).

Os benefícios de uma boa saúde bucal vão além de evitar uma endocardite infecciosa, focando-se na prevenção da cárie e no diagnóstico e tratamento precoce da doença periodontal. Além disso, as crianças cardíacas ficam menos vulneráveis aos procedimentos dentários estressantes, diminuindo-se o risco de complicações como as hemodinâmicas, pelo baixo débito cardíaco, as decorrentes da cianose persistente e as que estão relacionadas a um sangramento prolongado (HALLETT; RADFORD; SEOW, 1992).

1.2 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA DOENÇA PERIODONTAL E SUA ASSOCIAÇÃO COM DOENÇAS SISTÊMICAS, ENTRE ELAS A DOENÇA ATEROSCLERÓTICA

O mecanismo que envolve a doença periodontal já está estabelecido. A periodontite crônica é uma infecção causada por bactérias Gram-negativas, resultando na destruição dos tecidos que sustentam os dentes. Alguns desses

microorganismos, dentro da flora microbiana da placa dental, são os principais agentes causadores da periodontite. Esses microorganismos, particularmente *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), produzem endotoxinas em forma de lipopolissacarídeos (LPS), que são instrumentos na geração de uma resposta imune mediada do hospedeiro que leva à destruição dos tecidos (BUHLIN *et al.*, 2003).

Muitos fatores de risco estão associados ao desenvolvimento ou à progressão da periodontite em adultos. Fatores de risco controláveis incluem o hábito de fumar, o estresse, a higiene oral precária e as visitas não frequentes ao dentista. Existem fatores de risco não controláveis associados à periodontite, incluindo a hereditariedade, as doenças sistêmicas e a idade. O componente genético não causa a doença; todavia, torna os pacientes mais suscetíveis a um início ou a um desenvolvimento mais grave da doença periodontal (NEWMAN; CARRANZA; TAKEI, 2006).

É bem estabelecido na literatura que as condições sistêmicas podem contribuir para a expressão de doenças periodontais, problemas metabólicos (por exemplo, diabetes melito), discrasias sanguíneas (por ex., leucemia), doença auto-imune (por exemplo, pênfigo), gravidez e puberdade, todas aumentam a incidência de doenças periodontais (VIEIRA; CAMELI; YKEOKA, 2006). Somente nas últimas duas décadas é que se vem demonstrando que as doenças periodontais também são capazes de influenciar a ocorrência e a severidade de outras doenças sistêmicas, incluindo, entre elas, as alterações cardiovasculares (MATTILA *et al.*, 1989).

Por outro lado, a doença isquêmica cardíaca e demais doenças vasculares de origem aterosclerótica são consideradas um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, sendo a principal causa de morbimortalidade (MENDIS *et al.*, 2011). No Brasil, as doenças do aparelho circulatório, principalmente a doença isquêmica cardíaca e as doenças cerebrovasculares, foram as maiores causas de mortalidade, representando 20% de todas as mortes em indivíduos acima de 30 anos (MANSUR; FAVARATO, 2012). O principal fator responsável pela maioria dos casos de doença cardíaca vascular é a aterosclerose. A aterosclerose é um processo de causas multifatoriais, constituindo-se de mecanismos de resposta a injúria, atividade imuno-inflamatória, lipogênica e infecciosa. As consequências da aterosclerose são as obstruções de artérias coronárias, disfunção endotelial, alteração da agregabilidade plaquetária, trombose e espasmo. A doença é evolutiva,

podendo progredir até a oclusão da luz da artéria coronária e risco de estabilização das placas, levando a eventos agudos tais como a angina instável e infarto (FISCHER, 2005). Existe evidência que a formação da placa aterosclerótica se inicia na infância (NAPOLI *et al.*, 1999), fato esse corroborado no estudo de Bogalusa (BERENSON *et al.*, 1992), que descreve os achados anatomopatológicos em aorta e artéria coronária de indivíduos autopsiados com idade entre 3 e 31 anos, os quais demonstraram uma alta associação das estrias de gordura com níveis elevados de colesterol total e LDL colesterol, além de forte correlação com os múltiplos fatores de risco. Presume-se, portanto, que o controle dos fatores de risco na infância pode retardar ou atenuar a progressão da doença aterosclerótica.

1.3 RELAÇÃO DOS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS DO PERIODONTO COM OS NÍVEIS LIPÍDICOS E A GÊNESE DA PLACA ATEROSCLERÓTICA

É geralmente aceito que uma grande parte da destruição dos tecidos periodontais observadas na periodontite é mediada por meio da liberação de citocinas pró-inflamatórias locais por tecidos e células imunitárias, em resposta à flora bacteriana e aos seus produtos/metabólitos, principalmente LPS. Há diversas citocinas pró-inflamatórias implicadas na imunopatologia da periodontite, entretanto, algumas das provas mais convincentes para a destruição do periodonto envolvem a interleucina 1 beta (IL1 β) e TNF α (IACOPINO; CUTLER, 2000).

Essas citocinas estão significativamente elevadas nos sítios de doença periodontal, demonstrando inflamação durante todo o período de doença ativa, o que pode levar à destruição tecidual. Além disso, elas estão significativamente reduzidas após a terapia periodontal e retorno dos tecidos para um estado saudável. Em termos de efeitos destrutivos dos tecidos, acredita-se que a IL1 β recruta células inflamatórias, facilita degranulação de leucócitos polimorfonucleares (PMNs), aumenta a síntese de mediadores inflamatórios (prostaglandinas) e metaloproteinases da matriz (MMPs), inibe a síntese de colágeno e ativa os linfócitos T e B (IACOPINO; CUTLER, 2000).

TNF α é um importante sinal para apoptose celular, reabsorção óssea, secreção de MMPs, expressão da molécula de adesão intercelular (ICAM) e produção de Interleucina 6 (IL6), e, quando produzida, estimula a formação de osteoclastos, promove a reabsorção óssea osteoclástica e facilita a diferenciação de

células T. Essa interleucina (IL6) é sintetizada por fagócitos mononucleares, células do endotélio vascular, fibroblastos e outras células, em resposta a microorganismos e outras citocinas, especialmente IL1 e TNF α . A IL6 tem como ação o aumento da síntese de proteínas de fase aguda pelos hepatócitos e um importante papel na trombose, pois promove a adesão dos leucócitos à parede vascular e a agregação plaquetária (FISCHER, 2005). Recentemente, tem havido grande interesse pelos efeitos sistêmicos dos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias potencialmente elevados na periodontite. Pesquisadores sugerem que a doença periodontal induz elevações de citocinas pró-inflamatórias como a IL1 β e TNF α que podem ter um efeito prejudicial sobre o feto e desempenhar um papel importante no desenvolvimento de uma variedade de doenças sistêmicas (cardiovasculares, circulatórias, pulmonares, metabólicas) (IACOPINO; CUTLER, 2000). De fato, estudos têm sugerido que, na periodontite avançada, níveis de IL1 β e TNF α são suficientemente elevados no fluido crevicular gengival para serem “despejados” sistemicamente, se inserindo numa gama detectável no soro em ensaios biológicos (OFFENBACHER; FARR; GOODSON, 1981).

Dessa forma, pacientes com periodontite avançada podem ser considerados como sistemicamente comprometidos, mesmo na ausência ostensiva dos sintomas clínicos da doença (IACOPINO; CUTLER, 2000). No entanto, tais estudos só mediram os níveis de IL1 β e TNF α no fluido crevicular gengival (OFFENBACHER; FARR; GOODSON, 1981) e só avaliaram a liberação de citocinas em resposta ao LPS, estimulando os monócitos no sangue periférico em cultura (IACOPINO; CUTLER, 2000). Pacientes com doença cardiovascular e periodontal mostram concentrações maiores de citocinas quando comparados a indivíduos com somente doença cardiovascular (HIGASHI *et al.*, 2009).

As citocinas inflamatórias, entre elas a IL1, IL6, TNF α , e interferon γ , regulam a expressão dos genes da fase aguda e a síntese de proteína. A resposta de fase aguda pode se tornar persistente no caso de haver uma inflamação crônica. O PCR e fibrinogênio, uma das principais proteínas envolvidas nessa fase, são sintetizadas principalmente no fígado, mas também podem ser produzidas em locais extra-hepáticos. O estímulo inflamatório, juntamente com o aumento da biossíntese hepática de PCR, faz com que ocorra neutrofilia e migração de PMNs para os tecidos lesados (SCHULTZ; ARNOLD, 1990). O fibrinogênio, além de ser um marcador de fase aguda de inflamação, também participa no processo de formação

da aterosclerose, pois além de exercer ação predominante na viscosidade sanguínea, facilita o acúmulo extracelular subendotelial de LDL e transfere colesterol das plaquetas para os monócitos/macrófagos, podendo, ainda, participar da formação das células espumosas (VIDAL *et al.*, 2009). Em estudos experimentais em ratos, Guo *et al.* (2009) demonstraram a ação do fibrinogênio nas células musculares lisas endoteliais, enfatizando a importância da terapia de hiperfibrinogenemia na aterosclerose, particularmente no período inicial da aterosclerose.

Poucos estudos correlacionam doença periodontal em crianças e marcadores inflamatórios. Shaddox *et al.* (2011) estudando uma população jovem, com idade entre 5 a 20 anos, observaram nos pacientes com periodontite níveis elevados de endotoxina sistêmica para LPS, os quais estavam fortemente correlacionados aos parâmetros clínicos e níveis mais elevados de citocinas no fluido crevicular gengival.

No entanto, Bittencourt, Figueredo e Fischer (2004), num estudo realizado com 10 pacientes na Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ, não encontraram diferenças estatisticamente significantes nos níveis de colesterol e TGR antes e 1 mês após o tratamento periodontal não cirúrgico, concluindo, assim, que a terapia periodontal não foi efetiva no controle destes parâmetros.

1.4 INTERDISCIPLINARIDADE E POLÍTICAS DE SAÚDE DO BRASIL ENVOLVENDO A DOENÇA PERIODONTAL, ATEROSCLEROSE E CRIANÇAS PORTADORAS DE CARDIOPATIA CONGÊNITA

Para o manejo do paciente com doença periodontal crônica, a interdisciplinaridade com outros profissionais de saúde deve ser recomendada, visando identificar autocuidado deficitário, para que, durante o tratamento, se desenvolvam sistemas de compensação de acordo com a realidade sociocultural de cada paciente (NUTO *et al.*, 2011). É ainda fundamental que o odontólogo interaja com o médico no tratamento de pacientes com doença sistêmica, como a aterosclerose e diabetes melito, pois a associação dessas com as doenças periodontais já está estabelecida. No estudo NHANES I (First National Health and Nutritional Examination Survey), constatou-se um aumento de 25% no risco relativo para doença coronariana nos pacientes com periodontite (DESTEFANO *et al.*, 1993).

Os riscos relativos para doença coronariana e para eventos coronarianos fatais foram 1,5 e 1,9 respectivamente para um nível de confiança de 95% (BECK *et al.*, 1996). A doença periodontal aumentou em 19% o risco de doença cardiovascular, sendo esse risco mais proeminente na população abaixo dos 65 anos, aumento esse que chegou a 44% (JANKET *et al.*, 2003). Em uma revisão englobando cerca de 90.000 pacientes com periodontite, o risco relativo para doença cardiovascular foi 120% maior no grupo afetado, quando comparado ao controle (THOMOPOULOS *et al.*, 2011).

Quando o paciente é pediátrico, o envolvimento interdisciplinar torna-se ainda mais importante. Um dos maiores desafios da interdisciplinaridade é o acompanhamento das crianças e adolescentes com obesidade. O sobrepeso está também associado à alta prevalência de resistência à insulina, aos elevados níveis de lipídios sanguíneos, ao aumento da pressão arterial e à intolerância à glicose. Essas condições, frequentemente assintomáticas, aumentam o risco do indivíduo, a longo prazo, de desenvolver diabetes melito e doenças cardíacas na vida adulta (U.S. TASK FORCE, 2005). Com a finalidade de reduzir o abandono do acompanhamento desses pacientes, torna-se necessária a avaliação médica, nutricional, psicológica e de educador físico constante. Efeitos negativos do sobrepeso e obesidade também são sentidos na saúde dos tecidos gengivais. Franchini *et al.* (2011), estudando uma população jovem entre 10 a 17 anos, afirmam que isso se deve a combinação dos perfis inflamatório e metabólico com atitude negligenciada para a prevenção da doença oral, portanto, o dentista deveria fazer parte dessa equipe.

Para o fortalecimento de um controle adequado dos fatores de risco, se faz necessário um seguimento contínuo da criança, envolvendo, além da multiprofissionalidade, os diversos níveis de atenção primária e promoção à saúde. Seria impossível pensar em prevenção sem antes assegurar ao paciente um acesso a um sistema de saúde e informação, sem proporcionar a ele o direito de longitudinalidade e integralidade no seu tratamento, e sem atender a necessidade de uma apropriada abordagem familiar.

O Ministério da Saúde vem desenvolvendo ações para que os princípios norteadores do SUS (Sistema Único de Saúde) sejam alcançados, promovendo o acesso universal, assumindo a responsabilidade por todos os problemas de saúde da população. Em um país de dimensão continental e com

recursos financeiros restritos, se torna evidente a preferência para certos programas de assistência à saúde. Apesar de programas preventivos serem o foco da atual gestão, a doença periodontal, que é uma das principais causas de perda dos dentes, não é tão valorizada quanto, por exemplo, o programa da reabilitação protética no Brasil Sorridente. No atendimento odontológico básico pelo SUS, a rotina clínica permanece centrada no tratamento efetuado mecanicamente, como linha de produção: o cirurgião-dentista recebe usuários, em sua maioria jovens, com cavitações e raízes residuais, e os libera com restaurações e suturas (BARROS; BOTAZZO, 2011). Como se observa nas Diretrizes da Política Nacional de Saúde Bucal, do Ministério da Saúde, a assistência odontológica pública no Brasil tem-se restringido quase que completamente aos serviços básicos, ainda assim com grande demanda reprimida, sendo que os serviços odontológicos especializados, aqui incluídos grande parte dos tratamentos periodontais, correspondem a não mais do que 3,5% do total dos procedimentos clínicos odontológicos. A expansão da rede assistencial de atenção secundária e terciária não acompanhou, no setor odontológico, o crescimento da oferta de serviços de atenção básica (BRASIL, 2004).

Com relação às doenças cardiovasculares, o programa de prevenção e combate à hipertensão arterial, “Eu Sou 12x8”, é mais valorizada que ações para o controle das dislipidemias. O Ministério da Saúde, na sua Política Nacional de Alimentação e Nutrição, no capítulo de prevenção e controle dos distúrbios nutricionais, reconhece que as intervenções convencionais de saúde exigirão uma atuação em um grupo predominante do sobrepeso e obesidade, diabetes melito, doenças cardiovasculares e algumas afecções neoplásicas (BRASIL, 2003), porém, não especifica quais as ações deverão ser priorizadas para prevenção, diagnóstico e tratamento das dislipidemias. Já a Sociedade Brasileira de Cardiologia, entidade médica sem fins lucrativos, tem como uma de suas metas a promoção na melhoria da qualidade de vida e da saúde cardiovascular e promove, anualmente, no dia 08 de Agosto, o Dia Nacional de Controle do Colesterol.

Apesar de não existirem políticas de saúde do governo federal específicas para diagnóstico precoce e tratamento das cardiopatias congênitas, nos dias atuais, o diagnóstico precoce vem gerando interesse nos governantes, já que a Sociedade Brasileira de Pediatria, desde janeiro de 2012, referenda a realização do Teste do Coraçãozinho, que consiste na realização da oximetria de pulso em todos os recém-nascidos por ocasião da alta da maternidade, com o objetivo de descartar

cardiopatias congênitas cianóticas. Esse teste já é obrigatório em alguns estados, sendo o pioneiro o Mato Grosso do Sul e recentemente implantado no Paraná. Não há, ainda, uma legislação federal, mas tramita na Câmara dos Deputados o projeto de lei (PL) 484/2011, que altera o Estatuto da Criança e do Adolescente, incluindo vários testes de triagem neonatal, dentre os quais o da oximetria de pulso. Como as máis-formações cardíacas possuem alto índice de mortalidade, é consenso a realização do ecocardiograma fetal para um diagnóstico precoce efetivo. Em nível Federal, não existe política voltada à realização desse exame, contudo, alguns esforços regionais estão sendo realizados com a finalidade de aumentar o diagnóstico precoce destas cardiopatias, entre eles os programas “Mãe Curitibana”, no Paraná, e o “Dias F” , no Rio Grande do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa proposta foi um ensaio clínico prospectivo com abordagem quantitativa. O local de sua realização se efetivou no *Campus* da Unioeste, em Cascavel, e no Hospital Universitário do Oeste do Paraná, também em Cascavel - PR. O período de coleta de dados do projeto decorreu de março a dezembro de 2012, e o tempo total de execução da pesquisa foi 18 meses, com início em janeiro de 2012 e término em junho de 2013.

Um total de 90 crianças foi avaliado na Clínica Odontológica da Unioeste, Ambulatório de Cardiologia Pediátrica do Hospital Universitário do Oeste do Paraná e em clínica privada especializada, sendo que 62 crianças foram selecionadas para a pesquisa. Vinte oito delas foram excluídas por não preencherem todos os critérios de inclusão ou por apresentarem algum critério de exclusão, ou ainda por não comparecerem em alguma das fases propostas para a coleta de dados.

Os critérios de exclusão foram: uso de antibioticoterapia e antiinflamatórios, esteróides ou não esteróides, no mês anterior ao estudo; tratamento periodontal nos últimos 6 meses; e portadores de qualquer doença inflamatória crônica, como, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla, ou Doença de Chron (Apêndice A). Como critérios de inclusão, as crianças deveriam ter entre 7 a 12 anos de idade e apresentar periodontite crônica, com pelo menos 2 sítios com profundidade de sondagem acima de 5mm e nível de inserção clínica acima de 2mm, com sangramento à sondagem e inflamação gengival ao exame clínico. Os dentes deveriam se apresentar razoavelmente alinhados, com um número mínimo de 20 dentes na arcada, com o exame clínico realizado nas faces vestibular, lingual/palatina, mesial e distal (Apêndice B).

Do total de crianças, 33 eram portadoras de cardiopatia congênita e 29 apresentavam coração estruturalmente normal. As crianças não manifestavam nenhum comprometimento sistêmico. Para selecionar os pacientes portadores de cardiopatia congênita, obteve-se uma amostra estratificada proporcional por cardiopatia, baseando-se, para isso, no estudo de Hoffman e Kaplan (2002). As crianças com coração estruturalmente normal foram aquelas que, para avaliações de rotina, procuraram os serviços citados anteriormente.

A coleta de dados constituiu-se em 3 fases, num período de 180 dias.

As avaliações clínicas odontológicas foram realizadas em intervalos de 90 dias, correspondendo a: *1ª. Fase* - início, *2ª. Fase* – 90 dias e *3ª. Fase* – 180 dias. Já os exames laboratoriais foram coletados e aferidos na fase inicial e na *3ª. Fase* (180 dias). Em relação às medidas ELISA de citocinas, essas foram coletadas também na fase inicial e na *3ª. Fase*, mas foram aferidas somente após o término de todas as coletas de sangue.

Os dados das avaliações laboratoriais foram registrados no Apêndice B e das avaliações odontológicas nos Anexos 1 e 2.

Para todas as crianças do grupo de cardiopatia congênita, como profilaxia para endocardite infecciosa, foi administrado Amoxicilina via oral, 50mg/Kg (máximo de 2g), de 30 a 60 minutos antes do procedimento dentário, dose preconizada pela American Heart Association (WILSON *et al.*, 2007).

2.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA

Os exames clínicos odontológicos foram registrados nos Anexos 1 e 2, e realizados por um único examinador previamente treinado, que, por meio de uma sonda periodontal do Tipo WILLIAMS no. 23, determinou:

1. Índice de placa (IP) de Silness & Løe (SILNESS; LOE, 1964), que consiste da ausência ou presença de uma placa visível localizada na superfície de cada dente dividido em quatro zonas: bucal, distal, mesial e lingual;
2. Índice gengival (IG) de Løe & Silness (LOE; SILNESS, 1963), representa a dicotomização para a presença ou ausência de hemorragia, nas mesmas zonas citadas anteriormente;
3. Profundidade de sondagem (PS), definida pela distância do fundo de sulco até a margem gengival e aferida em seis pontos: méso-vestibular, vestibular, disto-vestibular, disto-lingual/palatina, lingual/palatina e méso-lingual/palatina de cada dente a ser examinado;
4. Nível de inserção clínica (NI), também avaliado nos mesmos pontos da profundidade de sondagem;
5. Sangramento à sondagem (SS).

Esse processo foi executado no início do tratamento (*1ª. Fase*), 90 dias (*2ª. Fase*); e após 180 dias (*3ª. Fase*).

2.2 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

A amostra de sangue foi obtida no período matutino, após jejum de oito horas, coletada na fase inicial e na 3ª. Fase, no mesmo dia e anteriormente à avaliação clínica odontológica, mediante prévia autorização do responsável. Em seguida a coleta, o sangue foi centrifugado a 3.200 rpm por 10 minutos e o soro armazenado em tubos Eppendorf. Para análise das citocinas pró-inflamatórias, parte do soro de todos os pacientes foi mantido a -20°C, somente sendo avaliado após término da 3ª. Fase. Para a análise de FGN, foi coletada amostra de sangue total em tubo contendo citrato de sódio, sendo o plasma separado por centrifugação a 3.200 rpm por 10 minutos. As amostras de sangue e plasma obtidas foram analisadas para determinação do perfil lipídico e marcadores inflamatórios pelos seguintes parâmetros:

1. Colesterol total (CT);
2. Colesterol frações (LDL, HDL e VLDL);
3. Triglicerídeos (TGR);
4. Proteína C Reativa Ultrassensível (PCR ULTRA);
5. Fibrinogênio (FGN);
6. Expressão da IL6 e TNF α .

Os níveis de CT, HDL, VLDL e TGR e foram determinados pela metodologia de química seca em analisador bioquímico automatizado, modelo Vitros Fusion 5.1 (Ortho-Clinical Diagnostics Johnson & Johnson®, Rochester, NY, USA). O LDL foi calculado através da fórmula de Friedewald [LDL = CT – HDL – (TGR/5)]. O PCR foi aferido por meio de tecnologia de quimioluminescência em um equipamento Immulite® modelo 1000 (Siemens AG, Munique, Alemanha). Os níveis de FGN foram determinados por meio da metodologia de coagulometria em equipamento automatizado modelo Sysmex CA 500 (Siemens, Marburg, Alemanha). As citocinas inflamatórias (IL6 e TNF α) foram determinadas por intermédio da metodologia de ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Acoplado a Enzimas) em placa Invitrogen™ (Califórnia, USA), conforme os protocolos determinados pelo fabricante, e a leitura realizada em leitora multicanal modelo MR-96A (Mindray, China).

2.3 TRATAMENTOS PERIODONTAIS REALIZADOS

Após o exame clínico e a avaliação laboratorial iniciais, os pacientes com cardiopatia congênita e com coração estruturalmente normal foram divididos, aleatoriamente, em 4 grupos de crianças, de acordo com a Quadro 1.

Quadro 1. Distribuição dos 62 pacientes de acordo com os tratamentos realizados.

<i>Grupo 1</i> 17 crianças com cardiopatia congênita	<i>Grupo 2</i> 14 crianças com coração normal	<i>Grupo 3</i> 16 crianças com cardiopatia congênita	<i>Grupo 4</i> 15 crianças com coração normal
Tratamento periodontal não cirúrgico (Raspagem e alisamento radicular convencional) + controle mecânico (Técnica de Bass + fio dental)	Tratamento periodontal não cirúrgico (Raspagem e alisamento radicular convencional) + controle mecânico (Técnica de Bass + fio dental)	Tratamento periodontal não cirúrgico (Desinfecção total de boca em estágio único) + controle mecânico (Técnica de Bass + fio dental)	Tratamento periodontal não cirúrgico (Desinfecção total de boca em estágio único) + controle mecânico (Técnica de Bass + fio dental)

Esse número de crianças por grupo foi suficiente baseado no cálculo do tamanho da amostra, realizado por meio do teste ANOVA, com poder de teste de 95%, que demonstrava que 12 crianças por grupo seria o mínimo estabelecido para significância estatística dos resultados.

O tratamento periodontal básico é o mais comumente realizado para a doença periodontal, constituindo-se principalmente de instrução e motivação da higiene oral, bem como da raspagem e alisamento radicular, sendo que, tradicionalmente, os procedimentos de raspagem e alisamento radicular são executados em quadrantes ou sextantes com intervalos regulares de uma ou duas semanas.

Na desinfecção total de boca em estágio único (DBEU), proposto pelo grupo de Quirynen *et al.* (1995), o protocolo inclui a desinfecção de toda a cavidade bucal em um período de 24 horas, além da eliminação de placa e depósitos

agregados à superfície dental e medidas preventivas de formação de biofilme, utilizando-se enxaguatórios bucais à base de clorexidina. Adicionalmente, promove-se a desinfecção de reservatórios microbianos bucais, como língua e tonsilas, e irrigação subgengival das bolsas periodontais, tratadas por três vezes em um intervalo de dez minutos também com o uso de clorexidina.

Para cada grupo foi dada a instrução do controle mecânico, a mesma para todos os grupos, e a terapia periodontal de suporte, que foi realizada somente na 1ª. Fase. Nas fases seguintes os pacientes foram novamente instruídos.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em sessão ordinária do dia 24.11.2011, processo CR nº 1382/2011 (Anexo 3). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice C) foi assinado pelo responsável.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre grupos foi apresentada em tabelas com as unidades e medidas correspondentes. As variáveis foram reportadas como a média \pm erro padrão da média. Quanto à análise estatística, os dados obtidos na Avaliação Clínica Odontológica foram analisados e avaliados por meio do teste ANOVA ($p < 0,05$). O teste t de Student ($p < 0,05$) foi utilizado para avaliar o perfil lipídico (CT, LDL, TGR, VLDL e HDL) e o fibrinogênio, pois todos esses parâmetros apresentaram distribuição normal após a aplicação do teste de Shapiro-Wilk. Com relação às avaliações dos outros marcadores inflamatórios (PCR, IL6 e TNF α), como não houve uma distribuição de normalidade, foi utilizado o teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$). Para os cálculos das variações das médias (Δ) foram usados dados da 1ª. Fase (fase inicial) e 3ª. Fase (180 dias), empregando-se o Teste ANOVA ($p < 0,05$) para os dados com distribuições de normalidade, e o Teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) para aqueles sem distribuições de normalidade.

3 RESULTADOS

Do total de pacientes (62), 50% eram do gênero feminino e 50% do masculino. Nos grupos de cardiopatas, houve um ligeiro predomínio de meninas (*grupo 1* - 59%; *grupo 3* – 56%), e no grupo de corações estruturalmente normais, houve predomínio de meninos (*grupo 2* – 64%; *grupo 4* – 53%). A média etária foi de $9,8 \pm 1,7$ anos (*grupo 1* – 9,8 anos; *grupo 2* – 9,8 anos; *grupo 3* – 9,7 anos; *grupo 4* – 9,9 anos).

Em um universo de crianças portadoras de doença cardíaca, são as com cardiopatia congênita as mais encontradas em consultórios especializados. Dos 33 pacientes portadores de cardiopatias congênitas que aceitaram participar do estudo, 10 apresentavam Comunicação Interventricular (CIV) e 1 era portador de CIV + Estenose Pulmonar Valvar (EPV), todos sem repercussão hemodinâmica (não operados); 6 Comunicação Interatrial (CIA), também sem repercussão, e 1 paciente com CIA + EPV que foi submetido à correção cirúrgica; 3 Estenose Aórtica Valvar (EAoV); 2 Persistência do Canal Arterial (PCA) muito pequena sem indicação cirúrgica; 2 Estenose Pulmonar Valvar; 2 encontram-se em PO de Coarctação de Aorta; 1 paciente é portador de Insuficiência Mitral Congênita; os pacientes portadores de cardiopatias congênitas cianóticas já foram operados, sendo 3 com Tetralogia de Fallot, 1 com Truncus Arteriosus e 1 com Cardiopatia Congênita Complexa. Das 29 crianças com corações normais, 10 delas foram encaminhadas ao serviço especializado por apresentarem sopro funcional, e as restantes para realizar exames de rotina para liberação de atividade física ou para avaliação da saúde bucal.

Com relação ao tratamento periodontal de crianças cardiopatas e crianças normais, ambos demonstraram ser efetivos quanto aos dados clínicos, apresentando significativa melhora, principalmente, aqueles relacionados aos parâmetros de profundidade de sondagem (PS) e nível clínico de inserção (NI), com destaque maior para o período de 90 dias, quando ocorreu uma redução mais sensível. Em contrapartida, somente o índice gengival (IG) não apresentou melhora entre os períodos de 90 e 180 dias no *grupo 3* e *4* (DBEU, cardiopata e normais respectivamente), apesar de ter ocorrido uma melhora significativa deste índice quando comparados os dados da 1ª. e 3ª. Fases em ambos os grupos. Devido a tal fato, no IG houve diferença estatisticamente significativa quando analisado as

variações das médias (Δ) entre os grupos de tratamento RAR e DBEU, demonstrando superioridade no RAR tanto no grupo de cardiopatas quanto no de crianças normais. Os dados obtidos na Avaliação Clínica Odontológica estão demonstrados na *tabela 1* e 2.

Tabela 1: Avaliação Clínica Odontológica de Pacientes Portadores de Cardiopatia Congênita e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (<i>grupo 1</i>)				DBEU (<i>grupo 3</i>)			
	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
IP %	46.81±0.70	47.67±0.64	32.65±0.53 [#]	-14.16±0.75	39.86±0.40	26.97±0.43 [#]	22.19±0.57 [#]	-17.67±1.00
IG %	7.61±0.17	8.36±0.17	4.13±0.11 [#]	-3.48±0.21	5.41±0.12	3.08±0.07 [#]	4.16±0.17 [#]	-1.25±0.15*
SS %	20.25±0.56	7.99±0.15 [#]	6.32±0.15 [#]	-13.93±0.52	18.03±0.41	5.59±0.24 [#]	4.51±0.16 [#]	-13.52±0.46
PS mm	1.88±0.01	1.53±0.01 [#]	1.39±0.01 ^{##}	-0.49±0.07	1.93±0.01	1.50±0.01 [#]	1.43±0.01 ^{##}	-0.40±0.10
NI mm	1.89±0.01	1.53±0.01 [#]	1.40±0.01 ^{##}	-0.49±0.07	1.93±0.01	1.50±0.01 [#]	1.43±0.01 ^{##}	-0.40±0.10

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

^{##} Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação às duas fases anteriores, com $p < 0,05$

* Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em porcentagens para IP (Índice de placa), IG (Índice gengival) e SS (Sangramento à sondagem) e em milímetros para PS (Profundidade de sondagem) e NI (nível de inserção clínica).

Tabela 2: Avaliação Clínica Odontológica de Crianças Portadoras de Coração Estruturalmente Normal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (grupo 2)				DBEU (grupo 4)			
	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
IP %	58.87±0.67	39.66±0.4 [#]	18.80±0.34 ^{##}	-40.07±0.55	59.06±20.8	37.72±0.4 [#]	29.74±0.23 ^{##}	-29.32±0.75
IG %	14.58±0.44	6.60±0.10 [#]	2.92±0.06 ^{##}	-11.66±0.04	8.93±0.24	4.87±0.11 [#]	6.28±0.12 [#]	-2.65±0.02 [*]
SS %	25.22±0.50	8.91±0.20 [#]	5.77±0.15 [#]	-11.66±0.04	22.12±0.63	12.64±0.3 [#]	5.91±0.09 ^{##}	-16.21±0.04
PS mm	1.94±0.01	1.66±0.01 [#]	1.51±0.01 ^{##}	-0.43±0.02	1.88±0.01	1.55±0.01 [#]	1.33±0.01 ^{##}	-0.55±0.02
NI mm	1.95±0.01	1.67±0.01 [#]	1.51±0.01 ^{##}	-0.44±0.02	1.89±0.01	1.56±0.01 [#]	1.33±0.01 ^{##}	-0.55±0.02

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

^{##} Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação às duas fases anteriores, com $p < 0,05$

^{*} Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em porcentagens para IP (Índice de placa), IG (Índice gengival) e SS (Sangramento à sondagem) e em milímetros para PS (Profundidade de sondagem) e NI (nível de inserção clínica).

Os valores sanguíneos relacionados ao perfil lipídico (CT, LDL, HDL, TRG, VLDL) e marcadores inflamatórios (FGN, PCR ULTRA, IL6 e TNF α) estão apresentados na *tabela 3*, para os grupos de pacientes com cardiopatia, e na *tabela 4*, para o grupo de crianças com coração estruturalmente normal.

Tabela 3: Avaliação Laboratorial de Pacientes Portadores de Cardiopatia Congênita e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (grupo 1)			DBEU (grupo 3)		
	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
CT mg/dL	153.76±0.60	149.08±0.62 [#]	-4.68±0.55	154.80±0.41	149.76±0.53 [#]	-5.04±0.54
LDL mg/dL	85.83±0.53	90.78±0.70 [#]	4.95±0.12	85.12±0.46	81.92±0.62	-3.20±0.15*
HDL mg/dL	51.35±0.32	51.57±0.23	0.22±0.04	54.37±0.44	53.53±0.44	-0.84±0.13
TRG mg/dL	82.94±0.86	75.85±0.80 [#]	-7.09±0.83	76.93±0.70	71.15±0.61 [#]	-5.78±0.86
VLDL mg/dL	16.51±0.17	15.21±0.15 [#]	-1.30±0.16	15.35±0.14	14.30±0.11 [#]	-1.05±0.18
FGN g/L	2.71±0.02	2.52±0.01 [#]	-0.19±0.02	2.74±0.02	2.35±0.01 [#]	-0.39±0.02
PCR mg/dL	0.61±0.04	0.20±0.01 [#]	-0.41±0.04	0.12±0.01	0.20±0.01	0.08±0.01
IL6 pg/mL	1.42±0.09	0.85±0.02 [#]	-0.57±0.01	0.92±0.02	0.72±0.01 [#]	-0.20±0.02
TNFα pg/mL	12.39±0.9	15.79±1.43	3.38±0.08	13.44±0.70	17.73±1.30	4.29±0.13

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento com $p < 0,05$ em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

* Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em miligramas/decilitro para CT (Colesterol total), LDL (Lipoproteína de baixa densidade), HDL (Lipoproteína de alta densidade), TRG (Triglicerídeos), VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e PCR (Proteína C reativa), em gramas/litro para FGN (Fibrinogênio) e para IL6 (Interleucina 6) e TNF α (Fator de necrose tumoral alfa) em picogramas/mililitro.

Tabela 4: Avaliação Laboratorial de Crianças Portadoras de Coração Estruturalmente Normal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (<i>grupo 2</i>)			DBEU (<i>grupo 4</i>)		
	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
CT mg/dL	152.07±0.55	143.92±0.66 [#]	-8.15±0.88	158.40±0.5	155.41±0.25 [#]	-2.99±0.69*
LDL mg/dL	83.30±0.58	77.23±0.50 [#]	-6.15±0.81	91.10±0.60	93.25±0.53	2.15±0.50*
HDL mg/dL	52.85±0.21	52.53±0.30	-0.32±0.02	49.53±0.31	46.00±0.34 [#]	-3.53±0.63*
TRG mg/dL	79.64±0.61	70.38±0.46 [#]	-9.26±0.81	88.73±1.07	82.33±1.22 [#]	-6.40±1.20
VLDL mg/dL	15.91±0.12	14.15±0.09 [#]	-1.76±0.14	17.76±0.13	16.16±0.14 [#]	-1.60±0.01
FGN g/L	2.50±0.02	2.17±0.01 [#]	-0.33±0.02	2.94±0.02	2.73±0.01 [#]	-0.21±0.03
PCR mg/dL	0.24±0.01	0.05±0.01 [#]	-0.19±0.02	0.10±0.02	0.16±0.01	0.06±0.01
IL6 pg/mL	1.63±0.02	1.35±0.003 [#]	-0.28±0.02	0.44±0.02	0.12±0.01 [#]	-0.32±0.3
TNFα pg/mL	12.12±0.60	14.42±0.56	2.30±0.05	11.23±0.94	12.96±0.74	1.73±0.11

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

* Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em miligramas/decilitro para CT (Colesterol total), LDL (Lipoproteína de baixa densidade), HDL (Lipoproteína de alta densidade), TRG (Triglicerídeos), VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e PCR (Proteína C reativa), em gramas/litro para FGN (Fibrinogênio) e para IL6 (Interleucina 6) e TNF α (Fator de necrose tumoral alfa) em picogramas/mililitro.

Quanto ao perfil lipídico, ambos os tratamentos demonstraram ser efetivos com melhora significativa em praticamente todos os parâmetros analisados, com exceção do LDL no grupo de pacientes cardiopatas, que receberam o tratamento RAR (*grupo 1*) e do HDL no grupo de crianças normais, que foram submetidas ao DBEU (*grupo 4*), lembrando que a diminuição deste valor representa pior resultado já que o HDL possui fator protetor. Vale salientar que, apesar de não ter ocorrido melhoras nesses parâmetros, os mesmos foram mantidos dentro dos níveis desejados para a idade. Quando analisada a variação das médias (Δ) entre os grupos de tratamento RAR e DBEU, uma diferença estatisticamente significativa foi observada para o LDL com superioridade do DBEU para os pacientes cardiopatas e superioridade do RAR para as crianças normais. Diferenças estatísticas na variação das médias (Δ) também ocorreram nos parâmetros de CT e HDL das crianças normais, sendo o RAR mais efetivo.

Ao se estudar os resultados obtidos pela análise de proteínas da fase aguda, foi o fibrinogênio que teve maior destaque, tendo melhora significativa nos 4 grupos, entretanto, com o PCR a melhora ocorreu somente para os que foram submetidos ao RAR, tanto do grupo de cardiopatas (*grupo 1*), quanto dos normais (*grupo 2*). Analisando as citocinas pró-inflamatórias, foi a IL6 que teve melhora estatística para todos os grupos, já o TNF α não teve resultado significativo. Não houve diferença estatística na variação das médias (Δ) entre os grupos quando analisados esses marcadores inflamatórios.

Como foi relevante a semelhança entre os grupos de crianças com cardiopatia congênita e normais, agruparam-se os dados das avaliações clínicas odontológicas e laboratoriais, para realmente confirmar a homogeneidade entre os tratamentos de RAR e DBEU (*tabelas 5 e 6*). Confirmou-se a melhora significativa de praticamente todos os parâmetros, com exceção somente do LDL, HDL e TNF α . Quando analisado a variação das médias (Δ) entre os grupos de tratamento, somente ocorreram diferenças estatisticamente significantes para variáveis IG e SS, demonstrando ligeira superioridade no RAR.

Tabela 5: Avaliação Clínica Odontológica de Crianças Portadoras de Doença Periodontal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (<i>grupo 1 e 2</i>)				DBEU (<i>grupo 3 e 4</i>)			
	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	2a. Fase (90 dias)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
IP %	52.84 \pm 0.60	43.67 \pm 0.45 [#]	25.73 \pm 0.50 ^{##}	-7.11 \pm 1.30	49.46 \pm 0.30	32.35 \pm 0.23 [#]	25.97 \pm 0.40 ^{##}	-23.78 \pm 1.01
IG %	11.10 \pm 0.10	7.48 \pm 0.10 [#]	3.53 \pm 0.07 ^{##}	-7.57 \pm 0.20	7.17 \pm 0.10	3.98 \pm 0.05 [#]	5.22 \pm 0.11 [#]	-1.95 \pm 0.10*
SS %	22.74 \pm 0.55	8.45 \pm 0.10 [#]	6.05 \pm 0.11 [#]	-6.69 \pm 0.51	20.08 \pm 0.40	9.12 \pm 0.15 [#]	5.21 \pm 0.11 ^{##}	-4.87 \pm 0.31*
PS mm	1.91 \pm 0.01	1.60 \pm 0.01 [#]	1.45 \pm 0.01 ^{##}	-0.46 \pm 0.04	1.90 \pm 0.01	1.52 \pm 0.01 [#]	1.38 \pm 0.01 ^{##}	-0.52 \pm 0.08
NI mm	1.92 \pm 0.01	1.61 \pm 0.01 [#]	1.46 \pm 0.01 ^{##}	-0.46 \pm 0.04	1.91 \pm 0.01	1.53 \pm 0.01 [#]	1.38 \pm 0.01 ^{##}	-0.53 \pm 0.08

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

^{##} Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento em relação às duas fases anteriores, com $p < 0,05$

* Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em porcentagens para IP (Índice de placa), IG (Índice gengival) e SS (Sangramento à sondagem) e em milímetros para PS (Profundidade de sondagem) e NI (nível de inserção clínica).

Tabela 6: Avaliação Laboratorial de Crianças Portadoras de Doença Periodontal e significância estatística, Cascavel, PR, 2012.

	RAR (grupo 1 e 2)			DBEU (grupo 3 e 4)		
	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)	1a. Fase (0)	3a. Fase (180 dias)	Δ (180 - 0)
CT mg/dL	152.92±0.40	146.50±0.42 [#]	-6.40±1.00	156.60±0.33	152.59±0.45 [#]	-4.01±0.75
LDL mg/dL	84.57±0.51	84.01±0.47	-0.56±0.08	88.11±0.36	87.59±0.50	-0.52±0.12
HDL mg/dL	52.10±0.22	52.05±0.05	-0.30±0.15	51.95±1.11	49.78±0.71	-2.10±1.02
TRG mg/dL	80.84±0.60	73.12±0.50 [#]	-7.72±0.55	82.83±0.60	76.74±0.50 [#]	-6.09±0.70
VLDL mg/dL	16.21±0.11	14.68±0.11 [#]	-1.53±0.12	16.56±0.11	15.23±0.09 [#]	-1.36±0.12
FGN g/L	2.61±0.02	2.35±0.01 [#]	-0.26±0.02	2.84±0.01	2.54±0.01 [#]	-0.30±0.02
PCR mg/dL	0.43±0.03	0.13±0.01 [#]	-0.30±0.03	0.11±0.01	0.18±0.01	0.07±0.01
IL6 pg/mL	1.53±0.06	1.10±0.01 [#]	-0.43±0.01	0.68±0.01	0.42±0.01 [#]	-0.26±0.02
TNFα pg/mL	12.26±0.60	15.11±1.31	2.85±0.45	12.34±0.56	15.35±1.00	3.01±0.42

[#] Diferença significativa estatisticamente entre as médias dentro de cada grupo de tratamento com $p < 0,05$ em relação à fase anterior, com $p < 0,05$

* Diferença significativa estatisticamente entre a variação das médias (Δ) levando em conta os dois grupos de tratamento, com $p < 0,05$

Os valores representam média \pm erro padrão da média e são expressos em miligramas/decilitro para CT (Colesterol total), LDL (Lipoproteína de baixa densidade), HDL (Lipoproteína de alta densidade), TRG (Triglicerídeos), VLDL (Lipoproteína de muito baixa densidade) e PCR (Proteína C reativa), em gramas/litro para FGN (Fibrinogênio) e para IL6 (Interleucina 6) e TNF α (Fator de necrose tumoral alfa) em picogramas/mililitro.

4 DISCUSSÃO

Existem estudos que demonstram que as infecções focais e/ou sistêmicas podem contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose, sendo que muitos destes defendem que a doença periodontal está associada ao início e à progressão da aterosclerose (D'AIUTO *et al.*, 2006; MUSTAPHA *et al.*, 2007), o que é explicado por várias causas, como pela presença de uma carga bacteriana nas paredes arteriais ou então pela produção de mediadores inflamatórios mediante estímulo que atua de forma intensa nas paredes arteriais (AMAR; HAN, 2003; REYES *et al.*, 2013).

As doenças cardiovasculares se destacam entre as principais causas de *mortis* na sociedade contemporânea (LUEPKER, 2011), apesar da tendência ao declínio de incidência e mortalidade, assim motivando o desenvolvimento de amplos estudos e pesquisas voltadas à melhoria dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento (MOURA FOZ *et al.*, 2010). A doença periodontal também vem sendo objeto de amplos estudos e pesquisas nas últimas décadas por representar um dos grandes problemas de saúde pública, pela sua prevalência relativamente alta, mesmo nos países desenvolvidos, e por ser considerada a doença crônica mais prevalente que afeta a dentição humana. D'Aiuto, Orlandi e Gunsolley (2013) observaram que a periodontite e a doença cardiovascular representam condições crônicas a longo prazo e especularam que, devido à formação do ateroma se iniciar na infância, a realização de tratamento periodontal somente na fase final da evolução da aterosclerose (muito tarde na vida) pode não representar um método efetivo de prevenção da progressão da doença cardiovascular. Neste sentido, este estudo foi realizado para se buscar evidências que sugerem a associação entre doenças periodontal e cardiovascular em crianças com cardiopatia congênita e com coração estruturalmente normal. Nas *Tabelas 1 e 2* observou-se melhora em todos os parâmetros clínicos periodontais, com ênfase para o PS e NI considerados padrão ouro na avaliação de periodontite.

Destefano *et al.* (1993) demonstraram que indivíduos com periodontite tiveram risco aumentado em 25% de doença cardiovascular, com relação àqueles com pouca ou sem nenhuma doença periodontal. Similarmente, aqueles que tinham higiene oral deficiente também tiveram incidência aumentada de doença cardiovascular, corroborado por Matilla *et al.* (1995), que demonstraram que uma

saúde dental deficiente tem como prognóstico, para pessoas com doença cardiovascular preexistente, maior incidência de eventos coronários fatais ou não fatais.

Mais recentemente, uma revisão abrangente foi realizada por um grupo de trabalho da American Heart Association (AHA) (LOCKHART *et al.*, 2012), que concluiu que "a doença periodontal está associada com a doença aterosclerótica vascular independente de fatores de confusão conhecidos" (LOCKHART *et al.* 2012, p. 2520). Uma das hipóteses desse mecanismo de ligação entre periodontite e aterosclerose seria previsível com base em mecanismos inflamatórios iniciadas por bactérias associadas com lesões periodontais, localmente ou sistemicamente, que então influenciam o início ou propagação da lesão aterosclerótica. Tais lesões podem ser iniciadas por estímulos inflamatórios, incluindo citocinas inflamatórias sistêmicas produzidas localmente e agentes quimiotáticos que fazem com que ocorram mudanças no endotélio, tais como a sobre-regulação de moléculas de adesão. Essas alterações promovem interações com os leucócitos, que geram a sua migração para a camada íntima da artéria. Estrias lipídicas, constituídas por LDL, no interior de macrófagos e células dendríticas na camada íntima, podem iniciar e propagar essa resposta inflamatória. Uma sobre-regulação do endotélio leva adicionalmente à liberação de citocinas quimiotáticas, como a proteína quimiotática de monócitos-1, que atrai monócitos ou outras células, e podem transportar bactérias para dentro da lesão (SCHENKEIN; LOOS, 2013).

Outra hipótese desse mecanismo foi demonstrado por Herzberg e Meyer (1996) que analisaram os efeitos do *Streptococcus sanguis* (bactéria específica da placa bacteriana) sobre as plaquetas, contribuindo para a associação da doença periodontal e a doença cardiovascular. O *Streptococcus sanguis* não é considerado patógeno periodontal, mas é provável que ele entre na circulação por meio dos tecidos periodontais inflamados e ulcerados, sugerindo assim que microrganismos da placa bacteriana podem ter um forte potencial trombogênico, contribuindo para o aumento do risco de doença aterosclerótica quando da presença de doença periodontal.

Apesar de se ter vários estudos reportando associação entre a doença periodontal e o metabolismo de lipídios (CUTLER *et al.*, 1999; KATZ *et al.*, 2002; MACHADO; QUIRINO; NASCIMENTO, 2005), e ainda outros, investigando o efeito do tratamento periodontal sobre o perfil lipídico (AYKAC *et al.*, 2007; D'AIUTO *et al.*,

2005; PUSSINEN *et al.*, 2004), a literatura não demonstrou qualquer estudo que investigasse o impacto do tratamento periodontal sobre pacientes sistemicamente comprometidos, principalmente crianças, pois tais pacientes podem ter uma resposta diferente quando analisado seus níveis lipídicos, em virtude de sua doença ou até mesmo da medicação que estes fazem uso. Recentemente, Frisbee *et al.* (2010) realizaram a primeira pesquisa envolvendo crianças de comunidades rurais americanas, em que um questionário sobre saúde oral foi respondido e os dados foram correlacionados com níveis lipídicos e marcadores inflamatórios sistêmicos. Esses autores encontraram uma associação estatisticamente significativa entre os indicadores de má higiene dental e o cuidado dental preventivo inadequado com marcadores de inflamação sistêmica aumentados.

Segundo Katz *et al.* (2002), existe uma forte correlação estatística positiva entre a doença periodontal e os níveis lipídicos, sendo que a doença periodontal poderia causar hiperlipidemia e ser um fator de risco às doenças cardiovasculares (principalmente a aterosclerose). A presença de microorganismos periodontopatogênicos poderia fortemente desencadear alterações lipídicas e com isso afetar a saúde sistêmica. Ainda, segundo os mesmos autores, a explicação para esta associação estaria baseada na extrapolação de dados de estudos *in vitro* e de pequenos grupos em humanos, que demonstraram que a ativação de células imunes produz citocinas, resultando na injúria de células endoteliais e iniciação ou exacerbação de processo inflamatório arterial. Esse estudo é corroborado por uma revisão sistemática de Tonetti e Van Dyke (2013). Os autores concluíram que, enquanto *in vitro*, estudos em animais e clínicos suportam a interação e mecanismos biológicos, estudos de intervenção, até o momento, não são suficientes para elaborar novas conclusões.

Os resultados do presente estudo demonstram que há uma relação de melhora nos parâmetros periodontais clínicos e níveis lipídicos (CT, TRG, VLDL). O tratamento periodontal foi efetivo em todos os grupos e demonstrou uma significativa melhora nos resultados, conforme demonstrados na *tabelas 3 e 4*, evidenciando que o controle da doença periodontal pode ser realizado independente da condição sistêmica da criança. Esse controle terá maior sucesso quando da adesão do paciente ao tratamento e do êxito que um bom programa de promoção e prevenção da saúde venha a alcançar. Isso ocorre por meio do vínculo do paciente com os

vários profissionais e a unidade de saúde, além da continuidade e longitudinalidade do tratamento.

Embora o papel da periodontite, associada à dieta e o comportamento, não possa ser excluído, o tratamento periodontal mostrou ser efetivo na melhora do perfil lipídico, tanto dos pacientes com cardiopatia congênita (*grupo 1 e 3*) quanto das crianças normais (*grupo 2 e 4*). Uma possível explicação para esse achado poderia ser de que as citocinas IL6 e TNF α , que encontram-se presentes quando da doença periodontal, também exercem efeitos no metabolismo dos lipídeos e influenciam a produção de outras citocinas (HAUNER *et al.*, 1995; MOLDAWER, 1994; SCHENKEIN; LOOS, 2013), alterando a hemodinâmica e utilização de aminoácidos por vários tecidos envolvidos no metabolismo dos lipídeos (FEINGOLD; GRUNFELD, 1987), ou modificando o eixo adrenal-pituitário-hipotalâmico e aumentando as concentrações de hormônios adrenocorticotrópicos, cortisol, adrenalina, noradrenalina e glucagon no plasma (BITTENCOURT; FIGUEREDTO; FISCHER, 2004). Por meio da ação da IL1 β e TNF α , a exposição a microorganismos/ endotoxinas resulta em níveis elevados de ácidos graxos livres (FFA), LDL e TRG. Acredita-se que essas elevações séricas de lipídeos resultem do aumento da lipogênese hepática (BITTENCOURT; FIGUEREDTO; FISCHER, 2004; FEINGOLD; GRUNFELD, 1987), da lipólise dos tecidos adiposos e da circulação sanguínea, como também da síntese aumentada ou eliminação reduzida de TRG e LDL, devido à diminuição na atividade da lipase lipoproteica (FRIED; ZECHNER, 1989; MOEINTAGHAVI *et al.*, 2005). Assim, qualquer condição que produza a elevação sérica de IL1 β e TNF α (como a periodontite) tem potencial para causar hiperlipidemia.

Neste estudo, avaliando-se o perfil lipídico, *tabelas 3 e 4*, a redução dos níveis de CT, TRG e VLDL em todos os grupos e do LDL no *grupo 2* ocorreram devido a uma boa ação da terapia periodontal, com maior destaque ao tratamento de raspagem e alisamento radicular convencional (RAR) para as crianças normais, e ao tratamento de desinfecção total de boca em estágio único (DBEU) para os pacientes portadores de cardiopatia congênita, corroborado pelo estudo de Aykac *et al.* (2007), que comprovou ser benéfico o efeito do tratamento periodontal no metabolismo lipídico. Em contrapartida, Sridhar *et al.* (2009) demonstraram que a

periodontite não influenciou na alteração dos níveis lipídicos e não houve correlação desses níveis com a perda de inserção.

Embora seja um estudo relativamente reduzido, Cuttler *et al.* (1999) indicaram que elevados níveis de triglicerídeos são capazes de modular a produção de IL1 β por linfócitos polimorfonucleares, estimulados por *P. gingivalis*, corroborando com os resultados das *tabelas 3 e 4*, em que o tratamento periodontal em pacientes com cardiopatia congênita e crianças normais, independente da modalidade do tratamento, resultou em uma queda significativa estatisticamente nesses níveis lipídicos.

Sugerindo a efetividade do tratamento periodontal, os dados das *tabelas 3 e 4* demonstraram uma diminuição significativa nos parâmetros de fibrinogênio e IL6 em todos os grupos, e diminuição do PCR nos *grupos 1 e 2*; esse último com destaque para o tratamento RAR. A melhora dos níveis de marcadores inflamatórios sistêmicos foi reportado por Soory e El-Shinnawi (2011) e suportado pelo estudo de De Oliveira, Watt e Hamer (2010), que demonstrou que quanto pior a higiene oral, maiores as concentrações de PCR e fibrinogênio, e maior o risco de eventos cardiovasculares. Vidal *et al.* (2009) também observaram melhora dos dados clínicos periodontais e diminuição dos níveis plasmáticos de IL6, PCR e fibrinogênio após o tratamento periodontal de pacientes hipertensos com grave periodontite. A IL6 é o maior iniciador do estímulo para a síntese de proteínas da fase aguda pelos hepatócitos e o primeiro determinante na produção do PCR hepático. Esses marcadores, junto com o FGN, estavam significativamente aumentados nos indivíduos que fizeram parte do estudo PRIME, que apontou os três como preditores da doença coronariana (LUC *et al.*, 2003). Entretanto, somente a IL6 foi um preditor independente e forte para a morte súbita nesse grupo de pacientes (EMPANA *et al.*, 2010).

Em contraste com a IL6, a concentração de TNF α foi menor nos pacientes com periodontite do que naqueles já tratados, o que pôde ser observado em todos os grupos (*tabela 3 e 4*), apesar de não demonstrarem significância estatística. Logo, os tratamentos periodontais não afetaram significativamente os níveis de TNF α , o que foi observado também por Nakajima *et al.* (2010), que acreditam que isso ocorre devido aos efeitos do TNF α sofrerem mais influência do metabolismo da glicose e dos lipídeos do que ação inflamatória nas células

endoteliais. Portanto, a função do TNF α induzida pela infecção periodontal pode ter pouco efeito aterogênico.

Devido à homogeneidade em ambos os tratamentos (RAR e DBEU), desde que avaliados os parâmetros clínicos odontológicos e laboratoriais (*tabelas 5 e 6*), acredita-se que a modalidade de tratamento a ser escolhida para crianças deva ser baseada em outros critérios, não avaliados neste estudo, como: custo, tempo de tratamento, preferência da equipe executora ou ainda a escolha de um tratamento que cause menos estresse nesta faixa etária. Acredita-se ser a desinfecção total da boca em estágio único uma modalidade menos estressante. Sabe-se que o estresse causa baixa regulação de genes ativados pelos glicocorticóides, que servem para suprimir a resposta imune, e alta regulação de genes que causam exacerbação do processo inflamatório, fatores que explicam a íntima relação entre o estresse e a doença periodontal (HILGERT *et al.*, 2006). Pacientes estressados tendem a adotar hábitos que pioram a saúde dos dentes, como a higiene oral deficiente, o tabagismo acima da média e as mudanças negativas nos hábitos alimentares (DEINZER *et al.*, 1999).

As diminuições dos níveis lipídicos e dos níveis de proteínas da fase aguda, juntamente com a redução da IL6 uma citocina pró-inflamatórias, auxiliarão no controle dos fatores de risco da doença cardiovascular neste grupo de pacientes. Portanto, a implicação prática deste estudo é que os tratamentos periodontais podem influenciar os parâmetros laboratoriais lipídicos e inflamatórios, auxiliando na redução da doença periodontal como um fator de risco para doença aterosclerótica. Além do que, com a melhora da saúde bucal, esses pacientes serão submetidos a menos tratamentos odontológicos prolongados e estressantes, levando a uma melhora da qualidade de vida.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, dentro desses resultados, podemos sugerir que ambos os tratamentos periodontais foram efetivos em pacientes portadores de cardiopatia congênita e crianças com coração estruturalmente normal, mas sem superioridade entre ambos os tratamentos. Tanto a raspagem e alisamento radicular convencional (RAR) quanto o a desinfecção total de boca em estágio único (DBEU), melhoraram significativamente os parâmetros clínicos periodontais e laboratoriais, com ênfase para nível de inserção clínica (NI), colesterol total (CT), fibrinogênio (FGN) e Interleucina 6 (IL6). Propomos que, desde a infância, a doença periodontal deva ser considerada como fator de risco para a doença aterosclerótica e que, a importância de sua prevenção, deva ser lembrada pelos profissionais da saúde.

REFERÊNCIAS

- AMAR, S.; HAN, X. The impact of periodontal infection on systemic diseases. **Med Sci Monit**, v. 9, n. 12, p. RA291-9, Dec 2003.
- AYKAC, Y. *et al.* Beneficial effects of periodontal treatment on metabolic control of hypercholesterolemia. **Southern Medical Journal**, v. 100, n. 7, p.686+, 2007.
- BARROS, R. S. D.; BOTAZZO, C. Subjetividade e clínica na atenção básica: narrativas, histórias de vida e realidade social. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 4337-4348, 2011.
- BECK, J. *et al.* Periodontal disease and cardiovascular disease. **J Periodontol**, v. 67, n. 10 Suppl, p. 1123-37, Oct 1996.
- _____.; OFFENBACHER, S. The association between periodontal diseases and cardiovascular diseases: a state-of-the-science review. **Ann Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 9-15, 2001.
- BERENSON, G. S. *et al.* Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). **Am J Cardiol**, v. 70, n. 9, p. 851-8, Oct. 1992.
- BITTENCOURT, M. D. S. P.; FIGUEREDO, C. M. D. S.; FISCHER, R. G. The influence of non-surgical periodontal treatment over the elements of the blood, lipidic profile and glycemia of patients suffering from chronic periodontitis. **Rev. ciênc. méd. biol**, v. 3, n. 1, p. 60-68, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Brasília, DF**, 2003.
- _____. Ministério da Saúde. **Diretrizes da Política Nacional da Saúde Bucal. Brasília, DF**, 2004.
- BUHLIN, K. *et al.* Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. **Eur Heart J**, v. 24, n. 23, p. 2099-107, 2003.
- BUSUTTIL NAUDI, A. *et al.* The dental health and preventative habits of cardiac patients attending the Royal Hospital for Sick Children Glasgow. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 7, n. 1, p. 23-30, 2006.
- CORTELLI, J. R.; COSTA, F. O.; LIMA, R. P. E. Raspagem e alisamento radicular convencional e desinfecção toal de boca em estágio único: Uma abordagem crítica. In: SALLUM, A. W.;CICARELLI, A. J., *et al.* (Ed.). **Periodontologia e Implantodontia - Soluções estéticas e recursos clínicos**: Nova Odessa: Ed. Napoleão, 2010, p. 527-537.
- CUTLER, C. W. *et al.* Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause or effect? **J Periodontol**, v. 70, n. 12, p. 1429-34, 1999.

D'AIUTO, F. *et al.* Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. **J Dent Res**, v. 84, n. 3, p. 269-73, 2005.

_____.; ORLANDI, M.; GUNSOLLEY, J. C. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 40, p. S85-S105, 2013.

_____. *et al.* Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: results from a randomized controlled clinical trial. **Am Heart J**, v. 151, n. 5, p. 977-84, May 2006.

DE OLIVEIRA, C.; WATT, R.; HAMER, M. Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey. **BMJ**, v. 340, p. c2451, 2010.

DEINZER, R. *et al.* Increase of crevicular interleukin 1beta under academic stress at experimental gingivitis sites and at sites of perfect oral hygiene. **J Clin Periodontol**, v. 26, n. 1, p. 1-8, Jan. 1999.

DESTEFANO, F. *et al.* Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. **BMJ**, v. 306, n. 6879, p. 688-91, Mar. 1993.

DIAS, L. Z. S. **Doença periodontal como fator de risco para a doença cardiovascular**. 163f. Universidade Federal do Rio de Janeiro (Tese de Doutorado). Rio de Janeiro: 2002.

EBERSOLE, J. L.; CAPPELLI, D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. **Periodontol 2000**, v. 23, p. 19-49, June 2000.

EKE, P. I. *et al.* Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. **J Dent Res**, v. 91, n. 10, p. 914-20, Oct. 2012.

EMPANA, J. P. *et al.* C-reactive protein, interleukin 6, fibrinogen and risk of sudden death in European middle-aged men: the PRIME study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 30, n. 10, p. 2047-52, Oct. 2010.

FEINGOLD, K. R.; GRUNFELD, C. Tumor necrosis factor-alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. **J Clin Invest**, v. 80, n. 1, p. 184-90, July 1987.

FISCHER, R. G. Doença Periodontal e Doenças Cardiovasculares. In: PAIVA, J. S. e ALMEIDA, R. V. (Ed.). **Periodontia: a atuação clínica baseada em evidências científicas**. São Paulo: Artes Médicas, 2005, p.285-289.

FRANCHINI, R. *et al.* Poor oral hygiene and gingivitis are associated with obesity and overweight status in paediatric subjects. **J Clin Periodontol**, v. 38, n. 11, p. 1021-8, Nov. 2011.

FRIED, S. K.; ZECHNER, R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. **J Lipid Res**, v. 30, n. 12, p. 1917-23, Dec. 1989.

FRISBEE, S. J. *et al.* Self-reported dental hygiene, obesity, and systemic inflammation in a pediatric rural community cohort. **BMC Oral Health**, v. 10, p. 21, 2010.

GENCO, R.; OFFENBACHER, S.; BECK, J. Periodontal disease and cardiovascular disease: epidemiology and possible mechanisms. **J Am Dent Assoc**, v. 133, Suppl, p. 14S-22S, 2002.

_____.; VAN DYKE, T. E. Prevention: Reducing the risk of CVD in patients with periodontitis. **Nat Rev Cardiol**, v. 7, n. 9, p. 479-80, Sept. 2010.

GIANNAKOULAS, G. *et al.* Burden of coronary artery disease in adults with congenital heart disease and its relation to congenital and traditional heart risk factors. **Am J Cardiol**, v. 103, n. 10, p. 1445-50, May 2009.

GUO, F. *et al.* Fibrinogen, fibrin, and FDP induce C-reactive protein generation in rat vascular smooth muscle cells: pro-inflammatory effect on atherosclerosis. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 390, n. 3, p. 942-6, Dec. 2009.

HAGEMANN, L. L.; ZIELINSKY, P. Rastreamento populacional de anormalidades cardíacas fetais por ecocardiografia pré-natal em gestações de baixo risco no município de Porto Alegre. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 82, p. 313-319, 2004.

HAKALA, P. E. Dental and oral changes in congenital heart disease. **Suom Hammaslaak Toim**, v. 63, n. 6, p. 284-324, 1967.

HALL, R. K. Oral and dental changes and management of children with cardiac disease. **J Int Assoc Dent Child**, v. 11, n. 1, p. 19-28, 1980.

HALLETT, K. B.; RADFORD, D. J.; SEOW, W. K. Oral health of children with congenital cardiac diseases: a controlled study. **Pediatr Dent**, v. 14, n. 4, p. 224-30, 1992.

HAUNER, H. *et al.* Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. **Diabetologia**, v. 38, n. 7, p. 764-71, July 1995.

HERZBERG, M. C.; MEYER, M. W. Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. **J Periodontol**, v. 67, n. 10 Suppl, p. 1138-42, Oct. 1996.

HIGASHI, Y. *et al.* Oral infection-inflammatory pathway, periodontitis, is a risk factor for endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. **Atherosclerosis**, v. 206, n. 2, p. 604-10, Oct. 2009.

HILGERT, J. B. *et al.* Stress, Cortisol, and Periodontitis in a Population Aged 50 Years and Over. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 4, p. 324-328, 2006.

HOFFMAN, J. I. E.; KAPLAN, S. The incidence of congenital heart disease. **J Am Coll Cardiol**, v. 39, n. 12, p. 1890-1900, June 2002.

IACOPINO, A. M.; CUTLER, C. W. Pathophysiological relationships between periodontitis and systemic disease: recent concepts involving serum lipids. **J Periodontol**, v. 71, n. 8, p. 1375-84, 2000.

JANKET, S. J. *et al.* Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 5, p. 559-69, May 2003.

KATZ, J. *et al.* Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. **J Periodontol**, v. 73, n. 5, p. 494-500, 2002.

KINANE, D. F.; LOWE, G. D. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. **Periodontol 2000**, v. 23, p. 121-6, June 2000.

LOCKHART, P. B. *et al.* Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 125, n. 20, p. 2520-44, May 2012.

LOE, H.; SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. **Acta Odontol Scand**, v. 21, p. 533-551, 1963.

LUC, G. *et al.* C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 7, p. 1255-61, July 2003.

LUEPKER, R. V. Cardiovascular disease: rise, fall, and future prospects. **Annu Rev Public Health**, v. 32, p. 1-3, 2011.

MACHADO, A. C.; QUIRINO, M. R.; NASCIMENTO, L. F. Relation between chronic periodontal disease and plasmatic levels of triglycerides, total cholesterol and fractions. **Braz Oral Res**, v. 19, n. 4, p. 284-9, Oct.-Dec. 2005.

MANSUR, A. D. P.; FAVARATO, D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. **Arq Bras Cardiol**, v. 99, n. 2, p. 755-761, ago. 2012.

MARELLI, A. J. *et al.* Congenital heart disease in the general population: changing prevalence and age distribution. **Circulation**, v. 115, n. 2, p. 163-72, 2007.

MATTILA, K. J. *et al.* Association between dental health and acute myocardial infarction. **BMJ**, v. 298, n. 6676, p. 779-81, 1989.

_____. *et al.* Effect of treating periodontitis on C-reactive protein levels: a pilot study. **BMC Infect Dis**, v. 2, p. 30-30, 2002.

_____. *et al.* Dental Infection and the Risk of New Coronary Events: Prospective Study of Patients with Documented Coronary Artery Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 20, n. 3, p. 588-592, Mar. 1995.

MCCOY, L. C. *et al.* Adverse events associated with chlorhexidine use: results from the Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. **J Am Dent Assoc**, v. 139, n. 2, p. 178-83, Feb. 2008.

MCGILL, H. C., JR. *et al.* Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. **Am J Clin Nutr**, v. 72, n. 5 Suppl, p. 1307S-1315S, Nov. 2000.

MENDIS, S. *et al.* Total cardiovascular risk approach to improve efficiency of cardiovascular prevention in resource constrain settings. **J Clin Epidemiol**, v. 64, p. 1451-62, 2011.

MODELLI, M. E. *et al.* Atherosclerosis in young Brazilians suffering violent deaths: a pathological study. **BMC Res Notes**, v. 4, p. 531, 2011.

MOEINTAGHAVI, A. *et al.* Hyperlipidemia in patients with periodontitis. **J Contemp Dent Pract**, v. 6, n. 3, p. 78-85, Aug. 2005.

MOLDAWER, L. L. Biology of proinflammatory cytokines and their antagonists. **Crit Care Med**, v. 22, n. 7, p. S3-7, July 1994.

MOURA FOZ, A. *et al.* Periodontal therapy and biomarkers related to cardiovascular risk. **Minerva Stomatol**, v. 59, n. 5, p. 271-83, May 2010.

MUSTAPHA, I. Z. *et al.* Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis. **J Periodontol**, v. 78, n. 12, p. 2289-302, Dec. 2007.

NAKAJIMA, T. *et al.* Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 45, n. 1, p. 116-122, 2010.

NAPOLI, C. *et al.* Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. **The Lancet**, v. 354, n. 9186, p. 1234-1241, 1999.

NEWMAN, M.; CARRANZA, F. A.; TAKEI, H. H. **Periodontia Clínica**. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2006.

NUTO, S. D. A. S. *et al.* Avaliação de oficinas de autocuidado aos portadores de periodontite crônica: cuidando dos usuários e cirurgiões-dentistas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 913-921, 2011.

OFFENBACHER, S.; FARR, D. H.; GOODSON, J. M. Measurement of prostaglandin E in crevicular fluid. **J Clin Periodontol**, v. 8, n. 4, p. 359-67, 1981.

PACKARD, R. R.; LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. **Clin Chem**, v. 54, n. 1, p. 24-38, Jan. 2008.

PEMBERTON, V. L. *et al.* Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute's Working Group on obesity and other cardiovascular risk factors in congenital heart disease. **Circulation**, v. 121, n. 9, p. 1153-9, Mar. 2010.

PUSSINEN, P. J. *et al.* Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. **J Lipid Res**, v. 45, n. 1, p. 139-47, Jan. 2004.

QUIRYNEN, M. *et al.* Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. **J Dent Res**, v. 74, n. 8, p. 1459-67, 1995.

REYES, L. *et al.* Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S30-50, Apr. 2013.

SABA-CHUJFI, E.; PEREIRA, S. A. D. S.; DIAS, L. Z. S. Inter-relação das doenças periodontais com as doenças cardiovasculares e cerebrovasculares isquêmicas [Interrelationship of periodontal diseases with cardiovascular and cerebrovascular ischemic diseases]. **Periodontia**, v. 17, n. 2, p. 21-31, 2007.

SCHENKEIN, H. A.; LOOS, B. G. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S51-69, Apr. 2013.

SCHULTZ, D. R.; ARNOLD, P. I. Properties of four acute phase proteins: C-reactive protein, serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, and fibrinogen. **Semin Arthritis Rheum**, v. 20, n. 3, p. 129-47, Dec. 1990.

SHADDOX, L. M. *et al.* Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis. **J Dent Res**, v. 90, n. 9, p. 1140-4, Sep. 2011.

SILNESS, J.; LOE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta Odontol Scand**, v. 22, p. 121-135, 1964.

SOORY, M.; EL-SHINNAWI, U. Diagnostic Value of Acute Phase Proteins in Periodontal, Psychosomatic and Cardiometabolic Diseases: Response to Treatment. In: VEAS, F. (Ed.). **Acute Phase Proteins as Early Non-Specific Biomarkers of Human and Veterinary Diseases**: InTech, cap. 3, p.408, 2011.

SRIDHAR, R. *et al.* A study to evaluate the relationship between periodontitis, cardiovascular disease and serum lipid levels. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 7, n. 2, p. 144-150, 2009.

THOMOPOULOS, C. *et al.* Periodontitis and coronary artery disease: a questioned association between periodontal and vascular plaques. **Am J Cardiovasc Dis**, v. 1, n. 1, p. 76-83, 2011.

TONETTI, M. S.; VAN DYKE, T. E. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **J Clin Periodontol**, v. 40 Suppl 14, p. S24-9, Apr. 2013.

U.S. TASK FORCE, P. S. Screening and interventions for overweight in children and adolescents: recommendation statement. **Pediatrics**, v. 116, n. 1, p. 205-9, July 2005.

VAN DYKE, T. E.; VAN WINKELHOFF, A. J. Infection and inflammatory mechanisms. **J Clin Periodontol**, v. 40, Suppl 14, p. S1-S7, Apr. 2013.

VIDAL, F. *et al.* Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. **J Periodontol**, v. 80, n. 5, p. 786-91, May 2009.

VIEIRA, C. L. Z.; CAMELI, B.; YKEOKA, D. T. Periodontal disease and cardiovascular health - Don't carry your heart in your mouth. **International Journal of Atherosclerosis**, v. 1, n. 3, p. 221-226, 2006.

WILSON, W. *et al.* Prevention of Infective Endocarditis. **Circulation**, v. 116, n. 15, p. 1736-1754, Oct. 2007.

ZHU, J. *et al.* Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. **Am J Cardiol**, v. 85, n. 2, p. 140-6, Jan. 2000.

APÊNDICES

Apêndice A – CONVITE PARA OS PACIENTES ENTRAREM NA PESQUISA

IDENTIFICAÇÃO INICIAL:	
<p>NOME:</p> <p>DATA DE NASCIMENTO:</p> <p>ENDEREÇO:</p> <p>TELEFONE:</p> <p>NOME DO RESPONSÁVEL:</p>	
<p>TIPO DE CARDIOPATIA CONGÊNITA <input type="checkbox"/> Acianótica _____</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Cianótica _____</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Controle</p>	
<p>CRITÉRIOS DE INCLUSÃO <input type="checkbox"/> Faixa etária de 7 a 12 anos</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Um mês sem uso de antibióticos</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Um mês sem uso de antiinflamatórios</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Seis meses sem tratamento periodontal</p> <p style="padding-left: 150px;"><input type="checkbox"/> Ausência de Doença Inflamatória crônica</p>	
TRATAMENTO ODONTOLÓGICO E COLETA DOS EXAMES:	
DATA	
HORÁRIO	
LOCAL	Clínica Odontológica da Unioeste Rua Universitaria, 2069 Jd Universitário 85819-110 Cascavel Fone (45) 3220-3169
PROFISSIONAL RESPONSÁVEL	Dr. Carlos Augusto Nassar e Dra. Patrícia Oehlmeyer Nassar

Apêndice B – SELEÇÃO DE PACIENTES:

	DATA	Aval. Odon.	Glic.	CT	Trigl.	HDL	LDL	Fibrin.	PCR	IL1 β	IL6	TNF α
1ª. FASE (T0)		Anexo 3 e 4										
2ª. FASE (3º m)		Anexo 3 e 4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
3ª. FASE (6º m)		Anexo 3 e 4										

IDENTIFICAÇÃO:

NOME:

DATA DE NASCIMENTO:

ENDEREÇO:

TELEFONE:

NOME DO RESPONSÁVEL:

TIPO DE CARDIOPATIA CONGÊNITA Acianótica _____
 Cianótica _____

HISTÓRIA FAMILIAR DE: Doença periodontal - Pai Mãe
 Hipercolesterolemia - Pai Mãe
 Hipertrigliceridemia - Pai Mãe
 Diabetes Melito - Pai Mãe

GRUPOS:

Grupo 1: Cardiopatia Congênita - RAR
 Grupo 2: Coração Normal - RAR
 Grupo 3: Cardiopatia Congênita - Desinfecção Total
 Grupo 4: Coração Normal - Desinfecção Total

TRATAMENTO ODONTOLÓGICO E COLETA DOS EXAMES:

Apêndice C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIOESTE - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CÂMPUS DE CASCAVEL - CURSO DE ODONTOLOGIA

Pesquisa: “**Avaliação do efeito de tratamentos periodontais no desenvolvimento da doença periodontal em crianças portadoras de cardiopatia congênita**”.

Pesquisador responsável: Prof. Carlos Augusto Nassar.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Por esse instrumento particular, declaro, para os devidos fins éticos e legais, que eu (nome)

_____,
(nacionalidade)_____, (profissão)_____, portador do
R.G. _____, C.I.C. _____, residente à Rua/ Av.
_____, na cidade de
_____, Estado de _____, sou o(a) responsável por
(nome)_____ e concordo e autorizo para que o(a) mesmo(a)

participe da pesquisa intitulada: “Avaliação do efeito de tratamentos periodontais no desenvolvimento da doença periodontal em crianças portadoras de cardiopatia congênita”. Fui informado que os objetivos desta pesquisa são o avaliar a efetividade de duas modalidades de tratamento da gengiva em relação à quantidade no sangue de colesterol total e frações, triglicerídeos, fibrinogênio, proteína C-Reativa (PCR), citocinas pró-inflamatórias e os parâmetros clínicos periodontais em crianças portadoras de doenças cardiovasculares com doença gengival. Fui esclarecido que, para tanto, deverei responder a um questionário de saúde e serei submetido a exame clínico de rotina da gengiva.

Fui informado também que, como parte do estudo, o (a) meu (minha) filho (a) receberá tratamento gengival básico, o qual poderá ser realizado sob anestesia local quando se fizer necessário, e que consistirá de remoção de cálculo da região da raiz dental e instruções de higiene bucal. Tenho o conhecimento de que, caso seja necessária a realização de algum procedimento cirúrgico para o tratamento gengival, o material que porventura venha a ser removido, será encaminhado para análise histológica.

Além disso, tenho ciência também de que o (a) meu (minha) filho (a) se submeterá as realizações de exames de sangue laboratoriais de colesterol total e frações, triglicerídeos, proteína c-reativa (PCR), fibrinogênio, citocinas pró-inflamatórias, para o acompanhamento desses exames em relação ao tratamento gengival.

Estou ciente de que os riscos que podem ocorrer durante os procedimentos aos quais, o(a) meu (minha) filho(a) se submeterão estão relacionados à utilização de anestésicos locais, de rotina no atendimento odontológico, e à realização de radiografias de boca toda. Em relação aos riscos dos anestésicos, estes podem ser diminuídos pela avaliação de episódios anteriores de reações alérgicas ou alterações na pressão arterial e, caso sejam relatadas alterações de qualquer natureza o (a) meu (minha) filho (a) será encaminhado para avaliação médica e somente poderá participar do estudo quando houver autorização do profissional. Em relação às radiografias, o (a) meu (minha) filho (a) usará avental de chumbo e colar de tireóide, como medida de proteção.

Torno ciente que recebi todas as informações sobre a participação do(a) meu (minha) filho(a) nesta pesquisa e receberei novos esclarecimentos que julgar necessários durante o decorrer da mesma, bem como meu o(a) meu (minha) filho(a) receberá estes novos esclarecimentos. Fui esclarecido e o(a) meu (minha) filho(a) também que as medicações necessárias, utilização de antibióticos prévios ao tratamento gengival, serão medicações fornecidas pela rede básica de saúde, e que meu consentimento não remove a responsabilidade dos profissionais que estão realizando esta pesquisa. Além disso, eu e o(a) meu (minha) filho(a) teremos plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando o meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de pena.

Por fim, fica esclarecido que eu e o(a) meu (minha) filho(a) não receberemos pagamento nem teremos que pagar para participar da pesquisa e ao término da mesma o(a) meu (minha) filho(a) será incluído em um programa de manutenção gengival.

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos e o(a) meu (minha) filho(a) também de:

- 1- receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;
- 2- retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
- 3- não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.
- 4- procurar esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa da Unioeste -CEP/Unioeste, através do telefone 3220-3272, em caso de dúvidas ou notificação de acontecimentos não previstos.

Declaro estar ciente do exposto e desejar participar da projeto/ou desejar que

_____ participe da pesquisa.

Cascavel, ____ de ____ de 20__ .

Nome do sujeito/ ou do responsável: _____

Assinatura: _____

Eu, *Carlos Augusto Nassar*, declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto ao participante e/ou responsável. Além disso, declaro que este Termo será feito em duas vias, sendo uma entregue ao participante e outra sob responsabilidade do pesquisador _____

Data: __/__/__.

Telefone : (45) 32203168/ 32203169/91013369

ANEXOS

Anexo 1 – AVALIAÇÃO ODONTOLÓGICA

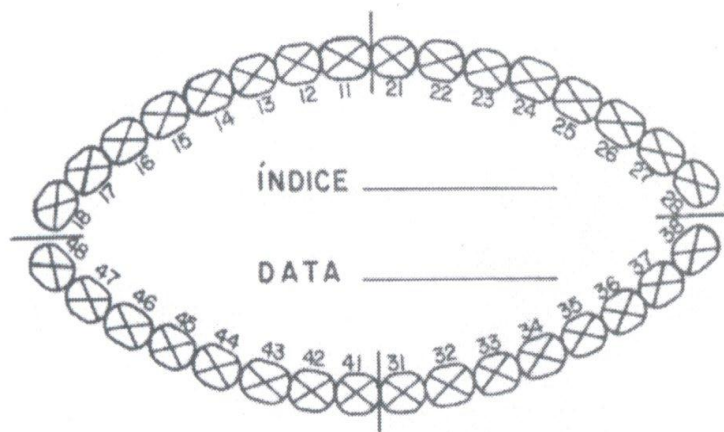
Instrumentos de Coleta de dados

Projeto: Avaliação do efeito de tratamentos periodontais no desenvolvimento da doença periodontal em crianças portadoras de cardiopatia congênita

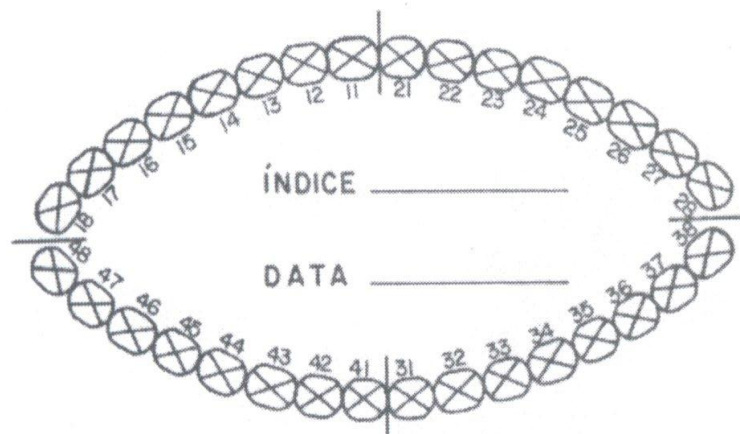
Grupo: _____

Nome do Paciente: _____

Índice de Placa



Índice Gengival



Anexo 2 – AVALIAÇÃO ODONTOLÓGICA

DENTE	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Furca																
Mob.																
Sítio	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D
Sangr.																
N.G.																
P.S.																
N.I.																
Sítio	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D
Sangr.																
N.G.																
P.S.																
N.I.																

DENTE	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Furca																
Mob.																
Sítio	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	D V M	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D	M V D
Sangr.																
N.G.																
P.S.																
N.I.																
Sítio	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	D L M	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D	M L D
Sangr.																
N.G.																
P.S.																
N.I.																

Data inicial: ___/___/___

Paciente: _____ PG: _____

Anexo 3 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**PARECER 442/2011-CEP**

Projeto de PRPPG, pesquisador responsável: Carlos Augusto Nassar do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Campus de Cascavel.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná analisou em sessão ordinária do dia 24/11/2011, Ata 010/2011 - CEP, o processo CR nº 1382/2011, referente ao projeto, intitulado "Avaliação do efeito de dois tratamentos Periodontais no desenvolvimento da Doença Periodontal em crianças portadoras de doenças Cardiovasculares".

Periodo da vigência: Janeiro de 2012 a Maio de 2013.

Assim, em conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde. Deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e/ou a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Cascavel, 24 de Novembro de 2011.

ANELINE MARIA RUEDELL

Coordenadora do CEP/Unioeste

ARTIGO CIENTÍFICO 1

**LIPID PROFILES AND INFLAMMATORY MARKERS POST PERIODONTAL
TREATMENT IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE AND AT RISK
FOR ATHEROSCLEROSIS**

ARTIGO CIENTÍFICO 1

LIPID PROFILES AND INFLAMMATORY MARKERS POST PERIODONTAL TREATMENT IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE AND AT RISK FOR ATHEROSCLEROSIS

Adriana Chassot Bresolin^a; Mariana Menegassi Pronsatti^b; Larissa Nicole Pasqualotto^c; Patricia Oehlmeyer Nassar^d; Alex Sandro Jorge^e; Edson Antonio Alves da Silva^f; Carlos Augusto Nassar^g.

^aMaster Degree Student in Biosciences and Health, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: adrianabresolin@hotmail.com - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^b Graduate Student of Dentistry School, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: marianapronsati@hotmail.com - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^c Graduate Student of Dentistry School, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: larissapasqualotto@hotmail.com - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^d DDS, Full-time Professor, Periodontology, Dental School, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: ponassar@yahoo.com - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^e MsC, Professor Assistant, Biochemical School, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: alexsjorge@yahoo.com.br - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^f DDS, Full-time Professor, Statistician and Graduate Program Professor, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: edsonsilva@unioeste.br - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

^g DDS, Full-time Professor, Periodontology, Dental School, Western Paraná State University (UNIOESTE). E-mail: canassar@yahoo.com - Rua Universitária, 1619 – Jd. Universitário – Cascavel – Paraná – Brazil.

Correspondence should be sent to Carlos Augusto Nassar, DDS, Periodontology, Dentistry School, Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brazil. Rua Pernambuco, 593, apto 504, centro, CEP 85810-020, Cascavel, Paraná, Brazil. Cell phone number: + 55 45 91013369. E-mail: canassar@yahoo.com

Running title: Periodontal disease X cardiovascular disease

ABSTRACT

Due to the biological associations between the periodontal and the cardiovascular diseases, as well as considering that the atherosclerosis begins in the childhood period, a behavior based on oral health care and metabolic control, from an early age, is essential for patients with cardiovascular disease. The aim of this research was to compare the effect of periodontal treatment full-mouth scaling and root planning (FMSRP) in the reduction of the periodontal disease in children with congenital heart disease. In this study, the treatments were related to the clinical periodontal parameters and also to the blood ones, such as lipid profile and inflammatory markers. The patients were divided into 2 groups: *group 1*(17) – scaling and root planning (SRP); *group 2*(16) - FMSRP. The results showed a significant improvement in clinical periodontal parameters ($p < 0.05$) in both groups. Considering the lipid parameters, there was a greater evidence in the total cholesterol (TC), triglycerides (TGs) and VLDL parameters results, with a significant improvement ($p < 0.05$). There was also an improvement in C-reactive protein (CRP) ULTRA in the group treated with SRP ($p < 0.05$). The fibrinogen (FGN) and interleukin-6 (IL-6) parameters ($p < 0.05$) were really improved in both groups. We suggest that both periodontal treatments were effective in children with congenital heart disease, however, without superiority between the treatments.

KEYWORDS: Periodontal Disease; Heart Defects, Congenital; Lipid Metabolism; Inflammation Mediators; Children.

INTRODUCTION

Congenital heart defects are currently a focus of concern for health managers who are challenged to improve the quality of life levels and the infant mortality rate, since the cardiovascular malformations are responsible for 48% of deaths due to congenital anomalies and for 7.9% of all deaths in children under one year old. ¹ The prevalence of these heart diseases has been increasing along time. In adults, the increase of congenital heart disease was 85% along 15 years, however, in children with severe heart disease was 22% during the same period. ²

The dental treatment in patients with congenital heart disease is really relevant, therefore, there are few studies comparing dental and oral changes in this group of patients. The first comprehensive study that addressed this issue was realized by Hakala, in 1967, in Helsinki University, which listed the factors that led to a higher incidence of caries and its early appearance in cyanotic children, such as the greater frequency of mouth breathing, the swelling of the gums and the high rate of gingivitis, the exceptional position of children with heart disease in the family, which assumes a protective and mistaken attitude and, at last, the dentists' aversion "for fear of complications" to treat a child with severe heart disease. ³ The benefits of a good oral health go beyond preventing infective endocarditis, focusing on caries prevention and early diagnosis and treatment of periodontal disease. Moreover, the cardiac children are less vulnerable to stressful dental procedures, by reducing the risk of complications. ⁴

The chronic periodontitis is an infection caused by Gram-negative bacteria, resulting in the tissues destruction, which support the teeth. Some of these microorganisms inside the microbial flora of the dental plaque are the main causative agents of periodontitis. These microorganisms, particularly *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), produce endotoxin in the form of lipopolysaccharides (LPS), generating a host-mediated immune response, which leads to tissue destruction. ⁵ Moreover, according to the same authors, there are evidences for the direct invasion of these microorganisms in cardiovascular cells.

The periodontitis are associated to the increase of the C-reactive protein (CRP) and fibrinogen (FGN) levels, considering that both of them have independent predisposition for the coronary diseases.

There are evidences that increased levels of systemic inflammation markers, such as CRP and interleukin-6 (IL-6), are also associated with cardiovascular diseases.⁶

On the other hand, atherosclerosis is a major public health problem, being the leading cause of morbidity and mortality.⁷ There is evidence that the formation of atherosclerotic plaque begins in childhood,⁸ corroborated by the Bogalusa Study,⁹ which demonstrated a high association of fatty streaks in the aorta and coronary arteries with high levels of TC and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, besides a great correlation with the multiple risk factors. Therefore, it is assumed that the risk factors control in childhood may delay or attenuate the progression of atherosclerotic disease.

Not only the prevention of periodontitis, as well as the atherosclerotic disease, have generated interest in the pediatric age group, since along many years studies have shown that concentrations of LDL cholesterol are positively associated with fatty streaks in the aorta and coronary arteries of children.⁹⁻¹¹ There are also evidences that children and adults with congenital heart disease appear to be more predisposed to these two situations, which will certainly lead to irreversible damage in the future.^{12,13}

Health professionals must be also aware that these diseases share many risk factors and evident similarities in basic pathogenic mechanisms.^{14,15} Possible mechanisms for the infection-inflammation relationship of the periodontal tissues and systemic changes initiate and maintain high systemic levels of several cytokines related to the acute phase response of inflammation.^{16,17} Few studies correlate periodontal disease in children and inflammatory markers. Shaddox *et al.*¹⁸ studying a young population, aged between 5 and 20 years old, observed in patients with elevated levels of periodontitis to systemic LPS endotoxin, which were strongly correlated with clinical parameters and higher levels of cytokines in the gingival crevicular fluid.

More recently, a wide review was undertaken by a working group of the American Heart Association (AHA), which concluded that the "periodontal disease is associated with vascular atherosclerotic disease independent of known confounders"¹⁹. One of the hypotheses of this connection mechanism between periodontitis and atherosclerosis would be predicted based on inflammatory mechanisms, which initiated by bacteria associated with periodontal lesions, locally or systemically, and then influencing the initiation or propagation of the atherosclerotic lesion. Such

lesions can be initiated by inflammatory stimuli, including systemic inflammatory cytokines produced locally and chemotactic agents that cause changes in the endothelium, such as the adhesion molecules up-regulation. These changes promote interactions with leukocytes, which generate their migration to the intimal layer of the artery. The lipid streaks, consisting of LDL, within macrophages and dendritic cells in the intimal layer, can initiate and propagate this inflammatory response. An up-regulation of the endothelium leads to the release of additional chemotactic cytokines, such as monocyte chemoattractant protein-1, which attracts monocytes or other cells, and may carry bacteria into the lesion²⁰.

Despite having several studies reporting an association between periodontal disease and lipid metabolism,²¹⁻²³ and other studies investigating the effect of periodontal treatment on the lipid profile,²⁴⁻²⁶ the literature has not showed any study that investigates the periodontal treatment impact of systemically compromised patients, especially children, because these patients may have a different response when their lipid parameters are analyzed, due to their sickness or medication.

Recently, Frisbee et al.²⁷ performed the first research with American children from rural communities where an oral health questionnaire was answered and the data were correlated with lipid levels and systemic inflammatory markers. These authors found a statistically significant association between indicators of poor hygiene and inappropriate preventive dental care with increased systemic inflammation markers.

The aim of this research was to compare the effect of periodontal treatment full-mouth scaling and root planning (FMSRP) in the reduction of the periodontitis in children with congenital heart disease, correlate it with clinical periodontal parameters, as well as the levels of blood lipid and inflammatory markers in children without systemic diseases.

METHODS

The proposed research was a prospective clinical study with a quantitative approach. The study was realized in Cascavel, Paraná, Brazil, at the Western Paraná State University (UNIOESTE),

and was approved by the Ethics Committee of this university (#442/2011- CEP). The data collection period took place from March to December, 2012.

The 33 children selected for the study did not present any systemic involvement. As inclusion criteria, children should be between 7-12 years old with chronic periodontitis, with at least two sites with probing depth greater than 5 mm and clinical attachment level above 2mm, with a bleeding on probing and gingival inflammation on clinical examination, with the amount of plaque and calculus compatible with chronic periodontitis, discarding the hypothesis of aggressive periodontitis. The teeth should present a normal position, with a minimum of 20 teeth in dental arches, with the clinical examination realized in the vestibular, lingual/palatal, mesial and distal surfaces. The exclusion criteria were: use of antibiotics and anti-inflammatories, steroids or no steroids, in the month prior to the study; periodontal treatment in the previous 6 months and those patients with any chronic inflammatory disease.

A total of 90 children was evaluated in the Dental Clinic of UNIOESTE, 57 were excluded for not meeting all the inclusion criteria or because they present some exclusion criteria, or for not attending any of the stages proposed for data collection. Among the patients with congenital heart disease who agreed to participate in the study, 10 patients presented ventricular septal defect (VSD) and 1 child was diagnosed with VSD + pulmonary stenosis (PS), all of them without hemodynamic repercussion (non-operated); 6 patients presented atrial septal defect (ASD), also without repercussion, and 1 patient with ASD + PS who underwent surgical correction; 3 children presented aortic stenosis (AS); 2 patients presented very small patent ductus arteriosus (PDA), without surgery recommendation; 2 patients presented PS; 2 patients underwent the coarctation of the aorta surgery; 1 patient presented a congenital mitral regurgitation; the patients with cyanotic congenital heart disease have already been operated, since 3 children presented tetralogy of Fallot, 1 child had truncus arteriosus and 1 patient with complex congenital heart disease.

The data collection consisted of three phases and was developed in a period of 180 days. The dental clinical evaluations were conducted in a 90-day-interval, corresponding to the 1st stage: start; 2nd stage: 90 days; and 3rd stage: 180 days. Then, the laboratory tests were collected and measured at the initial stage and 3rd stage (180 days).

Dental Clinical Evaluation:

The oral examinations were performed by a single trained examiner, calibrated with extensive experience in Periodontics, but without knowledge of the groups composition, who, through a periodontal probe in the type WILLIAMS #23, determined:

1. Plaque index (PI), according to Silness & Loe²⁸, consists in the absence or presence of a visible plaque located in the each tooth surface and which is divided into four zones: buccal, distal, mesial, and lingual.
2. Gingival index (GI), according to Loe & Silness²⁹, represents the dichotomization for the presence or absence of bleeding, in the same zones previously mentioned.
3. Probing depth (PD), which is the distance from the bottom of the sulcus to the gingival margin, was determined in six points: mesio-buccal, buccal, disto-buccal, disto-lingual/palatal, lingual/palatal and mesio-lingual/palatal from each tooth to be examined.
4. Clinical attachment level (CAL) also determined at the same points of probing depth.
5. Bleeding on probing (BOP).

Laboratorial Evaluation:

The blood sample was obtained in the morning, after an eight-hour fasting, collected in the 1st and 3rd stages in the same day and prior to the dental clinical evaluation, under a previous authorization of the responsible person. After collection, the blood was centrifuged at 3,200 rpm for 10 minutes and the serum was stored in Eppendorf tubes. For the proinflammatory cytokines analysis, part of the serum from all patients was maintained at -20°C and was evaluated only after the 3rd stage was finished. For the FGN analysis, the total blood sample was collected in a tube containing sodium citrate and the plasma was separated by centrifugation at 3,200 rpm for 10 minutes. The blood and plasma samples were obtained and analyzed to determine the lipid profile and inflammatory markers, considering the following parameters:

1. Total cholesterol (TC)
2. Cholesterol fractions (LDL, VLDL and HDL)
3. Triglycerides (TGs)

4. C-reactive protein ultrasensitive (CRP ULTRA)
5. Fibrinogen (FGN)
6. Expression of IL-6 and necrosis factor alpha (TNF- α)

The levels of TC, HDL and TGs were measured through dry chemistry methodology by automated biochemical analyzer, the Vitros Fusion 5.1 (Ortho-Clinical Diagnostics®, Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA). The CRP was measured through chemiluminescent technology by the equipment Immulite® 1000 (Siemens AG, Munich, Germany). The FGN levels were determined using the coagulometric method through an automated equipment, the Sysmex CA 500 (Siemens, Marburg, Germany). The inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) were determined by ELISA method in plate Invitrogen™ (California, USA), according to the protocols determined by the manufacturer and the reading was performed in a multicanal reader, the MR-96A (Mindray, China).

After the initial clinical and laboratorial evaluations, the 33 patients were divided randomly into two groups of children, who were distributed according to the performed treatments:

- *Group 1* (17 children) - Basic periodontal treatment (conventional scaling and root planning) + Mechanical Control.
- *Group 2* (16 children) - Basic periodontal treatment (full-mouth scaling and root planning) + Mechanical control.

All patients received periodontal therapy (conventional periodontal therapy or full-mouth scaling and root planning), oral hygiene instructions, and supra and subgingival scaling, which were performed using Gracey curettes (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). The correct instruction of the mechanical control (Bass Technique + flossing) was given to each group and then repeated in all stages. The treatment realized for *group 1* consisted of conventional periodontal scaling and root planing (SRP) and for *group 2*, the concept of one-stage-full-mouth disinfection (FMSRP), which was proposed by Marc Quirynen's group³⁰, consisting of the entire oral cavity disinfection associated with the use of mouthwashes based on chlorhexidine.

Statistical Analysis:

Regarding the statistical analysis, the data obtained in the Dental Clinical Evaluation were analyzed and evaluated by ANOVA ($p < 0.05$). The Student t test ($p < 0.05$) was used to evaluate the lipid profile (TC, LDL, TGs, VLDL and HDL) and the FGN, since all these parameters showed a normal distribution, after applying the Shapiro-Wilk test. Considering the assessments of CRP, IL-6 and TNF- α , as there was not a normal distribution, the Mann-Whitney test ($p < 0.05$) was applied. For calculating the variation of the means (Δ), the data analyzed was from the 1st stage (initial phase) and 3rd stage (180 days), using the ANOVA test ($p < 0.05$) for the data with normal distributions and Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$) for those without normal distributions.

RESULTS

From all patients (33), 42% were male and 58% female, in both groups there was a predominance of girls (*group 1* - 59%; *group 2* - 56%). The average age was 9 years and 10 months \pm 21 months for *group 1* and 9 years and 9 months \pm 18 months for *group 2*.

Regarding the periodontal treatment of these children, both of them showed to be effective related to the clinical data presenting a significant improvement, mainly those ones referring to the CAL and PD parameters, with an emphasis for the 90-day-period when there was a greater reduction. In contrast, only the GI had no improvement between the 90 and 180-day-periods in *group 2* (FMSRP), although there was a significant improvement of this index when compared the data from the 1st and 3rd stages. Because of this fact, in the GI there was a significant statistical difference when analyzing the variation of means (Δ) between the SRP and FMSRP treatment groups, demonstrating superiority in the SRP. The data obtained in the Dental Clinical Evaluation are shown in *table 1*.

The blood values related to the lipid profile (TC, LDL, HDL, TGs, VLDL) and inflammatory markers (FGN, CRP ULTRA, IL-6 and TNF- α) are shown in *table 2*.

About the lipid profile, both treatments demonstrated to be effective with a significant improvement in almost all parameters, except the LDL in the group of children who underwent SRP (*group 1*), which had no improvement and remained within the desired range by age. When analyzing

the variation of the means (Δ) between the SRP and FMSRP treatment groups, a significant statistical difference was observed for LDL with a superiority of the FMSRP.

Studying the results obtained by the analysis of the inflammatory markers, the FGN had greater prominence, with a significant improvement in both groups, however, with the CRP the improvement occurred only for those who underwent SRP (*group 1*). Analyzing the proinflammatory cytokines, IL-6 had a significant statistical improvement for both groups. There was no statistical difference in the variation of the means (Δ) between the groups when analyzed these inflammatory markers.

DISCUSSION

Cardiovascular diseases are among the ones that cause death the most in the contemporary society³¹, despite the trend of the incidence and mortality declining, thus, motivating the development of extensive studies and researches aimed at improved prevention methods, diagnosis and treatment³². Periodontal disease has also been the subject of extensive studies and researches in recent decades to represent one of the major public health problems, due to its relatively high prevalence, even in developed countries, and it is also considered the most prevalent chronic disease that affects the human dentition. D'Aiuto et al.³³ observed that periodontitis and cardiovascular disease represent long-term chronic conditions and speculated that, due to the formation of atheroma to be started in childhood, the periodontal treatment performing only in the final stage of the atherosclerosis development (very later in life) may not represent an effective method of preventing the cardiovascular disease progression³⁴. Thus, this study was conducted to seek evidences to suggest an association between periodontal and cardiovascular diseases in children with congenital heart disease.

The results of this study demonstrate that there is an improvement in the clinical periodontal parameters (*table 1*) and lipid levels (TC, TGs, VLDL), both in individuals who had blood values within the normal range and those who are dyslipidemic. The periodontal treatment was effective in both groups and showed a significant improvement in the results, as shown in *table 2*, demonstrating that the control of the periodontal disease can be accomplished independently of the systemic condition of the child.

Although the role of periodontitis associated with diet and behavior can not be excluded, the periodontal treatment itself was effective for the lipid profile improvement. One possible explanation for this conclusion could be the fact that the cytokines IL-6 and TNF- α , which are present in the periodontal disease, also have effects on lipid metabolism and influence the production of other cytokines,^{20, 35, 36} altering the haemodynamics and the utilization of amino acids by different tissues involved in the lipid metabolism,³⁷ or by modifying the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and increasing the plasma concentrations of adrenocorticotrophic hormones, cortisol, adrenaline, noradrenaline and glucagon.³⁸ Through the action of IL-1 β and TNF- α , the exposure to microorganisms/endotoxins results in elevated levels of free fatty acids (FFA), LDL and TRG. These serum lipids elevations result from the increased hepatic lipogenesis,^{37, 38} the adipose tissue and blood circulation lipolyses, and the TGs and LDL increased synthesis or reduced elimination, due to the decreased activity of lipoprotein lipase.^{39, 40} So, any condition that produces IL-1 β and TNF- α serum elevation (such as periodontitis) has the potential to cause hyperlipidemia.

In this study, after evaluating the lipid profile, *table 2*, the reduction of the TC, TGs and VLDL levels in both groups occurred as a result of a good periodontal therapy, with a greater emphasis on treatment of full-mouth scaling and root planning (FMSRP), which was corroborated by the study of Oz et al.²⁵ These authors have proved the effect of periodontal treatment was beneficial on lipid metabolism.

Suggesting the effectiveness of the periodontal treatment, the data analyzed in *table 2* demonstrated a significant decrease in FGN and IL-6 parameters in both groups and decreased CRP in *group 1*. In this last group, there was an emphasis to the SRP treatment. Vidal et al.⁴¹ also noted an improvement in clinical periodontal data and a decrease in IL-6, CRP and FGN plasma levels after the periodontal treatment of hypertensive patients with severe periodontitis. The IL-6 is the greatest stimulus initiator to the synthesis of the acute phase proteins by the hepatocytes and the first determinant in the hepatic CRP production. These markers added to the FGN were significantly increased in individuals who were part of the PRIME study, which showed the three of them as predictors of coronary heart disease.⁴² However, the IL-6 was a strong and independent predictor for sudden death in this group of patients.⁴³

In contrast to IL-6, the TNF- α concentration was lower in patients with periodontitis than in those who have already been treated, what could be observed in both groups (*table 2*). Thus, these periodontal treatments did not significantly affect the levels of TNF- α . Such event was also observed by Nakajima et al.,⁴⁴ who believe that it occurs due to the TNF effects to be suffering more influence on the metabolism of glucose and lipids than the inflammatory action on the endothelial cells. This way, the role of TNF- α , when induced by the periodontal infection, may have little atherogenic effect.

CONCLUSION

Thus, considering these results, we can conclude that both periodontal treatments were effective in children with congenital heart disease, but without superiority between the treatments. Both SRP and FMSRP have significantly improved periodontal clinical and laboratorial parameters, with emphasis on CAL, CT, FGN and IL-6.

Conflict of Interest and Sources of Funding Statement

The authors declare that there are no conflicts of interest in this study. This study was supported by the Foundation for Post-Graduate Education (CAPES), Brasília, Brazil, and Western Paraná State University, Cascavel, Paraná, Brazil.

REFERENCES

1. Hagemann LL, Zielinsky P. Population screening of fetal cardiac abnormalities through prenatal echocardiography in low-risk pregnancies in the municipality of Porto Alegre. *Arq Bras Cardiol.* 2004;82(4):313-326.

2. Marelli AJ, Mackie AS, Ionescu-Ittu R, Rahme E, Pilote L. Congenital heart disease in the general population: changing prevalence and age distribution. *Circulation*. 2007;115(2):163-172.
3. Hakala PE. Dental and oral changes in congenital heart disease. *Suom Hammaslaak Toim*. 1967;63(6):284-324.
4. Hallett KB, Radford DJ, Seow WK. Oral health of children with congenital cardiac diseases: a controlled study. *Pediatr Dent*. 1992;14(4):224-230.
5. Buhlin K, Gustafsson A, Pockley AG, Frostegard J, Klinge B. Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis. *Eur Heart J*. 2003;24(23):2099-2107.
6. Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem*. 2008;54(1):24-38.
7. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health Organization., World Heart Federation., World Stroke Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: *World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization*. 2011; vi, 155.
8. Napoli C, Glass CK, Witztum JL, Deutsch R, D'Armiento FP, Palinski W. Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet*. 1999;354(9186):1234-1241.
9. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP, 3rd, Srinivasan SR, Webber LS, Dalferes ER Jr, Strong JP. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*. 1992;70(9):851-858.

10. McGill HC, Jr., McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(5 Suppl):1307S-1315S.
11. Modelli ME, Cherulli AS, Gandolfi L, Pratesi R. Atherosclerosis in young Brazilians suffering violent deaths: a pathological study. *BMC Res Notes.* 2011;4:531.
12. Giannakoulas G, Dimopoulos K, Engel R, Goktekin O, Kucukdurmaz Z, Vatankulu MA, Bedard E, Diller GP, Papaphylactou M, Francis DP, Di Mario C, Gatzoulis MA. Burden of coronary artery disease in adults with congenital heart disease and its relation to congenital and traditional heart risk factors. *Am J Cardiol.* 2009;103(10):1445-1450.
13. Pemberton VL, McCrindle BW, Barkin S, Daniels SR, Barlow SE, Binns HJ, Cohen MS, Economos C, Faith MS, Gidding SS, Goldberg CS, Kavey RE, Longmuir P, Rocchini AP, Van Horn L, Kaltman JR. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute's Working Group on obesity and other cardiovascular risk factors in congenital heart disease. *Circulation.* 2010;121(9):1153-1159.
14. Kinane DF, Lowe GD. How periodontal disease may contribute to cardiovascular disease. *Periodontol 2000.* 2000;23:121-126.
15. Genco RJ, Van Dyke TE. Prevention: Reducing the risk of CVD in patients with periodontitis. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(9):479-480.
16. Ebersole JL, Cappelli D. Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontol 2000.* 2000;23:19-49.
17. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clin Periodontol.* 2013;40 Suppl 14:S1-7.
18. Shaddox LM, Wiedey J, Calderon NL, Magnusson I, Bimstein E, Bidwell JA, et al. Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis. *J Dent Res.* 2011;90(9):1140-1144.

19. Lockhart PB, Bolger AF, Papapanou PN, Osinbowale O, Trevisan M, Levison ME, Taubert KA, Newburger JW, Gornik HL, Gewitz MH, Wilson WR, Smith SC Jr, Baddour LM; American Heart Association Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Peripheral Vascular Disease, and Council on Clinical Cardiology. Periodontal disease and atherosclerotic vascular disease: does the evidence support an independent association?: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(20):2520-2544.
20. Schenkein HA, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J Clin Periodontol*. 2013;40 Suppl 14:S51-69.
21. Cutler CW, Shinedling EA, Nunn M, Jotwani R, Kim BO, Nares S, Iacopino AM. Association between periodontitis and hyperlipidemia: cause or effect? *J Periodontol*. 1999;70(12):1429-1434.
22. Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Periodontol*. 2002;73(5):494-500.
23. Machado AC, Quirino MR, Nascimento LF. Relation between chronic periodontal disease and plasmatic levels of triglycerides, total cholesterol and fractions. *Braz Oral Res*. 2005;19(4):284-289.
24. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol. *J Dent Res*. 2005;84(3):269-273.
25. Oz SG, Fentoglu O, Kilicarslan A, Guven GS, Tanrtover MD, Aykac Y, Sozen T.. Beneficial effects of periodontal treatment on metabolic control of hypercholesterolemia. *South Med J*. 2007;100(7):686-691.

26. Pussinen PJ, Jauhiainen M, Vilkuna-Rautiainen T, Sundvall J, Vesanen M, Mattila K, Palosuo T, Alfthan G, Asikainen S. Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *J Lipid Res.* 2004;45(1):139-147.
27. Frisbee SJ, Chambers CB, Frisbee JC, Goodwill AG, Crout RJ. Self-reported dental hygiene, obesity, and systemic inflammation in a pediatric rural community cohort. *BMC Oral Health.* 2010;10:21.
28. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-135.
29. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21:533-551.
30. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res.* 1995;74(8):1459-1467.
31. Luepker RV. Cardiovascular disease: rise, fall, and future prospects. *Annu Rev Public Health.* 2011;32:1-3.
32. Moura Foz A, Alexandre Romito G, Manoel Bispo C, Luciancencov Petrillo C, Patel K, Suvan J, D'Aiuto F. Periodontal therapy and biomarkers related to cardiovascular risk. *Minerva Stomatol.* 2010;59(5):271-283.
33. D'Aiuto F, Parkar M, Nibali L, Suvan J, Lessem J, Tonetti MS. Periodontal infections cause changes in traditional and novel cardiovascular risk factors: results from a randomized controlled clinical trial. *Am Heart J.* 2006;151(5):977-984.
34. D'Aiuto F, Orlandi M, Gunsolley JC. Evidence that periodontal treatment improves biomarkers and CVD outcomes. *J Clin Periodontol.* 2013;40:S85-S105.
35. Moldawer LL. Biology of proinflammatory cytokines and their antagonists. *Crit Care Med.* 1994;22(7):S3-7.

36. Hauner H, Petruschke T, Russ M, Rohrig K, Eckel J. Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. *Diabetologia*. 1995;38(7):764-771.
37. Feingold KR, Grunfeld C. Tumor necrosis factor-alpha stimulates hepatic lipogenesis in the rat in vivo. *J Clin Invest*. 1987;80(1):184-190.
38. Bittencourt MdSP, Figueredo CMdS, Fischer RG. The influence of non-surgical periodontal treatment over the elements of the blood, lipidic profile and glycemia of patients suffering from chronic periodontitis. *Rev Cienc Med Biol*. 2004;3(1):60-68.
39. Fried SK, Zechner R. Cachectin/tumor necrosis factor decreases human adipose tissue lipoprotein lipase mRNA levels, synthesis, and activity. *J Lipid Res*. 1989;30(12):1917-1923.
40. Moeintaghavi A, Haerian-Ardakani A, Talebi-Ardakani M, Tabatabaie I. Hyperlipidemia in patients with periodontitis. *J Contemp Dent Pract*. 2005;6(3):78-85.
41. Vidal F, Figueredo CM, Cordovil I, Fischer RG. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension. *J Periodontol*. 2009;80(5):786-791.
42. Luc G, Bard JM, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart JC, Ducimetiere P; PRIME Study Group. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(7):1255-1261.
43. Empana JP, Jouven X, Canoui-Poitrine F, Luc G, Tafflet M, Haas B, Arveiler D, Ferrieres J, Ruidavets JB, Montaye M, Yarnell J, Morange P, Kee F, Evans A, Amouyel P, Ducimetiere P. C-reactive protein, interleukin 6, fibrinogen and risk of sudden death in European middle-aged men: the PRIME study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(10):2047-2052.

44. Nakajima T, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Ito H ,Takahashi N, Maekawa T, Tabeta K, Yamazaki K. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res.* 2010;45(1):116-122.

Table 1. Dental Clinical Evaluation and statistical significance.

	SRP (Group 1)				FMSRP (Group 2)			
	1 st stage	2 nd stage	3 rd stage	Δ	1 st stage	2 nd stage	3 rd stage	Δ
	(0)	(90 days)	(180 days)	(0 - 180)	(0)	(90 days)	(180 days)	(0 - 180)
PI	46.81±0.70	47.67±0.64	32.65±0.53 [#]	14.16±0.75	39.86±0.40	26.97±0.43 [#]	22.19±0.57 [#]	17.67±1.00
%								
GI	7.61±0.17	8.36±0.17	4.13±0.11 [#]	3.48±0.21	5.41±0.12	3.08±0.07 [#]	4.16±0.17 [#]	1.25±0.15*
%								
BOP	20.25±0.56	7.99±0.15 [#]	6.32±0.15 [#]	13.93±0.52	18.03±0.41	5.59±0.24 [#]	4.51±0.16 [#]	13.52±0.46
%								
PD	1.88±0.01	1.53±0.01 [#]	1.39±0.01 [≠]	0.49±0.07	1.93±0.01	1.50±0.01 [#]	1.43±0.01 [≠]	0.40±0.10
mm								
CAL	1.89±0.01	1.53±0.01 [#]	1.40±0.01 [≠]	0.49±0.07	1.93±0.01	1.50±0.01 [#]	1.43±0.01 [≠]	0.40±0.10
mm								

^{#,≠} Statistically significant difference among means within of each treatment groups at p<0.05

* Statistically significant difference between the variation of the means (Δ), considering the two treatment groups at p<0.05

Data are expressed as means ± standard error of the mean and are expressed in percentages for PI, GI and BOP and in millimeters for PD and CAL.

Table 2. Laboratorial Evaluation and statistical significance.

	SRP (Group 1)			FMSRP (Group 2)		
	1 st stage	3 rd stage	Δ	1 st stage	3 rd stage	Δ
	(0)	(180 days)	(0 - 180)	(0)	(180 days)	(0 - 180)
TC						
mg/dL	153.76±0.60	149.08±0.62 [#]	4.68±0.55	154.80±0.41	149.76±0.53 [#]	5.04±0.54
LDL						
mg/dL	85.83±0.53	90.78±0.70 [#]	-4.95±0.12	85.12±0.46	81.92±0.62	3.20±0.15*
HDL						
mg/dL	51.35±0.32	51.57±0.23	-0.22±0.04	54.37±0.44	53.53±0.44	0.84±0.13
TGs						
mg/dL	82.94±0.86	75.85±0.80 [#]	7.09±0.83	76.93±0.70	71.15±0.61 [#]	5.78±0.86
VLDL						
mg/dL	16.51±0.17	15.21±0.15 [#]	1.30±0.16	15.35±0.14	14.30±0.11 [#]	1.05±0.18
FGN						
g/L	2.71±0.02	2.52±0.01 [#]	0.19±0.02	2.74±0.02	2.35±0.01 [#]	0.39±0.02
CRP						
mg/dL	0.61±0.04	0.20±0.01 [#]	0.41±0.04	0.12±0.01	0.20±0.01	-0.08±0.01
IL-6						
pg/mL	1.42±0.09	0.85±0.02 [#]	0.57±0.01	0.92±0.02	0.72±0.01 [#]	0.20±0.02
TNF-α						
pg/mL	12.39±0.9	15.79±1.43	-3.38±0.08	13.44±0.70	17.73±1.30	-4.29±0.13

[#] Statistically significant difference between means within of each treatment groups at p<0.05

* Statistically significant difference between the variation of the means (Δ), considering the two treatment groups at p<0.05

Data are expressed as means ± standard error of the mean and are expressed in milligrams/deciliter for TC, LDL, HDL, TGs, VLDL and CRP, in grams/liter for FGN and for TNF-α and IL-6 in picograms/milliliter.

----- Mensagem encaminhada -----

De: Jeanette Pearce <Jeanette@dovepress.com>

Para: canassar@yahoo.com

Enviadas: Quinta-feira, 29 de Agosto de 2013 21:27

Assunto: Dove Medical Press: Submission accepted for publication

Dear Professor Nassar,

I am pleased to inform you that your submission, "LIPID PROFILES AND INFLAMMATORY MARKERS POST PERIODONTAL TREATMENT IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE AND AT RISK FOR ATHEROSCLEROSIS ", has been accepted for publication in "Vascular Health and Risk Management". The publication processing fee is now payable and an invoice is accessible here: http://www.dovepress.com/invoice.php?pa=edit&invoice_id=9592&l=UMtGkKWorkd5JjHL8xUeSoBm317560

(Please note that you can modify your address on the invoice if necessary.)

The fee can be paid by credit card (MasterCard or Visa) or bank transfer*. Instructions are given below, which we strongly recommend you read before organizing payment.

Paying by credit card:

Click on the URL given above to be taken to our secure credit card payment gateway. Because credit card payments are immediate, we recommend using this method to ensure that processing of your paper continues promptly.

Paying by bank transfer:

Please forward the invoice accessible through the URL given above together with this information to your organization's accounts administrator:

Dove Medical Press Ltd.

Bank of Scotland.

33 Old Broad Street, London, EC2N 1HZ, United Kingdom.

Account name: Dove Medical Press Ltd NO2 A/C.

Account No. 06024718 Sort Code: 12-17-40.

VAT No. GB 834 5642 20

IBAN: GB08 BOFS 1217 4006 0247 18.

SWIFT BIC: BOFSGB21274.

IMPORTANT NOTES WHEN PAYING BY BANK TRANSFER:

* Bank transfer costs: If paying by bank transfer you must ensure that the full amount of the invoice is transferred to Dove Medical Press. Any bank fees should be at the senders expense as under-payment of your invoice will result in delays to your paper being published.

- Please instruct your accounts administrator to include your submission ID in the payment information provided when the transfer is initiated.

PLEASE NOTE: We do not accept payment by check.

Questions:

I can be contacted by email at:

Jeanette@dovepress.com.

Receipts:

If you require a receipt please let me know.

What happens after payment is received:

Your manuscript will be sent for copy editing and typesetting. After typesetting has been completed author proofs will be sent to you for correction as needed. We will then send your corrections to be incorporated into the author proofs by the typesetter. You have the option of seeing the corrected proofs again or approving your paper for publication immediately after the corrected proofs have been received.

You will be notified as soon as your paper is published, and a new article notification will be emailed to all opt-in users for the journal.

If you have any questions about your paper please contact us at any time, we welcome your feedback.

Yours sincerely

Jeanette Pearce

Dove Medical Press

www.dovepress.com - open access to scientific and medical research

52187



Author Guidelines

Preparation of Manuscript

Include:

- Forename(s) and surnames of authors (see Authorship section below)
- Author affiliations: department, institution, city, state, country
- Abstract 300 words
- 3–6 keywords
- Running header (shortened title)
- Corresponding author: name, physical address, phone, fax, email
- Double-spacing
- 3-cm margins
- Page numbers
- Clear concise language
- American spelling
- Ensure tables and figures are cited
- The preferred electronic format for text is Microsoft Word
- Manuscripts will be accepted in LaTeX as long as the native LaTeX and a PDF is also supplied
- Use International Systems of Units (SI) symbols and recognized abbreviations for units of measurement
- Do not punctuate abbreviations eg, et al, ie
- Spell out acronyms in the first instance in the abstract and paper
- Word counts are not specified. In general, shorter items range from 1000 to 3000 words and reviews from 3000 to 7,500
- Generic drug names are used in text, tables, and figures
- Suppliers of drugs, equipment, and other brand-name material are credited in parentheses (company, name, city, state, country)
- If molecular sequences are used, provide a statement that the data have been deposited in a publicly accessible database, eg, GenBank, and indicate the database accession number.

While the editors fully understand the extra challenges posed to authors whose native language is not English, we must ask that all manuscripts be reviewed and edited by a native speaker of English with expertise in that area prior to submission.

Authorship

Authorship credit should be based on:

- 1) Substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data;
- 2) Drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and
- 3) Final approval of the version to be published.

Authors should meet conditions 1, 2, and 3.

When a large, multicenter group has conducted the work, the group should identify the individuals who accept direct responsibility for the manuscript (3). These individuals should fully meet the criteria for authorship/contributorship defined above, and editors will ask these individuals to complete journal-specific author and conflict-of-interest disclosure forms. When submitting a manuscript authored by a group, the corresponding author should clearly indicate the preferred citation and identify all individual authors as well as the group name. Journals generally list other members of the group in the Acknowledgments. The NLM indexes the group name and the names of individuals the group has identified as being directly responsible for the manuscript; it also lists the names of collaborators if they are listed in Acknowledgments.

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.

Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content.

Increasingly, authorship of multicenter trials is attributed to a group. All members of the group who are named as authors should fully meet the above criteria for authorship/contributorship.

The group should jointly make decisions about contributors/authors before submitting the manuscript for publication. The corresponding author/guarantor should be prepared to explain the presence and order of these individuals. It is not the role of editors to make authorship/contributorship decisions or to arbitrate conflicts related to authorship.

Contributors Listed in Acknowledgments

All contributors who do not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section. Examples of those who might be acknowledged include a person who provided purely technical help, writing assistance, or a department chairperson who provided only general support. Authors should declare whether they had assistance with study design, data collection, data analysis, or manuscript preparation. If such assistance was available, the authors should disclose the identity of the individuals who provided this

assistance and the entity that supported it in the published article. Financial and material support should also be acknowledged.

Groups of persons who have contributed materially to the paper but whose contributions do not justify authorship may be listed under such headings as “clinical investigators” or “participating investigators,” and their function or contribution should be described—for example, “served as scientific advisors,” “critically reviewed the study proposal,” “collected data,” or “provided and cared for study patients.” Because readers may infer their endorsement of the data and conclusions, these persons must give written permission to be acknowledged.

Please note: the Authorship and “Contributors Listed in Acknowledgments” sections are reprinted from the ICMJE Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Dove Medical Press prepared this reprint. The ICMJE has not endorsed nor approved the contents of this reprint. The official version of the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals is located at www.ICMJE.org. Users should cite this official version when citing the document.

Related Authors

Where authors of a paper are related this should be disclosed at the time of submission. Please provide details of the family relationship between such authors.

Figures and Tables

- Submit as separate files
- Number consecutively
- Provide a descriptive heading/legend
- Place abbreviations and footnotes immediately below the table
- Use superscript ^{a, b, c}... as identifiers
- Submit figures as PDFs, TIFF files, or in their originating graphics application
- Supply Line Art 900 dpi, Combination (Line Art + Halftone) 900 dpi, Halftone 300 dpi
- Graphics downloaded from Web pages are NOT acceptable
- Submit multi-panel figures, ie with parts labeled a,b,c,d, as one file

Supplementary Data

Any supplementary data should be kept to 6 typeset pages or 2,400 words. If you have any more than this you should provide a link to the supplementary data on an external website, your institute’s website for example, and/or Dove Medical Press may be able to upload the raw supplementary data to the <http://www.dovepress.com/> website and provide a link in your paper. We welcome video files either as supplementary data or as part of the actual manuscript to show operations, procedures, etc.

Letter to the Editor

Manuscripts submitted as a Letter to the Editor:

- Should relate to a paper previously published in a Dove Medical Press journal, or address an issue of wider concern within the scope of the journal;
- Have a word count of no more than 3,600 words;
- May contain figures and tables (see specifications for these above);
- Have references formatted in the [Dove Medical Press style](#).

Submission of Manuscript

- All manuscripts should be submitted via our [website](#).
- By doing so you agree to the terms and conditions of submission
- Keep a backup and hard copies of the material submitted

Pre-submissions

- Authors are welcome to send an abstract or draft manuscript to obtain a view from the Editor about the suitability of their paper. Please [email here](#) and include which journal you are interested in submitting your manuscript to. Our Editors will do a quick review (not peer review) of your paper and advise if they believe it is appropriate for submission to their journal. This will be based on subject matter vs the aims and scope of the journal. It will not be a full review of your manuscript.

Reference Style

See [Reference Style Guidelines](#)

Proofs

- You will receive the typeset page proofs for approval
- Check amendments made by the editor have not rendered the material inaccurate
- Check you have answered all the editor's queries
- Ensure your corrections are minimal and absolutely necessary
- Mark the adjustments clearly in the text and margins, and keep a copy of what you send to the editor
- Notify the editorial office of all corrections within 72 hours of your receipt of the material
- Ensure all authors sign and return the Author Approval and final page of Publication Agreement

ARTIGO CIENTÍFICO 2

EFFECTIVENESS OF PERIODONTAL TREATMENT ON THE IMPROVEMENT OF INFLAMMATORY MARKERS IN CHILDREN

ARTIGO CIENTÍFICO 2

Effectiveness of periodontal treatment on the improvement of inflammatory markers in children

Adriana Chassot Bresolin^{*}; Mariana Menegassi Pronsatti[†]; Larissa Nicole Pasqualotto[‡]; Patrícia Oehlmeyer Nassar[†]; Alex Sandro Jorge[°]; Edson Antonio Alves da Silva^ª; Carlos Augusto Nassar[†];

^aMaster Degree Student in Biosciences and Health, Western Paraná State University (UNIOESTE) Cascavel, Paraná, Brazil. [†]Dental School Professor, Cascavel, Western Paraná State University - UNIOESTE, Cascavel, Paraná, Brazil. [°]Biochemical School Professor, Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brazil. ^ªStatistician and Graduate Program Professor, Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brazil.

Running title: Periodontal treatment in children

Correspondence should be sent to Carlos Augusto Nassar, DDS, Periodontology, Dentistry School, Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, Paraná, Brazil. Rua Pernambuco, 593 – apto 504 – Centro – CEP 85810-020 – Centro – Cascavel – Paraná – Brazil. Cellphone: + 55 45 91013369. E-mail: canassar@yahoo.com

ABSTRACT

Aim: It is known that atherosclerosis begins in childhood, a behavior toward oral health care and metabolic control, since an early age, is essential for patients with cardiovascular disease. The aim of this research was to evaluate the effectiveness of periodontal treatment full-mouth scaling and root planning (FMSRP), applied to children without systemic diseases, correlating with periodontal clinical and blood parameters (lipid profile and inflammatory markers).

Materials and Methods: The 29 patients were divided into two groups, group1(14) -scaling and rot planning (SRP), group2(15) –FMSRP and the follow-up was conducted among 180 days. **Results:** The results showed a significant improvement in clinical periodontal parameters ($p < 0.05$) in both groups. In the analyzed blood parameters there was a greater evidence, with a significant improvement ($p < 0.05$), in total cholesterol (TC), triglycerides (TGs), fibrinogen (FGN), and interleukin-6 (IL-6). **Conclusions:** Thus, we suggest that both periodontal treatments were effective in children without any systemic diseases.

Keywords: Lipid profile; Inflammatory markers; Periodontal treatment; Children; Periodontitis

INTRODUCTION

The bacterial plaque is responsible for the emergence and maintenance of the periodontal disease, however, the host defense mechanisms play an important role in its pathogenesis(1).It is generally accepted that certain organisms within the microbial flora of dental plaque is the main etiological agents of periodontitis which is one of the most common chronic inflammatory diseases of the world(1).These microorganisms, particularly *Porphyromonasgingivalis* (*P. gingivalis*), produce endotoxin in the form of lipopolysaccharides (LPS), which generates a host-mediated immune response and leads to

tissue destruction(2). Moreover, according to the same authors, there are evidences for the direct invasion of these microorganisms in cardiovascular cells.

Despite the fact that systemic diseases are able to increase the risk for periodontitis, only from the late last century evidences began to emerge that infections of the oral cavity, especially periodontal diseases, are able to influence the severity of certain systemic diseases(3).

On the other hand, atherosclerosis is a major public health problem, being the leading cause of morbidity and mortality(4), its etiology is multifactorial consisting of immuno-inflammatory, lipogenic and infectious activities. The disease is progressive, leading to acute events, such as unstable angina and myocardial infarction(4). There is evidence that the formation of atherosclerotic plaque begins in childhood(5), corroborated by the Bogalusa Study(6), which demonstrated a high association of fatty streaks in the aorta and coronary arteries with high levels of TC and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol. Therefore, it is assumed that the risk factors control in childhood may delay or attenuate the progression of atherosclerotic disease.

Health professionals must be also aware that these diseases share many risk factors and evident similarities in basic pathogenic mechanisms(7). Possible mechanisms for the infection-inflammation relationship of the periodontal tissues and systemic changes initiate and maintain high systemic levels of several cytokines related to the acute phase response of inflammation(1). There are evidences that increased levels of markers of systemic inflammation, such as C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6), are also associated with cardiovascular diseases(8).

Inflammatory cytokines, including interleukin-1 (IL-1), IL-6 and tissue necrosis factor alpha (TNF- α) regulate gene expression of acute phase and the protein synthesis. The CRP and fibrinogen are one of the key proteins involved in this phase. Periodontitis is associated

with increased levels of CRP and fibrinogen, which also participate in the formation of atherosclerosis. The Fibrinogen facilitates the accumulation of extracellular subendothelial LDL and transfers cholesterol from platelets to monocytes / macrophages, the fibrinogen may also participate in the formation of foam cells(9).

D'Aiuto *et al.*(10) showed a decrease in TC and LDL after two months of periodontal therapy, thus concluding that periodontitis causes moderate systemic inflammation in systemically healthy individuals and that periodontal treatment may be contributory to the control levels cholesterol individuals. Katz *et al.*(11) found that the presence of periodontal pockets was positively associated with high levels of cholesterol and LDL in men.

Few studies correlate periodontal disease in children with inflammatory markers. Shaddox *et al.*(12) studying a young population, aged between 5 and 20 years old, observed in patients with elevated levels of periodontitis to systemic LPS endotoxin, which were strongly correlated with clinical parameters and higher levels of cytokines in the gingival crevicular fluid.

The interdisciplinary engagement in pediatric becomes even more important, especially in the monitoring of children and adolescents with obesity, another significant risk factor for atherosclerotic disease. Negative effects of overweight and obesity are also observed in the health of the gingival tissues in many studies. Franchini *et al.*(13) after studying a young population between 10-17 years old, believe it is due to the combination of inflammatory and metabolic profiles with attitude neglected for the prevention of oral disease. To strengthen adequate control of risk factors, a continuous monitoring of the child is needed, involving, besides the multiprofessionality, the various levels of primary care and health promotion. It would be impossible to think of prevention without first ensuring the patient access to a health system and information, and without providing him/her the right to longitudinality and integrality in his/her treatment.

Based on this information, a question appears and asks what the best type of periodontal treatment for children is and if it alters lipid levels and inflammatory factors. The aim of this research was to compare the effect of periodontal treatment full-mouth scaling and root planning (FMSRP) in the reduction of the periodontal disease, correlate with clinical periodontal parameters, blood lipid and inflammatory markers levels, in children without systemic diseases.

MATERIALS and METHODS

The proposed research was a prospective clinical study with a quantitative approach. The study was realized in Cascavel, Paraná, Brazil, at Western Paraná State University and was approved by the Ethics Committee of this University (#033/2012- CEP). The data collection period took place from March to December, 2012.

The exclusion criteria were: use of antibiotics and anti-inflammatories, steroids or no steroids, in the month prior to the study; periodontal treatment in the previous 6 months and those patients with any chronic inflammatory disease. As inclusion criteria, children should be between 7-12 years old with chronic periodontitis, with at least two sites with probing depth greater than 5 mm and clinical attachment level above 2mm on permanent teeth, with a bleeding on probing and gingival inflammation on clinical examination, with the amount of plaque and calculus compatible with chronic periodontitis, discarding the hypothesis of aggressive periodontitis. The teeth should present a normal position, with a minimum of 20 teeth in dental arches, with the clinical examination realized in the vestibular, lingual/palatal, mesial and distal surfaces. A total of 90 children were evaluated in the Dental Clinic of Unioeste, 61 were excluded for not meeting all the inclusion criteria or because they have some exclusion criteria, or for not attending in any of the stages proposed for data collection. The 29 children randomly selected for the study looked for the university services for dental

treatment and did not present any systemic involvement.

The data collection consisted of three phases and was developed in a period of 180 days. The dental clinical evaluations were conducted in a 90-day-interval, corresponding to the 1st stage: start, 2nd stage: 90 days, and 3rd stage: 180 days. Whereas, the laboratory tests were collected and measured at the initial stage and 3rd stage (180 days).

Dental Clinical Evaluation:

The oral examinations were performed by a single trained examiner, calibrated with extensive experience in Periodontics, but without knowledge of the composition of the groups, who, through a periodontal probe in the type WILLIAMS #23, determined:

1. Plaque index (PI) of Silness&Løe(14) and Gingival index (GI) of Løe&Silness(15). The plaque component of this index divides the tooth surface of each tooth into four zones—buccal, distal, mesial, and lingual to the tooth—and designates codes 0 for absence or 1 for presence of visible plaque (dichotomized for absence and presence of visible plaque). The gingival inflammatory condition was evaluated by the Løe and Silness Gingival Index (GI), dichotomized for presence or absence of bleeding.
2. Probing depth (PD), the distance from the bottom of the sulcus to the gingival margin, which was determined in six points: mesio-buccal, buccal, disto-buccal, disto-lingual/palatal, lingual/palatal and mesio-lingual/palatal from each tooth to be examined.
3. Clinical attachment level (CAL), also determined at the same points of probing depth.
4. Bleeding on probing (BOP).

Laboratorial Evaluation:

The blood sample was obtained in the morning, after an eight-hour fasting, collected in the 1st and 3rd stage in the same day and prior to the dental clinical evaluation, under a

previous authorization of the responsible person. After collection, the blood was centrifuged at 3,200 rpm for 10 minutes and the serum was stored in Eppendorf tubes. For the proinflammatory cytokines analysis, part of the serum from all patients was maintained at -20°C and was evaluated only after the 3rd stage was finished. For the fibrinogen analysis, the total blood sample was collected in a tube containing sodium citrate and the plasma was separated by centrifugation at 3,200 rpm for 10 minutes. The blood and plasma samples were obtained and analyzed to determine the lipid profile and inflammatory markers, considering the following parameters:

1. Total cholesterol (TC)
2. Cholesterol fractions (LDL, VLDL and HDL)
3. Triglycerides (TGs)
4. C-reactive protein ultrasensitive (CRP ULTRA)
5. Fibrinogen (FGN)
6. Expression of IL-6 and TNF- α

The levels of TC, HDL and TGs were measured through dry chemistry methodology by automated biochemical analyzer, the model is Vitros Fusion 5.1 and the brand is Ortho-Clinical Diagnostics®, from Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA. CRP was measured through chemiluminescent technology by the equipment Immulite® model 1000, from Siemens AG, Munich, Germany. FGN levels were determined using the coagulometric method through an automated equipment, the model is Sysmex CA 500, the brand is Siemens, Marburg, Germany. The inflammatory cytokines (IL-6 and TNF- α) were determined by ELISA method in plate Invitrogen™, California, USA, according to the protocols determined by the manufacturer and the reading was performed in a multicanal reader, the model is MR-96A and the brand is Mindray, China.

After the initial clinical and laboratorial evaluations, the 29 patients were divided

randomly into two groups of children, who were distributed according to the performed treatments:

- *Group 1* (14 children) -Conventional periodontal treatment scaling and root planing + Mechanical Control
- *Group 2*(15 children) -Periodontal treatment full-mouth scaling and root planing (one-stage-full-mouth disinfection) + Mechanical control

All patients received periodontal therapy (conventional periodontal therapy or full-mouth scaling and root planing), oral hygiene instructions, and supra- and subgingival scaling, which were performed using Gracey curettes (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA).For each group was given the correct instruction of the mechanical control (Bass Technique + flossing), the same one for both groups and then it was repeated in all stages. The treatment realized for *group 1* consisted of conventional periodontal scaling and root planing (SRP) and for *group 2*, the concept of one-stage-full-mouth disinfection (FMSRP), which was proposed by Marc Quirynen's group(16), consisting of the entire oral cavity disinfection associated with the use of mouthwashes based on chlorhexidine.

Statistical Analysis:

All parameters analyzed were subjected to the Shapiro-Wilk test to determine if they had a normal distribution. Regarding the statistical analysis, the data obtained in the Dental Clinical Evaluation were analyzed and evaluated by ANOVA ($p < 0.05$). The Student t test ($p < 0.05$) was used to evaluate the lipid profile (TC, LDL, TGs, VLDL and HDL) and the fibrinogen, since all these parameters showed a normal distribution, after applying the Shapiro-Wilk test. Considering the assessments of CRP, IL-6 and TNF- α , as there wasn't a normal distribution, the Mann-Whitney test ($p < 0,05$) was applied. For calculating the variation of the means (Δ), the data analyzed was from the 1st stage (initial phase) and 3rd

stage (180 days), using the ANOVA test ($p < 0.05$) for the data with normal distributions and Kruskal-Wallis test ($p < 0.05$) for those without normal distributions.

RESULTS

From all patients (29), 59% were male and 41% female, in both groups there was a predominance of boys (*group1* - 64%; *group2* - 53%). The average age was 9 years and 10 months \pm 25 months for *group1* and 9 years and 11 months \pm 18 months for *group 2*.

Regarding the periodontal treatment of these children, both of them showed to be effective related to the clinical data presenting a significant improvement, mainly those ones referring to the CAL and PD parameters, with an emphasis for the 90-day-period when there was a greater reduction. In contrast, only the GI had no improvement between the 90 and 180-day-periods in *group 2* (FMSRP), although there was a significant improvement of this index when compared the data from the 1st and 3rd stages. Because of this fact, in the GI there was a significant statistical difference when analyzing the variation of means (Δ) between the SRP and FMSRP treatment groups, demonstrating superiority in the SRP. The data obtained in the Dental Clinical Evaluation are shown in *table 1*.

The blood values related to the lipid profile (TC, LDL, HDL, TGs, VLDL) and inflammatory markers (FGN, CRP ULTRA, IL-6 and TNF- α) are shown in *table 2*.

About the lipid profile, both treatments demonstrated to be effective with a significant improvement in almost all parameters, except the HDL in the group of children who underwent FMSRP (*group 2*), which had no improvement and remained within the desired range by age. When analyzing the variation of the means (Δ) between the SRP and FMSRP treatment groups a significant statistical difference was observed for LDL with a superiority of the SRP. Statistical differences in variation of the means (Δ) also occurred in the TC and HDL parameters being SRP the most effective one.

Studying the results obtained by the analysis of the inflammatory markers, the FGN had greater prominence, with a significant improvement in both groups, however, with the CRP the improvement occurred only for those who underwent SRP (*group 1*). Analyzing the proinflammatory cytokines, IL-6 had a significant statistical improvement for both groups. There was no statistical difference in the variation of the means (Δ) between the groups when analyzed these inflammatory markers.

DISCUSSION

Authors have shown that the focal and/or systemic infections can contribute for the atherosclerosis development and many of them advocate that the periodontal disease is associated with the atherosclerosis beginning and progression(17), which is explained by several causes, such as the presence of a bacterial load on arterial walls and the inflammatory mediators production, through stimulus acting severely on arterial walls(18).

Periodontal disease has been the subject of extensive studies and researches in recent decades, since it represents one of the major public health problems, due to its relatively high prevalence even in developed countries, where it is considered the most prevalent chronic disease affecting the human dentition. Thus, this study was developed to look for evidences that suggest an association between periodontal and cardiovascular diseases in children.

Despite having several studies reporting an association between periodontal disease and lipid metabolism(11) and other studies investigating the effect of periodontal treatment on the lipid profile(10, 19), the literature has not showed any study that investigates the periodontal treatment impact of systemically compromised patients, especially children, because these patients may have a different response when their lipid parameters are analyzed, due to their sickness or medication. Recently, Frisbee *et al.*(20) performed the first research with American children from rural communities where an oral health questionnaire was

answered and the data were correlated with lipid levels and systemic inflammatory markers. These authors found a statistically significant association between indicators of poor hygiene and inappropriate preventive dental care with increased systemic inflammation markers.

According to Katz *et al.*(11) there is a strong positive statistical correlation between the periodontal and cardiovascular diseases (especially the atherosclerosis), since the periodontopathogenic microorganisms presence could strongly trigger lipid changes and then affect the systemic health. The explanation for this association would be based on the data extrapolation of in vitro studies and also in humans small groups, which showed that the activation of immune cells may produce cytokines, resulting in the injury of endothelial cells and in the initiation or exacerbation of the arterial inflammatory process.

The results of this study demonstrate that there is an improvement in the clinical periodontal parameters and lipid levels (TC, TGs, VLDL), both in individuals who had blood values within the normal range and those who are dyslipidemic. The periodontal treatment was effective in both groups and showed a significant improvement in the results, as shown in *table 2*, demonstrating that the control of the periodontal disease can be accomplished. This control will be more successful when the patient adheres to treatment and a good health promotion and prevention program is offered, which comes from the relationship between the patients with the professionals and the health unit, besides the treatment continuity and longitudinality.

Although the role of periodontitis associated with diet and behavior can not be excluded, the periodontal treatment itself was effective for the lipid profile improvement. One possible explanation for this conclusion could be the fact that the cytokines IL-6 and TNF- α , which are present in the periodontal disease, also have effects on lipid metabolism and influence the production of other cytokines(21). Thus, these serum lipids elevations result from the increased hepatic lipogenesis, the adipose tissue and blood circulation lipolyses, and

the TGs and LDL increased synthesis or reduced elimination, due to the decreased activity of lipoprotein lipase(22).

In this study, after evaluating the lipid profile, *table 2*, the reduction of the TC, TGs and VLDL levels in both groups and the LDL in *group 1* occurred as a result of a good periodontal therapy. For the patients who underwent the FMSRP (*group2*), the LDL presented a little increase, but not a statistically significant difference, however, the HDL presented lower significant levels, since its decreasing represents a worse result, because the HDL has a protective factor. It is important to highlight that despite there was no improvement in these parameters, they were kept within the expected levels for the age. These findings lead us to believe that there is a greater emphasis on treatment of conventional scaling and root planing (SRP), which was corroborated by the study of Aykac *et al.*(19) they have proved the effect of periodontal treatment was beneficial on lipid metabolism. In contrast, Sridhar *et al.*(23) have shown that periodontitis did not influence the lipid levels changes and there was no correlation of these levels with the dental insertion loss.

Suggesting the effectiveness of the periodontal treatment, the data analyzed in *table 2* demonstrated a significant decrease in fibrinogen and IL-6 parameters in both groups and decreased CRP in *group 1*. In this last group, there was an emphasis to the SRP treatment. The improvement in the systemic inflammatory markers levels was reported by Soory& El-Shinnawi(24) and supported with the study realized by De Oliveira *et al.*(25), which demonstrated that as much worse oral hygiene, higher CRP and FGN concentrations and also higher the cardiovascular events risk. The IL-6 is the greatest stimulus initiator to the synthesis of the acute phase proteins by the hepatocytes and the first determinant in the hepatic CRP production. These markers added to the FGN were significantly increased in individuals who were part of the PRIME study, which showed the three of them as predictors

of coronary heart disease, however, the IL-6 was a strong and independent predictor for sudden death in this group of patients(26).

In contrast to IL-6, the TNF- α concentration was lower in patients with periodontitis than in those who have already been treated, what could be observed in both groups (*table 2*). Thus, these periodontal treatments did not significantly affect the levels of TNF- α . Such event was also observed by Nakajima *et al.*(27), who believe that it occurs due to the TNF effects to be suffering more influence on the metabolism of glucose and lipids than the inflammatory action on the endothelial cells. This way, the role of TNF- α , when induced by the periodontal infection, may have little atherogenic effect.

Due to the homogeneity in both treatments (SRP and FMSRP), when the dental clinical and laboratorial parameters are evaluated, it is possible to state that the treatment modality to be chosen for children should be based on other criteria, not assessed in this study. In order to exemplify such criteria, the cost, the treatment period, the preference exposition of the executive team or the choice of a treatment that causes less stress at this age, may be pointed.

CONCLUSION

Thus, considering these results, we can conclude that both periodontal treatments were effective in children without any systemic diseases. Both SRP as FMSRP have significantly improved periodontal clinical and laboratorial parameters, with emphasis on CAL, CT, FGN and IL-6.

ACKNOWLEDGMENTS

This study is part of the Graduate Program, *Strictosensu*, in Health and Biological Science, Master Degree. The authors would like to acknowledge the Western Paraná State University, University Hospital and CAPES for collaborating on this research.

DECLARATIONS

Ethical approval: The Ethics Committee of Western Paraná State University approved the study (#033/2012- CEP) and the informed consent was signed by the patient responsible parent.

Conflict of Interest and Sources of Funding Statement

The authors declare that there are no conflicts of interest in this study. This study was supported by the Foundation for Post-Graduate Education (CAPES), Brasília, Brazil, and Western Paraná State University, Cascavel, Paraná, Brazil.

REFERENCES

1. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms.*J Clin Periodontol* 2013; 40 Suppl 14: S1-7.
2. Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. Periodontal bacterial invasion and infection: contribution to atherosclerotic pathology.*J Clin Periodontol* 2013; 40: S30-S50.
3. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, et al. Association between dental health and acute myocardial infarction.*BMJ* 1989; 298: 779-781.
4. Bharti V, Khurana P. Metabolic syndrome and periodontal disease.*J Indian Soc Periodontol* 2009; 13: 172-174.
5. Modelli ME, Cherulli AS, Gandolfi L, Pratesi R. Atherosclerosis in young Brazilians suffering violent deaths: a pathological study.*BMC Res Notes* 2011; 4: 531.
6. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, et al. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study).*Am J Cardiol* 1992; 70: 851-858.
7. Genco RJ, Van Dyke TE. Prevention: Reducing the risk of CVD in patients with periodontitis.*Nat Rev Cardiol* 2010; 7: 479-480.
8. Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction.*Clin Chem* 2008; 54: 24-38.
9. Vidal F, Figueredo CM, Cordovil I, Fischer RG. Periodontal therapy reduces plasma levels of interleukin-6, C-reactive protein, and fibrinogen in patients with severe periodontitis and refractory arterial hypertension.*J Periodontol* 2009; 80: 786-791.
10. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Suvan J, Tonetti MS. Short-term effects of intensive periodontal therapy on serum inflammatory markers and cholesterol.*J Dent Res* 2005; 84: 269-273.

11. Katz J, Flugelman MY, Goldberg A, Heft M. Association between periodontal pockets and elevated cholesterol and low density lipoprotein cholesterol levels.*J Periodontol* 2002; 73: 494-500.
12. Shaddox LM, Wiedey J, Calderon NL, et al. Local inflammatory markers and systemic endotoxin in aggressive periodontitis.*J Dent Res* 2011; 90: 1140-1144.
13. Franchini R, Petri A, Migliario M, Rimondini L. Poor oral hygiene and gingivitis are associated with obesity and overweight status in paediatric subjects.*J Clin Periodontol* 2011; 38: 1021-1028.
14. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition.*Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-135.
15. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity.*Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-551.
16. Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H. Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations.*J Dent Res* 1995; 74: 1459-1467.
17. Mustapha IZ, Debrey S, Oladubu M, Ugarte R. Markers of systemic bacterial exposure in periodontal disease and cardiovascular disease risk: a systematic review and meta-analysis.*J Periodontol* 2007; 78: 2289-2302.
18. Tonetti MS, Van Dyke TE, working group 1 of the joint EFPAAPw. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases.*J Clin Periodontol* 2013; 40: S24-S29.
19. Aykac Y, Fentoglu O, Guven GS, et al. Beneficial effects of periodontal treatment on metabolic control of hypercholesterolemia.*Sout Med J* 2007: 686+.

20. Frisbee SJ, Chambers CB, Frisbee JC, Goodwill AG, Crout RJ. Self-reported dental hygiene, obesity, and systemic inflammation in a pediatric rural community cohort. *BMC oral health* 2010; 10: 21.
21. Schenkein HA, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J Clin Periodontol* 2013; 40 Suppl 14: S51-69.
22. Moeintaghavi A, Haerian-Ardakani A, Talebi-Ardakani M, Tabatabaie I. Hyperlipidemia in patients with periodontitis. *J Contemp Dent Pract* 2005; 6: 78-85.
23. Sridhar R, Byakod G, Pudakalkatti P, Patil R. A study to evaluate the relationship between periodontitis, cardiovascular disease and serum lipid levels. *Int J Dent Hyg* 2009; 7: 144-150.
24. Soory M, El-Shinnawi U. Diagnostic Value of Acute Phase Proteins in Periodontal, Psychosomatic and Cardiometabolic Diseases: Response to Treatment, In: Veas F, ed. *Acute Phase Proteins as Early Non-Specific Biomarkers of Human and Veterinary Diseases*: InTech, 2011: 408.
25. de Oliveira C, Watt R, Hamer M. Toothbrushing, inflammation, and risk of cardiovascular disease: results from Scottish Health Survey. *BMJ* 2010; 340: c2451.
26. Empana JP, Jouven X, Canoui-Poitrine F, et al. C-reactive protein, interleukin 6, fibrinogen and risk of sudden death in European middle-aged men: the PRIME study. *Arterioscler, Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 2047-2052.
27. Nakajima T, Honda T, Domon H, et al. Periodontitis-associated up-regulation of systemic inflammatory mediator level may increase the risk of coronary heart disease. *J Periodontal Res* 2010; 45: 116-122.

Table 1. Dental Clinical Evaluation and statistical significance, Cascavel, PR, 2012.

	SRP (Group 1)				FMSRP (Group 2)			
	1 st stage (0)	2 nd stage (90 days)	3 rd stage (180 days)	Δ (0 - 180)	1 st stage (0)	2 nd stage (90 days)	3 rd stage (180 days)	Δ (0 - 180)
PI %	58.87±0.67	39.66±0.43 [#]	18.80±0.34 [#]	40.07±0.55	59.06±20.58	37.72±0.41 [#]	29.74±0.23 [#]	29.32±0.75
GI %	14.58±0.44	6.60±0.10 [#]	2.92±0.06 [#]	11.66±0.04	8.93±0.24	4.87±0.11 [#]	6.28±0.12 [#]	2.65±0.02 [*]
BOP %	25.22±0.50	8.91±0.20 [#]	5.77±0.15 [#]	11.66±0.04	22.12±0.63	12.64±0.36 [#]	5.91±0.09 [#]	16.21±0.04
PD mm	1.94±0.01	1.66±0.01 [#]	1.51±0.01 [#]	0.43±0.02	1.88±0.01	1.55±0.01 [#]	1.33±0.01 [#]	0.55±0.02
CAL mm	1.95±0.01	1.67±0.01 [#]	1.51±0.01 [#]	0.44±0.02	1.89±0.01	1.56±0.01 [#]	1.33±0.01 [#]	0.55±0.02

[#] Statistically significant difference among means within of each treatment groups at p<0,05

^{*} Statistically significant difference between the variation of the means (Δ), considering the two treatment groups at p<0,05

Data are expressed as means ± standard error of the mean and are expressed in percentages for PI, GI and BOP and in millimeters for PD and CAL.

Table 2. Laboratorial Evaluation and statistical significance, Cascavel, PR, 2012.

	SRP (Group 1)			FMSRP (Group 2)		
	1 st stage (0)	3 rd stage (180 days)	Δ (0 - 180)	1 st stage (0)	3 rd stage (180 days)	Δ (0 - 180)
TC mg/dL	152.07±0.55	143.92±0.66 [#]	8.15±0.88	158.40±0.5	155.41±0.25 [#]	2.99±0.69 [*]
LDL mg/dL	83.30±0.58	77.23±0.50 [#]	6.15±0.81	91.10±0.60	93.25±0.53	-2.15±0.50 [*]
HDL mg/dL	52.85±0.21	52.53±0.30	0.32±0.02	49.53±0.31	46.00±0.34 [#]	3.53±0.63 [*]
TGs mg/dL	79.64±0.61	70.38±0.46 [#]	9.26±0.81	88.73±1.07	82.33±1.22 [#]	6.40±1.20
VLDL mg/dL	15.91±0.12	14.15±0.09 [#]	1.76±0.14	17.76±0.13	16.16±0.14 [#]	1.60±0.01
FGN g/L	2.50±0.02	2.17±0.01 [#]	0.33±0.02	2.94±0.02	2.73±0.01 [#]	0.21±0.03
CRP mg/dL	0.24±0.01	0.05±0.01 [#]	0.19±0.02	0.10±0.02	0.16±0.01	-0.06±0.01
IL-6 pg/mL	1.63±0.02	1.35±0.0.03 [#]	0.28±0.02	0.44±0.02	0.12±0.01 [#]	0.32±0.3
TNF-α pg/mL	12.12±0.60	14.42±0.56	-2.30±0.05	11.23±0.94	12.96±0.74	-1.73±0.11

[#] Statistically significant difference between means within of each treatment groups at p<0,05

^{*} Statistically significant difference between the variation of the means (Δ), considering the two treatment groups at p<0,05

Data are expressed as means ± standard error of the mean and are expressed in milligrams/deciliter for TC, LDL, HDL, TGs, VLDL and CRP, in grams/liter for FGN and for TNF-α and IL-6 in picograms/milliliter.

----- Mensagem encaminhada -----

De: Archives of Oral Biology <AOB@elsevier.com>

Para: canassar@yahoo.com

Enviadas: Sexta-feira, 6 de Setembro de 2013 14:24

Assunto: Decision on Your Submission AOB-D-13-00388

Ref: AOB-D-13-00388

Title: Effectiveness of periodontal treatment on the improvement of inflammatory markers in children

Archives of Oral Biology

Dear Dr. Nassar,

We have considered the reviewers comments on your manuscript, and I am pleased to tell you that your paper may be acceptable for publication in the Archives of Oral Biology, but requires revision and further review.

I enclose reviewers comments which I hope are helpful, and we invite you to submit a revised manuscript, taking these into account. Should you wish to undertake the revisions/alterations please resubmit by logging onto EES with changes highlighted.

In addition please provide a list of points describing how you have responded to the reviewers and editor's suggestions and a note indicating that all authors have seen and approved the changes. You will see in your menu items that your paper has been moved to the 'Submissions Needing Revision' category.

Please resubmit your revised manuscript here. If you do not wish to proceed, please let us know in order to complete our records. The maximum time allowed for revision is 4 weeks.

Please note:

References should conform to the AOB style i.e. Vancouver (Please refer to the Instructions to Authors at the journal homepage (www.elsevier.com/locate/archoralbio)).

It is the author's responsibility to ensure that data presented in figures and tables agree with that provided in the text. Please cross check figures, tables and text carefully.

When submitting your revised manuscript, please ensure that you upload the source files (e.g. Word). Uploading only a PDF file at this stage will create delays should your manuscript be finally accepted for publication. If your revised submission does not include the source files, we will request them.

Please note that this journal offers a new, free service called AudioSlides: brief, webcast-style

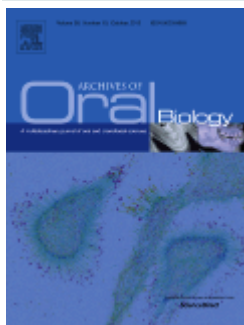
presentations that are shown next to published articles on ScienceDirect (see also <http://www.elsevier.com/audioslides>). If your paper is accepted for publication, you will automatically receive an invitation to create an AudioSlides presentation.

I look forward to receiving your revised paper. Please log onto <http://ees.elsevier.com/aob/> to submit your revisions via the "Submissions Needing Revision" folder.

Best wishes,

Sreela Kurup
Journal Manager
Archives of Oral Biology

Archives of Oral Biology



Guide for Authors

- Editors-in-Chief:

Dr G R Holland, Ann Arbor, MI, USA

Professor G B Proctor, London, UK

Archives of Oral Biology is an international journal which aims to publish papers of the highest scientific quality reporting new knowledge from the orofacial region including:

- developmental biology
- cell and molecular biology
- molecular genetics
- immunology
- pathogenesis
- microbiology
- biology of dental caries and periodontal disease
- forensic dentistry
- neuroscience
- comparative anatomy
- paeleodontology

Archives of Oral Biology will also publish expert reviews and articles concerned with advancement in relevant methodologies. The journal will only consider clinical papers where they make a significant contribution to the understanding of a disease process.

These guidelines generally follow the [Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals](#).

Online submission of papers

<http://ees.elsevier.com/aob>

Submission and peer review of all papers is now conducted entirely online. Authors are guided stepwise through the entire process, and can follow the progress of their paper. The system creates a PDF version of the submitted manuscript for peer review, revision and proofing. All correspondence, including the editors' decision and request for revisions, is conducted by e-mail. Authors requesting further information about online submission should follow the tutorial, at <http://ees.elsevier.com/aob>.

Submission of a paper implies that it has not been published previously, that it is not under consideration for publication elsewhere, and that if accepted it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the publisher. Each manuscript must be accompanied by a statement signed by all authors that the manuscript in its submitted form has been read and approved by them. Authors must supply details of related papers submitted or recently published elsewhere. Submissions lacking this documentation will not be reviewed until it is supplied.

Authors are invited to suggest up to three referees they consider suitable to review their submission. The suggested reviewers should not have collaborated with the authors in the last 5 years. Full postal and email addresses should be included. The editors may or may not, at their discretion, utilize these suggestions.

Authorship

All authors should have made substantial and material contributions to the paper. These would include the

individuals responsible for the conception and design of the experiments and the interpretation of data. If the work was conducted using non-institutional grant funds the Principal Investigator on the funded grant should be included in the authorship. Individuals who gave purely technical help or advise, for example, on statistical tests or provided materials such as cell lines and antibodies should be included in the Acknowledgements. 'Guest' authors are unacceptable. The Acknowledgements should also include the source of the funds used and the Principal Investigator to whom they were awarded. If the manuscript has four or more authors listed, a letter describing the contribution of each should be included. Submissions lacking this documentation will not be reviewed until they are supplied.

Conflict of interest

The potential for conflict of interest exists when an author (or the author's institution), has financial or personal relationships that may influence his or her actions. Authors are specifically asked to reflect on financial conflicts of interest (such as employment, consultancy, stock ownership, honoraria and paid expert testimony) as well as other forms of conflict of interest, including personal, academic and intellectual issues. At the end of the text, under a subheading "Conflict of interest statement" all authors must disclose any financial and personal relationships that could influence their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest a statement confirming such should be included

Ethics

Studies on human beings.

Such studies submitted to Archives of Oral Biology should comply with the principles laid down in the Declaration of Helsinki; Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. The declaration was adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964, amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983, and the 41st World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989 (www.wma.net/e/policy/b3.htm). The manuscript should contain a statement that the work has been approved by the appropriate ethical committees related to the institution(s) in which it was performed and that subjects gave informed consent to the work. A copy of the institutional approval should be included. Submissions lacking these documents will not be reviewed until they are supplied. Patients' and volunteers' names, initials, and hospital numbers should not be used.

Studies on animals.

The experimental procedures and care of animals should be in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (<http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.htm>). The authors must state that animal care was in accordance with both these and institution guidelines. Signed documents of approval by institutional committees should be included as well as a statement from the authors that the study met the standards described in the European Convention. Submissions lacking these documents will not be reviewed until they are supplied.

Copyright

Accepted papers become the copyright of the Journal and are accepted on the understanding that they have not been published, are not being considered for publication elsewhere and are subject to editorial revision. If papers closely related to the submitted manuscript have been published or submitted for publication elsewhere, the author must state this in their cover letter. Upon acceptance of an article, authors will be asked to sign a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/authors>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail (or letter) will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form.

If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Scientific Standards

The aim of Editors and referees is to maintain a high standard of scientific communication. Normally papers are assessed by two referees selected by the Editor, and decisions regarding acceptance are based mainly upon the advice of the referees. Where appropriate, the referees' views are forwarded to the authors for their consideration. Authors may occasionally consider referees' suggestions to be ill-conceived but if their text is misunderstood by referees it is likely to be misunderstood by readers of the journal.

Types of Contribution

Original papers and review articles are welcomed. There will be no differentiation on the basis of length into full or short communications. All submissions will be refereed. Reviews may be submitted in outline prior to full submission.

Manuscript Preparation

Papers should be as concise as possible and, in view of the international character of the journal, English usages that may present difficulties to readers whose first language is not English should be avoided. The spellings used can be British or American, but must be consistent within the manuscript. Authors should express their own findings in the past tense and use the present tense where reference is made to existing knowledge, or where the author is stating what is known or concluded. Original papers should follow the pattern of: Introduction, Materials and Methods, Results or Findings, Discussion.

Authors will gain much assistance by consulting: Council of Biology Editors Style Manual Committee. Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers, 6th edition. New York: Cambridge University Press, 1994.

We suggest that authors consider using a language editing service to improve the English language usage and quality of a paper. A number of language editing companies will provide their services to our authors at competitive rates. Please follow this link for further

details <http://elsevier.com/wps/find/authorsview.authors/languageediting/>.

The editors reserve the right to revise the wording of papers in the interest of the Journal's standards of clarity and conciseness.

General

Manuscripts must be word processed (preferably in Word format), double-spaced with wide margins and a font size of 10 or 12 points. The corresponding author should be identified (include a fax number and email address). Full postal addresses must be given for all co-authors. Please check the current style of the journal, particularly the reference style (Vancouver), and avoid excessive layout styling as most formatting codes will be removed or replaced during the processing of your article. In addition, do not use options such as automatic word breaking, justified layout, double columns or automatic paragraph numbering (especially for numbered references). The Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. Authors should retain copies of all versions of their manuscript submitted to the journal. Authors are especially requested to be vigilant over the submission of the correct version of the manuscript at the various stages of the editorial process.

Text

Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text (Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion for an original paper), Acknowledgments, Appendix, References, Figure Captions and then Tables. Do not import the Figures or Tables into your text. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote. All other footnotes (except for table footnotes) should be identified with superscript Arabic numbers.

Title page

As titles frequently stand alone in indexes, bibliographic journals etc., and indexing of papers is, to an increasing extent, becoming computerized from key words in the titles, it is important that titles should be as concise and informative as possible. Thus the animal species to which the observations refer should always be given and it is desirable to indicate the type of method on which the observations are based, e.g. chemical, bacteriological, electron-microscopic, histochemical, etc. A "running title" of not more than 40 letters and spaces must also be supplied. A keyword index must be supplied for each paper.

Structured abstract

The paper should be prefaced by an abstract aimed at giving the entire paper in miniature. Abstracts should be no longer than 250 words and should be structured as per the guidelines published in the Journal of the American Medical Association (JAMA 1995; 273: 27-34). In brief, the abstract should be divided into the following sections: (1) Objective; (2) Design - if clinical, to include setting, selection of patients, details on the intervention, outcome measures, etc.; if laboratory research, to include details on methods; (3) Results; (4) Conclusions.

Received/accepted dates

A received date will be added to all papers when they are received by the Accepting Editor. An accepted date will also be added when the papers are received at the publishing office.

Introduction

This should be a succinct statement of the problem investigated within the context of a brief review of the relevant literature. Literature directly relevant to any inferences or argument presented in the Discussion should in general be reserved for that section. The introduction may conclude with the reason for doing the work but should not state what was done nor the findings.

Materials and Methods

Enough detail must be given here so that another worker can repeat the procedures exactly. Where the materials and methods were exactly as in a previous paper, it is not necessary to repeat all the details but sufficient information must be given for the reader to comprehend what was done without having to consult the earlier work.

Authors are requested to make plain that the conditions of animal and human experimentation are as outlined in the "Ethics" and "Studies on Animals" sections above.

Results or Findings

These should be given clearly and concisely. Care should be taken to avoid drawing inferences that belong to the Discussion. Data may be presented in various forms such as histograms or tables but, in view of pressure on space, presentation of the same data in more than one form is unacceptable.

Statistical analysis

Authors should ensure that the presentation and statistical testing of data are appropriate and should seek the advice of a statistician if necessary. A number of common errors should be avoided, e.g.: -

- Use of parametric tests when non-parametric tests are required
- Inconsistencies between summary statistics and statistical tests such as giving means and standard deviations for data which were analysed with non-parametric tests.
- Multiple comparisons undertaken with multiple t tests or non-parametric equivalents rather than with analysis of variance (ANOVA) or non-parametric equivalents.
- Post hoc tests being used following an ANOVA which has yielded a non-significant result.
- Incomplete names for tests (e.g. stating "Student's t test" without qualifying it by stating "single sample", "paired" or "independent sample")
- N values being given in a way which obscures how many independent samples there were (e.g. stating simply $n=50$ when 10 samples/measurements were obtained from each of 5 animals/human subjects).
- Stating that $P=0.000$ (a figure which is generated by some computer packages). The correct statement (in this case) is $P<0.0005$.

Discussion

This section presents the inferences drawn from the Results: these should be recapitulated only sparingly, sufficient to make the argument clear.

References

All manuscripts should use the 'Vancouver' style for references, which should be numbered consecutively in the order in which they are first cited in the text and listed at the end of the paper.

For journal references, all authors should be included when there are six or fewer (first six followed by 'et al.' when seven or more), followed by the title of article, name of journal abbreviated according to [Index Medicus](#), or left in full, year, volume with part number in brackets, and first and last pages. For example:

1. Walsh NP, Montague JC, Callow N and Rowlands AV. Saliva flow rate, total protein concentration and osmolality as potential markers of whole body hydration status during progressive acute dehydration in humans. Arch Oral Biol 2004;49(2):149-154.

For book references, the author(s) should be followed by the chapter title (if appropriate), editor(s) (if applicable), book title, place of publication, publisher, year and page numbers. For example:

Nanci A. Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure and Function. 6th ed. St. Louis: Mosby; 2003.

Papers in the course of publication should only be entered in the references if the paper has been accepted by a journal, and then given in the standard manner in the text and list of references but with the words "In press" following the name of the journal.

Units and symbols

In general, *Archives of Oral Biology* will use the recommended SI (Système Internationale) units and symbols. The use of the litre, usually better written in full, in place of SI dm³ and ml³ in place of SI cm, will continue to be accepted. For details of the SI symbols, authors are referred to: Symbols, Signs and Abbreviations (1969) by the Royal Society of Metric and Decimal Systems in Council of Biology

Abbreviations

As *Archives of Oral Biology* is a journal with a multidisciplinary readership, abbreviations, except those universally understood such as mm, g, min. u.v., w/v and those listed below, should be avoided if possible. Examples of abbreviations which may be used without definition: ADP, AMP, ATP, DEAE-cellulose, DNA, RNA, EDTA, EMG, tris.

Other abbreviations used to improve legibility should be listed as a footnote on the title page. Chemical symbols may be used for elements, groups and simple compounds, but excessive use should be avoided. Abbreviations other than the above should not be used in titles.

Bacterial nomenclature

Organisms should be referred to by their scientific names according to the binomial system. When first mentioned the name should be spelt in full and in italics. Afterwards the genus should be abbreviated to its initial letter, e.g. '*S. aureus*' not '*Staph. aureus*'. If abbreviation is likely to cause confusion or render the intended meaning unclear, the names of microbes should be spelt in full. Only those names which were included in the Approved List of Bacterial Names, *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 225-420 and those which have been validly published in the *Int J Syst Bacteriol* since 1 January 1980 have standing in nomenclature. If there is good reason to use a name that does not have standing in nomenclature, the names should be enclosed in quotation marks and an appropriate statement concerning the nomenclatural status of the name should be made in the text (for an example see *Int J Syst Bacteriol* 1980; 30: 547-556). When the genus alone is used as a noun or adjective, use lower case Roman not italic, e.g. 'organisms were staphylococci' and 'streptococcal infection'. If the genus is specifically referred to use italics e.g. 'organisms of the genus *Staphylococcus*'. For genus in plural, use lower case roman e.g. 'salmonellae'; plurals may be anglicized e.g. 'salmonellas'. For trivial names, use lower case Roman e.g. 'meningococcus'.

Numbers, measurements and statistics.

Numbers one to nine are spelled out unless they are measurements (e.g. 5 ml). Numbers greater than nine are spelled out if they begin a sentence, or when clarity requires it. Numbers above and including 10 000 have a space, not a comma. A decimal point is preceded by a number or cypher e.g. '0.5'. Decimal points in columns should be aligned vertically. Dates are usually provided in full: 14 April 1949. Measurements may be expressed in SI or non-metric units. Use 10 ml/h rather than ml.h⁻¹ or ml per h.

Drugs

These should be referred to by their approved and not proprietary names; for guidance, see the British National Formulary. Where it is desirable to indicate a particular brand of preparation, the proprietary name and source should be given in parentheses after the proper name, e.g. testicular hyaluronidase (Testovase, Bovine Enterprises Ltd, London, UK).

Illustrations

In the initial online submission and review stage, authors are required to provide electronic versions of their illustrations. When an article has been accepted, authors must be prepared to provide all illustrations in electronic and camera-ready format, (suitable for reproduction, which may include reduction, without retouching). The Artwork Quality Control Tool is now available to users of the online submission system. To help authors submit high-quality artwork early in the process, this tool checks the submitted artwork and other file types against the artwork requirements outlined in the Artwork Instructions to Authors on www.elsevier.com/artworkinstructions. The Artwork Quality Control Tool automatically checks all artwork files when they are first uploaded. Each figure/file is checked only once, so further along in the process only new uploaded files will be checked.

General: Information relating to the preferred formats for artwork and illustrations may be found at www.elsevier.com/authors. Photographs, charts and diagrams are all to be referred to as "Figure(s)" and should be numbered consecutively in the order to which they are referred. They should accompany the manuscript, but

should not be included within the text. All figures are to have a caption. Captions should be supplied on a separate page.

Line drawings: All lettering, graph lines and points on graphs should be sufficiently large and bold to permit reproduction when the diagram has been reduced to a size suitable for inclusion in the journal. Dye-line prints or photocopies are not suitable for reproduction. Do not use any type of shading on computer-generated illustrations.

Photographs: Original photographs must be supplied as they are to be reproduced (e.g. black and white or colour). If necessary, a scale should be marked on the photograph. Please note that photocopies of photographs are not acceptable.

Colour: Certain illustrations will be approved for publication in colour but only if, in the opinion of the Editors, the figures convey information not apparent in monochrome. Please note that figures supplied in colour will appear online in colour at no extra charge, even if the print version is monochrome.

Tables: Tables should be numbered consecutively and given a suitable caption. Begin each table on a separate page. Footnotes to tables should be typed below the table and referred to by superscript lowercase letters. No vertical rules should be used. Tables should not duplicate results presented elsewhere in the manuscript (e.g. in graphs).

Revised manuscripts

Frequently authors are required to submit revised versions of manuscripts in the light of reports from expert reviewers and editorial comments. Revised manuscripts must clearly show revisions and authors must clearly indicate the positions of revisions in a covering letter that addresses the concerns of reviewers/ editors.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author which they are requested to correct and return within **48 hours**. Only minor corrections are acceptable at this stage. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. If we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post. Elsevier now sends PDF proofs that can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>. If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting the line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be sent to the corresponding author.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Author enquiries

For enquiries relating to the submission of articles please visit www.elsevier.com/authors. This website provides information on article submission as well as detailed artwork guidelines, copyright information, frequently asked

questions and more. Further questions may be directed to the journal editorial office: *Archives of Oral Biology*, Elsevier Ltd, Bampfylde Street, Exeter, EX1 2AH, UK. Email: aob@elsevier.com