



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

ROBERTO CARLOS MOURÃO PINHO

**POLIMORFISMO NOS GENES DA β -DEFENSINA-1, VDR E
DC-SIGN EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA
COM E SEM DIABETES TIPO 2, ESTUDO CASO-
CONTROLE.**

Recife/PE
2017

ROBERTO CARLOS MOURÃO PINHO

**POLIMORFISMO NOS GENES DA β -DEFENSINA-1, VDR E
DC-SIGN EM INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA
COM E SEM DIABETES TIPO 2, ESTUDO CASO-
CONTROLE.**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof^a. Dr^a Renata Cimões Jovino Silveira.

Co-orientadores:

Prof. Dr. Francisco Alfredo Bandeira e Farias.

Prof. Dr. Ronaldo Celerino da Silva

Recife/PE
2017

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

P654p Pinho, Roberto Carlos Mourão.
Polimorfismo nos genes da β -Defensina-1, VDR e DC-sign em indivíduos com periodontite crônica com e sem diabetes tipo 2, estudo caso-controle / Roberto Carlos Mourão Pinho. – 2017.
211 f.: il.; 30 cm.

Orientadora: Renata Cimões Jovino Silveira.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2017.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Diabetes mellitus tipo 2. 2. Periodontite crônica. 3. Genética. 4. Biologia molecular. I. Silveira, Renata Cimões Jovino (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2017-312)

ROBERTO CARLOS MOURÃO PINHO

**POLIMORFISMO NOS GENES DA β -DEFENSINA-1, VDR E DC-SIGN EM
INDIVÍDUOS COM PERIODONTITE CRÔNICA COM E SEM DIABETES TIPO 2,
ESTUDO CASO- CONTROLE.**

Orientadora: Prof^a Dr^a RENATA CIMÕES JOVINO SILVEIRA

Aprovado em 26 de outubro de 2017

Banca examinadora

5^o

Prof^a Dr^a RENATA CIMÕES JOVINO SILVEIRA
Universidade Federal de Pernambuco
(Examinador Interno)

4^o

Prof^o Dr^a ANDREA DOS ANJOS PONTUAL
Universidade Federal de Pernambuco
(Examinador Interno)

3^o

Prof Dr. ANDRÉ VAJGEL FERNANDES
Universidade Federal de Pernambuco
(Examinador Externo)

2^o

Prof Dr. PAULO ROBERTO ELEUTERIO DE SOUZA
Universidade Federal Rural de Pernambuco
(Examinador Externo)

1^o

NIKOS DONOS
Queen Mary University of London
(Examinador Externo)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof.. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Profa. Dra. Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA

Vânia Pinheiro Ramos

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque Tavares Carvalho

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

DOUTORADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho (Coordenadora)

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira (Vice coordenadora)

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof.. Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Profa. Dra. Andrea Cruz Câmara

Profa. Dra. Andrea dos Anjos Pontual

Profa. Dra. Bruna de Carvalho Farias Vajgel

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa. Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof. Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

A meu pai, João Batista Braga de Pinho (*In memoriam*) e minha mãe, Francisca Mourão Pinho, meus tesouros e fonte de tudo o que sou, dedico a vocês, toda minha eterna gratidão e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Divino Pai Eterno por sempre estar no comando de todos os meus passos.

A minha amada família, que sempre me apoiou em todos os momentos, e de modo especial ao meu pai João Batista Braga de Pinho (*In memoriam*) e minha mãe Francisca Mourão Pinho, meus tesouros. Aos meus pais, toda a minha gratidão pelo carinho, amor e por sempre me ensinar os caminhos da honestidade e humildade, e por sempre me acolher e confortar nos momentos mais difíceis. Tenho orgulho de ser seu filho.

A minha Orientadora Prof Dr^a Renata Cimões, obrigado pela confiança depositada e também pela paciência, compreensão, generosidade e amizade. Gratidão pelas oportunidades a mim oferecidas. À melhor orientadora do mundo, meus agradecimentos, por sempre estar presente em todas as ocasiões e por sempre estimular e me conduzir pelo melhor caminho. Minha fonte de inspiração profissional, com sua empatia contagiante e profissionalismo, tornou essa jornada profícua e mais feliz. Deus a cubra de bênçãos.

Aos meus Co-Orientadores Prof Dr Francisco Bandeira e Prof Dr. Ronaldo Celerino, muito obrigado pela generosidade, ensinamentos e pela contribuição na realização deste trabalho.

Aos amigos, Prof Dr. Arnaldo Caldas de França Júnior, Prof Dr^a Marcia Maria Vendiciano Barbosa Vasconcelos, Prof Dr André Cavalcante da Silva Barbosa, essenciais, completos e repletos de sabedoria e de uma palavra de estímulo, conforto e de bondade. Obrigado por me fazer um profissional melhor e por me permitirem estar do lado de todos vocês e de receber sempre atos de cooperação, de amizade e de consideração. Educadores excelentes e profissionais exemplares, fonte de inspiração. Muito grato. Deus os abençoe.

Aos amigos Erinaldo Damasceno dos Santos, Rayanne Soraya Melo Aguiar Dias. Obrigado por desfrutar da sua ajuda, companhia, generosidade e amizade.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para esse momento:

Maria de Jesus Mourão Costa (*In memoriam*), Clarissa Mourão Pinho, Ann Shirley Mourão Pinho, Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho, Prof Dr. Jair Carneiro Leão, Prof Dr Sérgio Crovela, Dr^a Marcela Valones, Prof Dr Ricardo Eugênio Varela Ayres de Melo, Prof Dr Paulo Roberto Eleotério de Souza, Jessica Kalinne Farias Rodrigues, Maria de Fátima Iago Perruci, Oziclere Sena, Tânia Maria de Souza Esteves, Tamires Cibelly Correia de Oliveira, Aluizio do Rego Barreto, Gabriela Luna.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa, meu respeito e sinceros agradecimentos.

*TOTTUS TUUS EGO SUM MARIAE
ET OMNIA MEA TUA SUNT*

RESUMO

O Diabetes Mellitus 2 (DM2), e a Periodontite Crônica (PC), apresentam uma íntima relação bidirecional, O gene da Beta Defensina 1 (*DEFB1*), e o gene do *DC-SIGN* têm sido ligados a enfermidades infecciosas e autoimunes, enquanto o gene do Receptor da Vitamina D (*VDR*) está associado no metabolismo ósseo, todos envolvidos na condição crônica da Periodontite. Este foi composto por uma etapa clínica e outra laboratorial, com avaliações clínicas dos indivíduos, assim como a coleta de material biológico, com o objetivo de estudar os polimorfismos da *DEFB1*, do *VDR*, do *DC-SIGN*, através da reação de polimerase em cadeia em tempo real, e a sua provável associação com a PC em indivíduos diabéticos e em não diabéticos, e envolveu uma amostra de 280 indivíduos, sendo 116 com DM2 e PC, 95 com PC e 69 indivíduos no grupo controle. Os resultados para a população pesquisada apontam que as variações genéticas de *DEFB1* (SNP -20: alelo G e genótipos GA e GG) podem estar associadas com uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de PC, em indivíduos diabéticos tipo 2 e não diabéticos. Dos haplótipos formados por SNPs na 5'UTR de *DEFB-1* (GCG e ACG), pelo menos dois também podem estar implicados com o aumento dessa susceptibilidade. O genótipo GG do SNP rs4804803 (-336) do *DC-SIGN* apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos diabéticos x controle saudáveis ($p=0,028$), portanto uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos portadores de DM2 relacionada ao genótipo GG (rs4804803) de *DC-SIGN*. Para o SNP do *VDR* rs 4516035(GATA) T/C, o alelo C foi mais frequente entre indivíduos DM2 + PC e naqueles apenas com PC, o genótipo CC foi mais frequente entre indivíduos DM2+PC e também no grupo PC, sugerindo uma associação desses genótipos com a proteção à PC, em indivíduos com e sem DM2.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 2. Periodontite crônica. Genética. Biologia Molecular.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus 2 (DM2) and Chronic Periodontitis (PC) have an intimate bidirectional relationship. The Beta Defensin 1 gene (DEFB1) and the DC-SIGN gene have been linked to infectious and autoimmune diseases, while the Vitamin D Receptor (VDR) gene is associated in bone metabolism, all involved in the chronic condition of Periodontitis. This was composed of a clinical and a laboratory stage, with clinical evaluations of the individuals, as well as the collection of biological material, with the objective of studying the polymorphisms of DEFB1, VDR, DC-SIGN, through polymerase chain reaction in real time, and its probable association with CP in diabetic and non-diabetic individuals, and involved a sample of 280 individuals, of whom 116 with DM2 and PC, 95 with PC and 69 individuals in the control group. The results for the population studied indicate that the genetic variations of DEFB1 (SNP -20: G allele and GA and GG genotypes) may be associated with a greater susceptibility to PC development in type 2 and non-diabetic subjects. Of the haplotypes formed by SNPs in the 5'UTR of DEFB-1 (GCG and ACG), at least two may also be implicated in increasing this susceptibility. The genotype GG of SNP rs4804803 (-336) of DC-SIGN presented a statistically significant difference between healthy diabetic x control groups ($p = 0.028$), therefore a lower susceptibility to PC development in individuals with DM2 related to GG genotype (rs4804803) of DC-SIGN. . For the VDR SNP 4516035 (GATA) T / C, the C allele was more frequent among DM2 + PC individuals and in those with PC alone. CC genotype was more frequent among DM2 + PC individuals and also in the PC group, suggesting an association of these genotypes with PC protection in individuals with and without DM2

Key words: Diabetes Mellitus type 2. Chronic Periodontitis. Genetics. Molecular Biology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Relação dos SNPs estudados nos genes <i>DEFB-1</i> , <i>VDR</i> e <i>DC-SIGN</i>	29
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAP	Associação Americana de Periodontia
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CEU	Utah residents with northern and western European ancestry (Residentes de Utah com descendência do norte e ocidente europeus)
CNS	Conselho Nacional de Saúde
<i>DEFB1</i>	Gene da beta defensina-1
VDR	Receptor da Vitamina D
FOK1	Enzima de restrição endonuclease do <i>Flavobacterium okeanokoites</i>
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
CDX2	Gene CDX2
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucléico)
HAM	Hospital Agamenon Magalhães
hBD-1	human Beta defensina-1 (β -defensina humana- 1)

HIV+	Soropositivo para o Vírus da Imunodeficiência Humana
LIKA	Laboratório de Imunologia Keizo Asami
MAF	Minim Allele Frequency (Frequência alélica mínima)
NCBI	National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Informações Biotecnológicas)
NIC	Nível de inserção clínica
PC	Periodontite Crônica
PCR	Polymerase Chain Reation (Reação em Cadeia da polimerase)
PPV	Presença de placa visível
PS	Profundidade de sondagem
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Polimorfismo de único nucleotídeo)
SS	Sangramento à sondagem
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UTR	Untranslated region (Região não traduzida)
YRI	Yoruba residents in Ibadan, Nigeria (Yoruba residentes em Ibadan, Nigéria)

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....	15
2 INTRODUÇÃO	16
2.1 Periodontite crônica.....	16
2.2 Diabetes Mellitus.....	17
2.3 Variabilidade Genética	19
2.3.1 Beta Defensina Humana 1 (hBD1).....	20
2.3.2 DC-SIGN.....	21
2.3.3 Receptor de vitamina D (VDR).....	22
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
3 METODOLOGIA	24
3.1 Considerações éticas.....	24
3.2 População alvo e desenho do estudo.....	24
3.3 Tamanho amostral, recrutamento dos indivíduos participantes e diagnóstico da periodontite.....	25
3.4 Instrumento de pesquisa.....	26
3.4.1 Entrevista.....	26
3.4.2 Exame clínico.....	27
3.4.3 Coleta de material biológico e isolamento do DNA.....	27
3.4.4 Seleção dos SNPs e genotipagem por PCR em tempo real.....	27
3.5 Análise de dados.....	29
4 RESULTADOS	31
4.1 Artigo científico 1.....	31
4.2 Artigo científico 2.....	48
4.3 Artigo científico 3.....	69
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90

REFERÊNCIAS	91
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	111
APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA	114
ANEXO A – QUALIDADE DE VIDA/OHIP-14.....	117
ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	118
ANEXO C – NORMAS DA REVISTA International Journal of Oral Science.....	127
ANEXO D–NORMAS DA REVISTA Scientific Reports.....	140
ANEXO E – NORMAS DA REVISTA Journal of Dentistry.....	155
ANEXO F – ARTIGO PUBLICADO	174
ANEXO G – ARTIGO PUBLICADO	175
ANEXO H – ARTIGO PUBLICADO	176
ANEXO I – ARTIGO PUBLICADO	177
ANEXO J – ARTIGO PUBLICADO.....	178
ANEXO L- ARTIGO PUBLICADO.....	179
ANEXO M- ARTIGO PUBLICADO.....	180
ANEXO N - ARTIGO SUBMETIDO 1	181
ANEXO O – ARTIGO SUBMETIDO 2.....	182
ANEXO P – ARTIGO SUBMETIDO 3	183
ANEXO Q – ARTIGO SUBMETIDO 4	184
ANEXO R – ARTIGO SUBMETIDO 5	185
ANEXO S- ARTIGO ACEITO AGUARDANDO PUBLICAÇÃO.....	186
ANEXO T – ARTIGO A SER SUBMETIDO.....	187
ANEXO U - RELATÓRIO.....	210

1 APRESENTAÇÃO

O Diabetes Mellitus 2 (DM2) e a Periodontite Crônica (PC) apresentam uma íntima relação bidirecional ocasionando comprometimentos físicos e psicossociais, destacando-se como um problema de saúde pública. Devido a sua complexa evolução e etiologia, inúmeras pesquisas acerca do papel de variações genéticas em genes da imunidade inata relacionados com a DM2 e a PC tem sido conduzidas. Polimorfismos em genes como *DEFB1* e *DC-SIGN* têm sido investigados e associados a enfermidades infecciosas e a doenças autoimunes, enquanto que variantes no gene *VDR* tem sido relacionado com os mecanismos que interferem no metabolismo ósseo na densidade mineral, além da imunoregulação, todos envolvidos em uma provável condição crônica da Periodontite.

A análise dos polimorfismos genéticos tem como objetivo a identificação da predisposição genética à doença periodontal. Estes polimorfismos genéticos podem ocorrer em regiões codificantes e/ou regulatórias do gene, o que podem ocasionar modificações quantitativas ou qualitativas da proteína e assim, promover alterações no sistema imune.

Esta tese foi estruturada sob a forma de artigos científicos a serem enviados aos periódicos **International Journal of Oral Science / Qualis A2 (Artigo 1)**, **Journal of Dentistry / Qualis A1 (Artigo 2)** e **Scientific Reports/ Qualis A1 (Artigo 3)**. Procurou-se neste estudo analisar em uma amostra da população de Pernambuco, a distribuição de polimorfismos genéticos nos genes *DEFB1*, *DC-SIGN* e *VDR* em indivíduos com DM2 e PC, em indivíduos com apenas PC e em indivíduos saudáveis (sem DM e PC) e suas relações com o desenvolvimento da PC, com as variáveis clínicas e qualidade de vida. Para isso, utilizou-se um estudo do tipo caso-controle composto por uma metodologia já estabelecida cientificamente.

2 INTRODUÇÃO

2.1 Periodontite

A periodontite é uma doença inflamatória e infecciosa, de caráter multifatorial, que afeta o periodonto (DI BENEDETTO et al., 2013), causada por uma resposta imune prejudicada contra bactérias orais (AGRALI; KURU, 2015; ZUPIN et al., 2017), causando danos tanto no tecido conectivo, quanto no tecido ósseo (CHEN; ZHANG; WANG, 2016), sendo considerada a principal causa de perda dentária em adultos acima de 40 anos (SCHAEFER et al., 2010).

Adicionalmente, é considerada como uma das doenças inflamatórias mais comuns presentes na população mundial (ALBANDAR; RAMS, 2002), apresentando duas formas principais: a periodontite agressiva e a periodontite crônica (PC) (ARMITAGE, 1999), esta última, considerada a forma mais comum da doença, com taxas de prevalência superiores a 90% para adultos acima de 60 anos (SCHAEFER et al., 2010).

A PC ocorre quando há uma exposição longa aos patógenos periodontais (ALNAEELI; PENNINGER; TENG, 2006; LAINE; LOOS; CRIELAARD, 2010; LAINE; CRIELAARD; LOOS, 2012), resultante do acúmulo de biofilme dental, com consequente dano lento e progressivo às estruturas de suporte dos dentes, que clinicamente está caracterizada pela formação de bolsa, eritema e edema gengival, sangramento gengival, recessão gengival, mobilidade dos dentes, supuração da bolsa (PRESHAW et al., 2012), e ainda odor fétido (ELANGOVAN et al., 2014). Entretanto, outros fatores de risco como o tabagismo, diabetes, estresse, medicamentos e nutrição estão envolvidos no início da inflamação gengival (VAN DYKE; SHEILESH, 2005).

Na verdade, os fatores derivados de bactérias estimulam uma reação inflamatória local e a ativação do sistema imunológico (DI BENEDETTO et al., 2013). A participação do sistema imunológico de um hospedeiro mamífero na resposta frente a agentes patogênicos microbianos envolve a ativação de ambos os componentes, tanto o inato, quanto o adaptativo (SAMI A. ZELKHA; ROBERT W. FREILICH; SALOMON AMAR, 2010).

A resposta imune inata constitui um sistema homeostático (NORA SILVA et al., 2015), e corresponde a primeira linha de defesa do organismo (SHELDON; OWENS; TURNER, 2017), enquanto que a imunidade adquirida é uma resposta mais demorada e

mais específica (BORONAT-CATALÁ; CATALÁ-PIZARRO; BAGÁN SEBASTIÁN, 2014)

Embora o fator microbiano seja necessário para o desenvolvimento da periodontite, alguns estudos epidemiológicos revelaram que os indivíduos muitas vezes não são igualmente susceptíveis a doença (VAN DER VELDEN et al., 2006), e que grande parte da destruição tecidual é decorrente de alterações mediadas pelo sistema imunológico do indivíduo (WILLIAMS, 1990; MESA et al., 2014). Falhas na homeostase dos tecidos (CEKICI et al., 2014), isto é, uma resposta imune oral alterada contra a microflora oral residente (LISTGARTEN, 1976; MOORE; MOORE, 1994), podem levar à perda dentária (PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHNSON, 2005), sendo considerada como um fator de risco para algumas doenças sistêmicas (MEALEY; OATES, 2006), dentre elas, o diabetes mellitus (DM).

Em indivíduos diabéticos, a susceptibilidade para a periodontite está aumentada em três vezes (MEALEY; OCAMPO, 2007). Consequentemente a periodontite crônica é considerada a sexta complicação clássica do diabetes (LÖE, 1993; SAINI; SAINI; SUGANDHA, 2011). Além disso, as variabilidades observadas na susceptibilidade à periodontite entre populações de diferentes origens ancestrais sugerem um papel importante para o genoma do hospedeiro na patogênese da doença (LOOS; JOHN; LAINE, 2005; DOSSEVA-PANOVA; MLACHKOVA; POPOVA, 2015)

2.2 O Diabetes Mellitus

O Diabetes Mellitus é uma doença crônica, considerada mundialmente importante pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (SMYTH; HERON, 2006). Trata-se de um distúrbio metabólico de múltiplas etiologias, caracterizada por hiperglicemia crônica com comprometimento do metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, resultado de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina ou de ambos (NEGRATO; TARZIA, 2010).

É considerada uma das maiores emergências de saúde global do século. Pelo menos 415 milhões de adultos têm diabetes e 318 milhões de adultos possuem tolerância à glicose diminuída, colocando-os em alto risco de desenvolver a doença no futuro. Para o ano de 2040, estima-se que cerca 642 milhões de pessoas tenham diabetes, estando o

diabetes classificado como diabetes gestacional, diabetes mellitus tipo 1 e diabetes mellitus tipo 2 (IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION DIABETES, 2015). A morbidade e mortalidade associados à diabetes são substanciais, causando um grande impacto sobre a saúde e a economia mundial (ALGHODAIER et al., 2017). O diabetes mellitus é classificado, de acordo com a sua etiologia em diabetes gestacional, diabetes mellitus tipo 1 e diabetes mellitus tipo 2 (IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION DIABETES, 2015).

A periodontite e o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) são problemas de saúde importantes, especialmente em populações de baixa renda com pouco acesso à assistência odontológica (LÓPEZ et al., 2014). São doenças crônicas, e evidências epidemiológicas apontam uma relação bidirecional entre as duas, ou seja, uma influenciando a outra (PARASCHIV et al., 2014). O diabetes é, então, um fator de risco para a destruição periodontal (NEGRATO et al., 2013). Adicionalmente, o controle da periodontite também poder contribuir para a melhoria do controle glicêmico, pois os tecidos orais mais comumente afetados na diabetes são os tecidos periodontais (GANDARA; MORTON, 2011). O estado de hiperglicemia pode alterar diretamente as composições microbianas sub-gengivais, prejudicar a função celular, alterar o metabolismo do colágeno (CHANG; LIM, 2012), e também promover alterações vasculares (PANENI et al., 2013; DAL et al., 2014).

Em geral, a infecção bacteriana na periodontite não difere entre indivíduos não diabéticos e aqueles com DM2. Contudo, a resposta imune a infecção periodontal difere nos indivíduos com DM2, pois estes não desenvolvem anticorpos para os patógenos associados com a periodontite (EBERSOLE et al., 2008).

A presença de níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias em indivíduos com diabetes tipo 2, causada pela periodontite, pode agravar as respostas inflamatórias em outros órgãos comumente afetados (FRIEDEWALD et al., 2009; PERSSON, 2011). Assim, a periodontite pode proporcionar um caminho que explica o aumento da incidência de diabetes, bem como o aumento do risco de complicações (mortalidade cardiorenal) observada em indivíduos com periodontite (MASI et al., 2014). Em indivíduos que apresentem duas ou mais complicações, a doença periodontal possui uma taxa de 100%, provavelmente uma consequência do controle glicêmico insatisfatório (PARASCHIV et al., 2014).

2.3 Variabilidade Genética

A diversidade genética surge devido a mutações, e é importante para a adaptabilidade e sobrevivência da espécie. Quando uma variante é estável e está presente em > 1% de população, denomina-se de "polimorfismo" (SHAW, 2013).

Em contraste com as mutações que foram casualmente ligadas às doenças mendelianas, os polimorfismos genéticos geralmente estão diretamente associados com fenômenos multifatoriais (TARANNUM; FAIZUDDIN, 2012)

Os polimorfismos surgem como resultado de uma mutação. Os diferentes tipos de polimorfismos são tipicamente referidos pelo tipo de mutação que os criou. O tipo mais simples de polimorfismo resulta de uma única troca de base que substitui um nucleotídeo para outro, sendo denominado de polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) (SCHORK; FALLIN; LANCHBURY, 2000). Os SNPs são o tipo mais comum de variação genética em genomas humanos e ocorrem em média uma vez em cada 300 pares de bases (SHAW, 2013).

Esses fatores genéticos são conhecidos por influenciar as respostas inflamatórias e imunes na periodontite. À medida que o sistema imunológico desempenha um papel crucial na patogênese da periodontite, os pesquisadores se concentraram na identificação de polimorfismos genéticos em vários aspectos da imunidade. (TARANNUM; FAIZUDDIN, 2012)

A ocorrência de PC moderada e severa pode ser relacionada com a variabilidade genética dos indivíduos (DIVARIS et al., 2013; RHODIN et al., 2014). Para Zupin et al, (2017), a relação entre SNPs em genes da imunidade inata e a susceptibilidade ao risco de desenvolvimento de periodontite, pode ser considerado um processo chave para a iniciação da doença e seu agravamento. Diversos genes relacionados a imunidade inata tem sido relacionados com o desenvolvimento da PC, dentre os quais: *DEFB1* (LU et al., 2004), *VDR* (GUNES et al., 2008), entretanto são escassos os trabalhos associando a PC com o DC-SIGN.

2.3.1 Beta Defensina Humana 1 (hBD1).

A mucosa oral está normalmente protegida pela saliva em quantidade e qualidade. A saliva fornece lubrificação, limpeza e tamponamento de pH, além de proporcionar a agregação e eliminação de bactérias (GANDARA; MORTON, 2011). Adicionalmente, por conter peptídeos antimicrobianos, que são elementos imunes inatos, importantes na linha de defesa imunológica, e estão amplamente expressos em todos os sistemas vivos, incluindo o tecido epitelial de mamíferos (KIM et al., 2014).

O epitélio e as glândulas salivares menores na mucosa oral contribuem para a imunidade inata via histatinas e α e β defensinas (DALE; FREDERICKS, 2005). As defensinas, especialmente, são apontadas pela manutenção da saúde oral (ABIKO; NISHIMURA; KAKU, 2003). São peptídeos catiônicos ricos em cisteína e com uma atividade antimicrobiana de largo espectro (LOO et al., 2012), mas as funções específicas ainda não estão completamente esclarecidas (POLESELLO et al., 2017). A desregulação na produção da beta-defensina-1 (hBD-1) pode estar envolvida no desenvolvimento de patologias orais (KRISANAPRAKORNIK et al., 2000; DIAMOND; RYAN, 2011).

Existem 28 betas-defensinas humanas (DHOPLE; KRUKEMEYER; RAMAMOORTHY, 2006), porém, a expressão de apenas quatro betas-defensinas tem sido caracterizadas (SCHUTTE et al., 2002). A beta-defensina humana-1 (hBD-1), é codificada pelo gene *DEFB1*, localizado em um agrupamento no cromossomo 8 (8p23.1) (JUREVIC et al., 2003; LINZMEIER; GANZ, 2005b; MEHLOTRA et al., 2013).

As suas atividades funcionais vão além do sistema imunológico, fertilidade, cicatrização de feridas e envolvimento no câncer. Uma maneira inequívoca de investigar a função da beta-defensina é relacionar variações genéticas ao fenótipo (doença) (SEMPLE; DORIN, 2012). Ademais a expressão de hBD-1 em epitélios gengivais pode estar associada à saúde periodontal e ao desenvolvimento de doenças (LU et al., 2004). O papel dos polimorfismos genéticos no gene *DEFB1* na saúde oral ainda não são completamente entendidos (GREER; ZENOBIA; DARVEAU, 2013; POLESELLO et al., 2017), assim sendo, a análise de associação genética é uma boa alternativa que pode efetivamente explorar a relação entre os polimorfismos genéticos e a doença (XIE et al., 2014). A associação entre os polimorfismos da *DEFB1* e a PC, foi investigada em diferentes populações, com resultados distintos. Em chineses, foi relatada existir essa associação (TIAN et al., 2013), na população belga, resultados sugeriram a correlação

entre a expressão da DEFB1 e PC (VANKEERBERGHEN, 2005), essa associação não ocorreu em investigação semelhante realizada na população turca (ARSLAN et al, 2015), também não havendo essa associação em indivíduos HIV+ na população norte americana (MEHLOTRA et al, 2016), e nem na população branca norte americana (WOHLFAHRT et al, 2006), na população diabética do nordeste brasileiro, pesquisando o SNP -44, também não foi encontrada essa associação (CIMÕES et al, 2014).

2.3.2 DC-SIGN.

Faz parte ainda do sistema imune inato, as células dendríticas (DCs), que são células potentes de captura e apresentação de antígenos que desempenham um papel fundamental na iniciação e regulação da resposta imunitária adaptativa (EL-AWADY; ARCE; CUTLER, 2015). As DCs capturam os microorganismos que entram nos tecidos periféricos da mucosa e migram para os órgãos linfóides secundários, onde os apresentam em forma antigênica às células T em repouso e, assim, iniciam respostas imunes adaptativas (GEIJTENBEEK et al., 2000a), funcionando como uma ponte entre o sistema inato e adaptativo.

Essas células apresentam os seus próprios receptores, que são os receptores de lectina tipo C, em particular o DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) (JIN et al., 2014; LÉGER et al., 2016), que é uma lectina de tipo C altamente expressa em DCs presente nos tecidos da mucosa (GEIJTENBEEK et al., 2000a), ou no sangue periférico (CARRION et al., 2012).

O DC-SIGN foi originalmente descoberto na placenta humana como um receptor de lectina do tipo C para a proteína Gp120 do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (CURTIS; SCHARNOWSKE; WATSON, 1992), posteriormente, também foi identificado na superfície de DCs derivados de monócitos (GEIJTENBEEK et al., 2000a ; GEIJTENBEEK et al., 2000b). DC-SIGN humanas é codificada pelo gene pertencente à família *CD209*, localizado no cromossomo 19p13.2-3 (KHOO et al., 2008).

Apesar de ser uma molécula imune inata, a DC-SIGN atua nas respostas imune inata e também adaptativa. Esse receptor medeia o reconhecimento imunológico, adesão celular e a interação das DCs com o endotélio vascular. Portanto, DCSIGN desempenha um papel importante nos na modulação da resposta imune (CAI et al., 2016),

principalmente na resposta inflamatória e na ativação das células T (ZHOU et al., 2006; VENKATESAN; UPPOOR; NAIK, 2013), que podem estar aumentadas em seu número na PC (JOTWANI; CUTLER, 2003).

São conhecidas respostas imunológicas através do DC-SIGN, no reconhecimento de um grande número de patógenos importantes na saúde pública, como em viroses (WANG et al., 2011; CELERINO DA SILVA; SEGAT; CROVELLA, 2011; LIU et al., 2017), infecções parasitárias (CHEN et al., 2017), bacterioses (TAILLEUX et al., 2003) e fungos (QU et al., 2015).

SNPs em regiões regulatórias (promotor) de *DC-SIGN* tem sido relacionado com a modulação e alteração dos níveis expressionais e a susceptibilidade a inúmeras patologias. (WANG et al., 2011; ALAGARASU et al., 2013; DA SILVA et al., 2014). Algumas evidências apontam para o envolvimento de células dendríticas na doença periodontal em camundongos (FINGER STADLER et al, 2017). Na espécie humana foram sugeridos haver alterações dos processos dendríticos para essa condição (BODINEAU et al, 2007), onde o aumento do número de DC maduras em indivíduos idosos e com periodontite crônica poderiam compensar a deficiência de células T CD4⁺ (BODINEAU et al, 2009), entretanto são escassos os trabalhos associando os polimorfismos do gene *DC-SIGN* e PC.

2.3.3 Receptor de vitamina D (VDR).

A vitamina D engloba um grupo de moléculas derivadas do 7-deidrocolesterol (7-DHC) interligadas através de uma cascata de reações fotolíticas e enzimáticas que acontecem em células de diferentes tecidos. Sob essa denominação ampla abrangem-se tanto o metabólito ativo (1 α ,25-diidroxi-vitamina D ou calcitriol) como seus precursores (entre eles a vitamina D₃ ou colecalciferol, vitamina D₂ ou ergosterol e a 25-hidroxivitamina D ou calcidiol) e os produtos de degradação, os quais ainda podem manter alguma atividade metabólica (BOUILLON; OKAMURA; NORMAN, 1995; NORMAN, 2008).

A vitamina D desempenha um papel importante no metabolismo muscular e esquelético, incluindo a absorção de cálcio e a perda óssea, também foi apontada por desempenhar um papel importante em outras vias metabólicas, tais como a resposta

imunológica e no câncer (HAUSSLER et al., 1998), por isso, a deficiência de vitamina D pode colocar os indivíduos em risco não só para a diminuição da densidade mineral, mas também em doenças inflamatórias crônicas (BALDINI et al., 2013; MARTELLI et al., 2014) e na doença periodontal (HOLICK, 2004; ANAND; CHANDRASEKARAN; RAJPUT, 2013).

Os efeitos biológicos da $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ são mediados pelo receptor de vitamina D (VDR), que é um fator de transcrição que pertence a superfamília dos receptores nucleares de hormônios esteroides (PENG et al., 2017). O VDR é expresso em quase todas as células humanas e parece participar, de maneira direta ou indireta, da regulação de cerca de 3% do genoma humano (BOUILLON et al., 2008).

O VDR pode estar relacionado com a presença de efeitos profundos sobre o metabolismo mineral e a densidade mineral óssea (LIN et al., 1996; MALLOY et al., 1997; SUN et al., 2002). A ativação do receptor de vitamina D pelo hormônio biologicamente ativo 1,25-dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) promove a diferenciação dos osteoblastos resultando em maturação da matriz e mineralização (OWEN et al., 1991). O gene codificante do VDR está localizado no cromossomo 12q13.11, e inclui oito éxons codificadores de proteínas (2-9), seis éxons não traduzidos (1^a-1f) com splicing alternativo, oito íntrons e duas regiões promotoras. Os polimorfismos descritos no VDR estão presentes principalmente nas regiões promotoras próximas ao éxon 1, entre os éxons 2 e 9 e na região 3'UTR (PARK; NAM; CHOI, 2006; SILVA et al., 2013).

A região não traduzida do gene VDR inclui uma região de agrupamento de polimorfismos ligados nas posições de cortes para as enzimas de restrição: BsmI, ApaI, TaqI (MORRISON et al., 1994; FELDMAN, 1997; SUN et al., 2002), FokI (SAIJO et al., 1991; GROSS et al., 2010), Cdx2 (FANG et al., 2003) e GATA (TANTAWY et al., 2016). Se os polimorfismos do gene VDR influenciam o nível ou função do receptor VDR, essas variantes podem ter papéis na patogênese da doença periodontal e de doenças sistêmicas que afetam o tecido ósseo (GUNES et al., 2008). Portanto, variantes genéticas em áreas funcionalmente críticas do gene VDR pode influenciar o desenvolvimento de periodontite não só através dos efeitos da sua imunomodulação, mas também através de seus efeitos sobre a densidade mineral óssea (SUN et al., 2002; NAITO et al., 2007; LALROHLUI et al., 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar se há associação entre a condição periodontal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 e a presença de polimorfismos celulares para o receptor de vitamina D (VDR), Beta Defensina 1(DEFB1) e DC-SIGN, através de um estudo tipo caso-controle.

3.2 Objetivos específicos

Verificar a condição periodontal de pacientes diabéticos tipo 2; Detectar polimorfismos do VDR nas variantes FokI, CDX2 e GATA; Detectar polimorfismos da DEFB1 nas posições (-52), (-44) e (-20); Detectar polimorfismos do DC-SIGN na posição (-336).

4 METODOLOGIA

4.1 Considerações éticas.

Todos os métodos utilizados no presente trabalho foram apreciados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife/PE, e pelo CEP do Hospital Agamenon Magalhães, Recife/PE (HAM). Os números dos pareceres de aprovação do CEP/ CCS/ UFPE e CEP/ HAM foram respectivamente CAAE 1310208 e CAAE 1368830 (ANEXO A).

4.2 População alvo e desenho do estudo

A população estudada foi formada por indivíduos diagnosticados com DM2 e PC (grupo caso), indivíduos com PC (grupo caso) e indivíduos saudáveis para essas duas condições (grupo controle) atendidos no Ambulatório de Endocrinologia do HAM e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE. Todos os indivíduos envolvidos eram provenientes do Estado de Pernambuco.

Trata-se de um estudo caso-controle, composto por uma etapa clínica e outra laboratorial. As avaliações clínicas dos indivíduos, assim como a coleta de material biológico para análises genéticas, aconteceram no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife – PE, e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), de novembro/2015 a novembro/2016. A análise laboratorial aconteceu no Laboratório de Biologia Molecular da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE e no Setor de Biologia Molecular do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE, de março de 2016 a maio de 2017.

4.3 Tamanho amostral, recrutamento dos indivíduos participantes e diagnóstico da periodontite

A amostra aleatória não-probabilística, que totalizou 280 indivíduos, sendo 116 com DM2 e PC, 95 com PC e 69 indivíduos no grupo controle.

Os indivíduos participantes do estudo foram recrutados obedecendo os seguintes critérios de inclusão e exclusão pré-estabelecidos, conforme a seguir:

Grupo de indivíduos portadores de DM2+PC:

- ✓ Critérios de inclusão: ser portador de DM2 e ter o diagnóstico clínico de PC (“American Academy of Periodontology, 2015); ter, no mínimo, 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia) e idade mínima de 35 anos (CIMÕES et al., 2014).
- ✓ Critérios de exclusão: ter feito uso de antibióticos nos últimos 6 meses; fazer uso de anti-inflamatórios de forma crônica; apresentar condições que comprometam a imunidade sistêmica; estar grávida ou lactante; ter se submetido a tratamento periodontal nos últimos 6 meses; ser fumante e usar aparelho ortodôntico.

Grupo de indivíduos sem DM2 e portadores de PC

- ✓ Critérios de inclusão: ter o diagnóstico clínico de PC (“American Academy of Periodontology, 2015) ter, no mínimo, 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia) e idade mínima de 35 anos (CIMÕES et al., 2014).
- ✓ Critérios de exclusão: não ser portador de DM2; ter feito uso de antibióticos nos últimos 6 meses; fazer uso de anti-inflamatórios de forma crônica; apresentar

condições que comprometam a imunidade sistêmica; estar grávida ou lactante; ter se submetido a tratamento periodontal nos últimos 6 meses; ser fumante e usar aparelho ortodôntico.

Grupo de indivíduos saudáveis (controles)

- ✓ Critérios de inclusão: não ser portador de DM2 e nem PC, ter, no mínimo, 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia) e idade mínima de 35 anos.
- ✓ Critérios de exclusão: ter feito uso de antibióticos nos últimos 6 meses; fazer uso de anti-inflamatórios de forma crônica; apresentar condições que comprometam a imunidade sistêmica; estar grávida ou lactante; ter se submetido a tratamento periodontal nos últimos 6 meses; ser fumante; usar aparelho ortodôntico e ser portador de DM e PC.

A Periodontite crônica foi caracterizada pela presença de inflamação (sangramento à sondagem), aumento da profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, segundo a Associação Americana de Periodontia (American Academy of Periodontology, 2015), na qual o diagnóstico da doença baseia-se em parâmetros clínicos e radiográficos, onde nem sempre todos estarão presentes; classificando a PC em leve, moderada ou severa (quanto à severidade) e em localizada ou generalizada (quanto à extensão), entretanto, neste estudo, não utilizou-se o diagnóstico por imagem.

4.4 Instrumento de pesquisa.

4.4.1 Entrevista

Após explicação dos objetivos da pesquisa e aceite do indivíduo em participar, foi solicitado que o mesmo assinasse o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A). Antes de iniciar o exame clínico, foram registrados dados sobre a idade, sexo, renda e escolaridade, conforme ficha clínica (Apêndice B), e ainda a aplicação da entrevista do impacto da qualidade de vida- OHIP -14 (Apêndice C).

4.4.2 Exame clínico

Para cada indivíduo, foi preenchido um periograma (Apêndice B), no qual constaram dados sobre: presença de placa visível (PPV), profundidade de sondagem (PS),

sangramento à sondagem (SS), perda de inserção clínica (ou nível de inserção clínica – NIC), mobilidade e presença de envolvimento de furca. Para cada dente foram sondados seis sítios: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual. O exame foi realizado com luz artificial e usando odontoscópio e sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (Trinity®), além dos equipamentos de proteção individual (gorro, máscara, luvas, óculos, jaleco). Durante todo o processo, três examinadores e anotador calibrados fizeram os exames clínicos e o registro nas fichas dos indivíduos (valores de concordância Kappa 0,80) (BELLO et al., 2016).

4.4.3 Coleta de material biológico e isolamento do DNA

Após o exame clínico, foi realizada a coleta de células de descamação da mucosa com escovas do tipo cytobrush (Vagispec® – Jaguará do Sul, SC, Brasil) e coleta de saliva em tubos do tipo Falcon (15 ml) estéreis, solicitando ao indivíduo cuspir por três minutos (POLESELLO et al., 2015). O material coletado foi colocado em caixa térmica com gelo reciclável e conduzido para o Laboratório de Biologia Molecular do da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE, para armazenagem em freezer à temperatura de -20°, para posterior isolamento do material genético.

O isolamento do ácido desoxiribonucleíco (DNA) foi realizado utilizando o kit de purificação de DNA genômico da PROMEGA (Wizard®), seguindo o protocolo do fabricante para amostras de sangue. O material foi quantificado utilizando nanodrop (Thermo Fischer®), e mantido a -20° até a realização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real. Inicialmente foram isolados DNA das amostras de saliva e das células de descamação da mucosa, porém, a primeira apresentou concentrações superiores de material genético quando quantificadas e, portanto, foram selecionadas as amostras de saliva para a condução do estudo.

4.4.4 Seleção dos SNPs e genotipagem por PCR em tempo real

A seleção dos SNPs para o estudo foi baseada nos seguintes critérios: valores de MAF (Minim Allele Frequency), impacto funcional da variante e também de prévias associações das variantes com a periodontite, DM2 e/ou doenças inflamatórias em outras populações. Foram selecionadas variantes com valores de MAF superiores a 0,1 (10%) na população caucasiana (Utah Residents with Northern and Western European Ancestry - CEU) e africana (Yoruba in Ibadan, Nigeria -YRI), populações estas, que contribuíram para a formação da população brasileira. Os valores de MAF para os diferentes

polimorfismos na população, foram obtidos a partir de banco de dados públicos como: dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), HapMap (THE INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM, 2005) e 1000 genomes project (CONSORTIUM, 2015).

Para o gene *DEFB-1*, foram selecionados SNPs localizados na região 5'UTR, nas seguintes posições: -52 G>A (rs1799946), -44 C>G (rs1800972) e -20 G>A (rs11362) (ZANIN et al., 2012) (Tabela 1)

Quanto ao *VDR*, as variantes selecionadas foram: rs2228570 G/A (FOK1), localizado na região promotora codificante do cromossomo 12q13.1, na posição 4787912 (ZMUDA; CAULEY; FERRELL, 2000) (UITTERLINDEN et al., 2004); rs4516035 T/C (GATA), localizado na região regulatória 5' do cromossomo 12 na posição 47906043 (TANTAWY et al., 2016) e rs 11568820 C/T (CDX2), localizado na 5' região regulatória do cromossomo 12, posição 47908762 (PULITO et al., 2015) (Tabela 1).

Para o gene *DC-SIGN*, apenas o SNP rs4804803 A/G (-336) (SAINZ et al., 2012) foi selecionado, sendo o mesmo localizado na região promotora do gene, no cromossomo 19, posição 7747847 (Tabela 1).

A genotipagem foi realizada por PCR em tempo real utilizando sondas alelo específicas (TaqMan®) (Tabela 1) e o termociclador ABI 7500 (Applied Biosystems®) (SEGAT et al., 2010). Para detecção dos genótipos de cada SNPs dos genes estudados, foi utilizada uma reação com volume total de 5 µl para cada variante, contendo aproximadamente 1µl de DNA molde por reação (com concentração de 25ng/µl), 1.25µl de água, 2.5µl do TaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems®) e 0.25µl de cada sonda diluídas a 20x (Applied Biosystems®). Foi incluído um controle negativo (água) em cada análise e o termociclador foi programado para realizar 50 ciclos.

Quadro 1. Relação dos SNPs estudados nos genes *DEFB-1*, *VDR* e *DC-SIGN*.

SNPs ID	Sequência das sondas [VIC/FAM]
<i>DEFB-1</i>	
rs1799946 (-52)	TTCAGGAACTGGGGAGACGCTGGCT[C/T]CTTTGGAGGCTGAGCTGACAGAGGC
rs1800972 (-44)	CCCAGGATTTTCAGGAACTGGGGAGA[C/G]GCTGGCTCCTTTGGAGGCTGAGCTG
rs11362 (-20)	TCTCATGGCGACTGGCAGGCAACAC[C/T]CAGGATTTTCAGGAACTGGGGAGACG
<i>VDR</i>	
rs2228570(FOKI)	GGAAGTGCTGGCCGCCATTGCCTCC[A/G]TCCCTGTAAGAACAGCAAGCAGGCC
rs4516035(GATA)	GATGACCTCCTTTAGCCAGGGAAGA[C/T]ATTGCTATTGCCTCTTACAGAGGA
rs11568820(CDX2)	ACCCATAATAAGAAATAAGTTTTTA[C/T]TGTGACCTAGTTTACTCAGGAATAT
<i>DC-SIGN</i>	
rs4804803(-336)	ACACCCCCTCCACTAGGGCAAGGGT[A/G]GGCAGGTAGCACCC

4.5 Análise de dados

As frequências alélicas e genotípicas, para cada SNP, foram calculadas por contagem direta utilizando o programa Genotype Transposer (COX; CANZIAN, 2001). A distribuição dos genótipos e sua aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada grupo e para cada SNP foi verificada através do teste Qui-Quadrado usando o programa R project (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013). O desequilíbrio de ligação entre os variantes e possíveis haplótipos foram estimados por meio do programa Haploview (BARRETT et al., 2005).

As possíveis associações entre os grupos e as frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas foram realizados através do teste Exato de Fisher, utilizando tabelas de contingência (Programa R project). O teste de independência da Razão de Verossimilhança foi aplicado para verificar associações com o genótipo quando não houve possibilidade de aplicar o teste Qui-quadrado de Pearson (IBM SPSS Statistics 20.0 trial version -IBM, Armonk, NY, EUA).

Para as análises, considerou-se o intervalo de confiança (IC) de 95% e os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Os dados foram digitados no Microsoft Excel. Além disso, o poder do estudo para cada SNP foi verificado através do software G*power 3.1.9.2 (FAUL et al., 2007).

Os dados de Profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), sangramento à sondagem e índice de placa foram expressos em média ($\pm$ Desvio-padrão) e distribuições de frequência categorizados e aplicados ao teste de independência da Razão de Verossimilhança para verificar associações com o genótipo, pois não foi possível aplicar o teste Qui-quadrado de Pearson. As associações entre severidade/extensão da periodontite nos diabéticos e genótipos com variáveis contínuas, tais como, renda e idade através do teste não paramétricos Mann-Whitney, pois os dados contínuos não seguiam uma distribuição normal; já para as variáveis discretas: sexo, hábito de fumar, escolaridade, SNPs (alelos e genótipos) utilizou-se o teste da razão de verossimilhança.

A análise multivariada foi composta pela regressão logística binária. Pelo teste de Omnibus, os modelos foram testados para se encontrar um bom ajustamento, e, com base no R^2 de Nagelkerke calculou-se o coeficiente de determinação do modelo. O teste de Hosmer-Lemeshow comparou os valores observados com os valores esperados. Também foi calculado o Odds Ratio (OR). O nível de significância adotado para cada variável independente entrar no modelo foi de 0,20

O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, $p\text{-valor} < 0,05$. O software utilizado foi o SPSS 20.0 e os dados foram digitados no Microsoft Excel

5. RESULTADOS

Artigo 1

DEFB1 Polymorphisms and Susceptibility to Development of Chronic Periodontitis in Diabetes Mellitus Type 2 Individuals

Dias, Rayanne Soraia Aguiar de Melo^a; Pinho, Roberto Carlos Mourão^b; Almeida, Felipe Rodrigues de^c; Bandeira, Francisco^d; Celerino da Silva, Ronaldo^e; Crovella, Sergio^f; Vajgel, Bruna de Carvalho Farias^g; Cimões, Renata^{h*}

^a *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: rayanne_melo1@hotmail.com*

^b *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: robertomouraopinho@gmail.com*

^c *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: almeidabiomed@gmail.com*

^d *Head of the Division of Diabetes and Endocrinology of the Agamenon Magalhães Hospital, Recife, Brazil, and Associate Professor and Professor of the Medical Sciences Faculty of the University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife, PE, 50020-280, Brazil. Email: fbandeira@gmail.com*

^e *Researcher at the Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA) at the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: ronaldocelerino@yahoo.com.br*

^f *Titular Professor of Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: crovelser@gmail.com*

^g *Adjunct Professor and permanent member of the Postgraduate in Dentistry of the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: bruna_farias@hotmail.com*

^{h*} *Associate Professor I and permanent member of the Postgraduate in Dentistry of the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: renata.cimoes@globo.com*

* Corresponding Author

ABSTRACT

Chronic Periodontitis (CP) is a destructive form of periodontal disease mediated by the immune-inflammatory response, being considered the sixth most frequent complication among individuals with Diabetes Mellitus type 2 (DM2). The present study evaluated the distribution of functional single nucleotide polymorphisms (SNPs) at the *DEFB1* 5'UTR region and its relation with the development of CP in DM2 individuals. A total of 280 individuals participated to the study, being 116 DM2+CP, 95 CP and 69 healthy individuals. Three known *DEFB1* functional polymorphisms were genotyped with allele-specific assays (TaqMan®): -52 G>A (rs1799946), -44 C>G (rs1800972) and -20 G>A (rs11362). We found an association for the *DEFB1* -20 G>A SNP. The G allele, the GA and GG genotypes were significantly ($p < 0.05$) more frequent in the DM2+CP (59.5%, 50% and 34.5%, respectively) and CP individuals (61%, 44.2% and 38.9%, respectively) than in healthy individuals (26.8%, 36.2% and 8.7%, respectively). These SNPs were in moderate linkage disequilibrium ($D' > 0.7$). We observed that GCG and ACG combinations (-52, -44, -20) were significantly more frequent among DM2+CP and CP individuals than in the healthy individuals. *DEFB1* rs11362 (-20) G>A SNP, GCG and ACG haplotypes were associated with susceptibility to the development of chronic periodontitis, in a Northeastern Brazilian population.

KEYWORDS: *DEFB1*, Chronic Periodontitis, Diabetes Mellitus Type 2, SNPs.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus type 2 (DM2) is a metabolic and multifactorial disease characterized by defects in the secretion and action of the insulin hormone leading to hyperglycemia. It is a disease with silent onset, being associated to environmental (diet, obesity and/or overweight, increase of the abdominal circumference) and genetic factors (1,2).

Chronic hyperglycemia can lead to deterioration, dysfunction and failure of various organs and tissues, including: eyes, kidneys, nerves, heart and blood vessels (1,2). Chronic periodontitis (CP) is one of the complications presented in DM2 individuals (3).

Periodontitis develops through an imbalance between the bacterial presence and the host's immune response, generating inflammation, connective tissue destruction and bone tissue remodeling (4). Periodontal disease is the most common, localized and inflammatory, dental disease caused by bacterial infection associated with dental plaque. It is linked with several pathological conditions, such as gingivitis, periodontal ligament degeneration, dental cementum and alveolar bone loss (5).

CP is a destructive form of periodontal disease, mediated by immune-inflammatory response, affecting approximately 50% of all adults and 60% of those 65 years of age or older (6). DM2 individuals, with poor glycemic control, are more likely to develop severe and generalized periodontitis (7). The prevalence of DM2 and CP is high and the association of these two conditions, one influencing the other, is recognized and documented (6–9).

A severe chronic systemic inflammation in DM2 individuals may be induced or perpetuated by CP, resulting in increased insulin resistance and ineffective glycemic control. The reduction of periodontal inflammation can restore insulin sensitivity and, consequently, better metabolic control (6,9). In this context, the host innate immunity components, such as antimicrobial peptides (defensins), are of great importance, playing a crucial role in the defense against pathogens (10).

Human β -defensins (hBDs) belong to a family of small peptides, encoded by the gene cluster located on 8p22-23 chromosome (11), with broad spectrum of antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, fungi and viruses. hBDs act on the innate immune response and also on signaling for the adaptive response (12).

At present 28 human β -defensins (hBDs) are known, however the expression have been demonstrated in only four of them (13), of which, β -defensin-1 (hBD-1) has been reported as constitutively expressed in the oral mucosa (14).

hBD-1 is an antimicrobial peptide responsible for maintaining a healthy state in the mucosal epithelia before infection with pathogenic bacteria (15). It is present in the defense epithelium of various tissues (12) and saliva (16), playing an important antimicrobial role in inflammation (17). Despite presenting constitutive expression, it has been reported that microbial pathogens and cytokines stimulate their expression in oral epithelial cells during inflammation (13).

Single nucleotide polymorphisms (SNPs), located at the 5'-untranslated (5'UTR) region of *DEFB1* at positions -52 G>A (rs1799946), -44 C>G (rs1800972) and -20 G>A (rs11362), are known to be related to the gene expression modulation and associated with some infectious and/or inflammatory diseases, such as periodontitis (18), human immunodeficiency virus type 1 infection (HIV-1) (19), increased levels of *Candida albicans* in the mouth (20), systemic lupus erythematosus (21) and inflammatory bowel diseases (22). Other studies did not obtain significant associations between these SNPs and susceptibility to tuberculosis (23), early-onset periodontitis (24) and chronic periodontitis in type 2 diabetics individuals (25).

In our study, we evaluated the distribution of *DEFB1* 5'UTR SNPs in DM2 individuals with CP, in individuals just affected by CP, as well as in healthy individuals, from Northeast Brazil aimed at disclosing a possible role of these genetic variations in the susceptibility to develop CP in DM2 individuals.

MATERIALS AND METHODS

Study population

The study population consisted of a random and non-probabilistic sample of individuals from the metropolitan region of Recife and small cities in the interior of the Pernambuco State, Northeastern of Brazil. Two hundred and eighty individuals were enrolled in this study (116 DM2 with CP, 95 CP and 69 healthy individuals (controls). The subjects were recruited at the Endocrinology Clinic of the “Hospital Agamenon Magalhães Hospital (HAM)” and at the Dentistry Post-Graduation Clinic of the Federal University of Pernambuco (UFPE).

The individuals were assessed and separated into three groups according to inclusion and exclusion criteria pre-established:

- ✓ Individuals Diabetes mellitus type 2 with chronic periodontitis (DM2+CP):

Inclusion criteria: DM2 individuals with clinical diagnosis of CP (26,27); with at least 8 natural teeth (excluding those with an indication of extraction) and a minimum age of 35 years.

Exclusion criteria: individuals that used antibiotics in the last 6 months and long term anti-inflammatory drugs; that presented conditions compromising systemic immunity (i.e: HIV-positive individuals, transplanted individuals, with autoimmune diseases and neoplasms); pregnant or breastfeeding; that have undergone periodontal treatment in the last 6 months; smokers and using orthodontic appliance.

- ✓ Chronic periodontitis' individuals (CP):

Inclusion criteria: Individuals with CP clinical diagnosis (26,27); with at least 8 natural teeth (excluding those with an indication of extraction) and a minimum age of 35 years.

Exclusion criteria: individuals with DM2 that used antibiotics in the last 6 months and long term anti-inflammatory drugs; that presented conditions compromising systemic immunity; pregnant or breastfeeding; that have undergone periodontal treatment in the last 6 months; smokers and using orthodontic appliance.

✓ Healthy Individuals (Healthy controls):

Inclusion criteria: Individuals without DM2 and CP, with at least 8 natural teeth (excluding those with an indication of extraction) and a minimum age of 35 years.

Exclusion criteria: DM2 and/or CP individuals that used antibiotics in the last 6 months and long term anti-inflammatory drugs; that presented conditions compromising systemic immunity; pregnant or breastfeeding; that have undergone periodontal treatment in the last 6 months; smokers and using orthodontic appliance.

For each individuals, a periogram was completed to identify inflammatory changes and periodontal destruction sites, which included data on: visible plaque index (28), bleeding index (28), depth probing (6 sites per tooth), loss of clinical insertion, mobility and the presence of furcation involvement.

The CP diagnosis was established according to the American Periodontic Association (26,27). Throughout the process, 3 (three) calibrated examiners and annotators performed the clinical exams and the individuals record (Kappa concordance values 0.80).

All the procedures used in the study were evaluated by the Research Ethics Committees of the Health Sciences Center of UFPE (nº1310208) and the HAM (nº1368830).

DNA isolation, selection of SNPs and genotyping

Saliva samples were collected in sterile tubes of conic (Falcon®) (15 ml), requiring the individuals to spit for 3 minutes; and stored in the freezer at -20 °C for subsequent DNA isolation (16). For DNA isolation, Wizard® genomic DNA purification kit (Promega) was used, following the manufacturer's protocol. The material was quantified using Nanodrop (Thermo Fischer®), and maintained at -20°C until genotyping.

The following *DEFB1* 5'UTR SNPs were chosen: -52 G> A (rs1799946), -44 C> G (rs1800972) and -20 G> A (rs11362), based on the impact of variants on gene expression and at minimal allelic frequencies equal to 10% (MAF=10) in

Utah residents with Northern and Western European ancestry (CEU) and Yoruba in Ibadan, Nigeria (YRI), being the study populations constituted by an admixture of European, African and Amerindian genomes (29). MAF verification was performed according to the NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) and 1000 genomes (30). All SNPs were genotyped by Real-time polymerase chain reaction using allele specific probes (TaqMan®) in ABI7500 platform (AppliedBiosystems®).

Statistical analysis

The allele and genotype frequencies for each SNP were calculated by direct counting using the Genotype Transposer program (31). Genotypes distribution and their adherence to Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE), for each group and SNP, was verified by Chi-Square test using the R program (32). The linkage disequilibrium between variants and possible haplotypes was estimated using the Haploview 4.2 program (33). The possible associations among the groups and the allelic, genotypic and haplotype frequencies were performed using Fisher's Exact test with contingency tables by the R program.

The likelihood ratio independence test was applied to verify associations with the genotype when there was no Pearson's Chi-square test by the IBM SPSS Statistics 20.0 trial version program (IBM, Armonk, NY, USA).

In all analyzes, the 95% confidence interval (CI) and p -value <0.05 values were considered as significant. Additionally, the study power for each SNP was verified using G*power software 3.1.9.2 (34).

RESULTS

Two hundred and eighty individuals were recruited for the study, of which 116 (41.4%) were DM2+CP, with a mean age of 58.5 ± 9.0 years (ranging from 38 to 80 years); 95 (33.9%) were CP, mean age 53 ± 9.6 years (ranging from 43 to 62 years); and 69 (24.6%) were healthy individuals, with a mean age of 49.6 ± 10.7 (ranging from 35 to 77 years). In all groups, female gender was predominant

(74.1% of DM2+CP, 80% of CP and 91.3% of healthy individuals). Table 1 shows the distribution of allelic and genotypic frequencies for the three *DEFB1* 5'UTR SNPs in our population. All SNPs studied were in HWE equilibrium in both groups, except the SNP rs1800972 (-44) in healthy individuals.

Significant differences were observed for the rs11362 (-20 G> A) SNP. The G allele was significantly more frequent in DM2+CP (59.5%) and CP individuals (61%) than in healthy individuals (26.8%) (OR = 3.99, 95% CI = 2.48-6.53, p-value= 1.12×10^{-9} and OR = 4.26, 95% CI = 2.59-7.10, p-value = 9.507×10^{-10} , respectively). Similarly, the GA and GG genotypes were significantly more frequent in DM2+CP (50.0% and 34.5%, respectively) and CP individuals (44.2% and 38.9%, respectively) than in healthy individuals (36.2% and 8.7%, respectively) (Table 1), suggesting an association with CP susceptibility in individuals with and without DM2. The remaining SNPs did not present significant differences between the analyzed subjects (Table 1).

SNPs at the *DEFB1* 5'UTR were found to be in moderate linkage disequilibrium ($D' > 0.7$), forming 8 haplotypes (Table 2). The GCG and ACG haplotypes were significantly more frequent in DM2+CP (28.0% and 23.3%, respectively) and CP individuals (31.1% and 17.4%, respectively), compared to healthy controls (15.2% and 6.5%, respectively), suggesting a possible association with CP susceptibility in individuals with and without DM2. The other haplotypes did not present significant differences (Table 2) within the groups enrolled.

Additionally, the genotypic distribution for rs11362 (-20 G> A) SNP among DM2+CP individuals was associated with severity (p-value= 0.021) and severity/extent of CP (p-value= 0.046) (Table 3). For the other SNPs no significant associations were observed in CP individuals (data not shown). In relation to the other CP clinical variables (depth probing, clinical insertion level, bleeding to probing and visible plaque index), no association with genotypic distribution was observed for the SNPs studied.

Finally, we estimated the power of the study for each SNP. We verified that the SNPs -52 (rs1799946) and -44 (rs1800972) presented a low power (0.18 and 0.22, respectively), while -20 (rs11362), presented a high power value (1.0).

DISCUSSION

Chronic periodontitis (CP) is a destructive form of periodontal disease caused by an imbalance between the bacterial and the host's immune response, leading to inflammation, connective tissue destruction and bone tissue remodeling. (3,4,6). hBD-1 could play an important role in this process, since it is responsible for maintaining of the mucosal epithelia health, acting in inflammation modulation (13,15).

In our study, we evaluated the functional *DEFB1* 5'UTR SNPs distribution and their relations with the development of CP in DM2 individuals from Pernambuco – Brazil and found that the “G” allele, “GA” and “GG” genotype of rs11362 SNP (-20), as well as “GCG” and “ACG” haplotypes (-52,-44,-20) were associated with susceptibility to develop CP in DM2 individuals as well as in CP without DM2.

DEFB1 5'UTR polymorphisms has been related to protein levels alteration (16,35) and associated with some oral diseases, as caries (36,37) and periodontitis (18,38). The -20A (rs11362) and -52 A (rs179946) alleles has been associated, respectively, with the increased (high DMFT - Decayed, Missing teeth due to caries, Filled Teeth; and DMFT - Decayed, Missing teeth due to caries, Filled Surface of a tooth) and decreased (low DMF-t) risk of caries in a United States population (36). Similarly, the same *DEFB1* SNPs (-20G/G and -52T/T genotypes) were associated with DMFT index in an Italian population, suggesting also a potential risk to develop caries (37). In the context of periodontal disease, the -44G/C *DEFB1* SNP (rs1800972) was associated with a risk to develop periodontitis in individuals of Ural region (Caucasian) (38). In Japanese individuals, the -44C/C genotype has been associated with susceptibility to periodontitis, particularly with severe CP and with combined severe and moderate CP (18).

In the present study, besides the variants associated with susceptibility to CP development, we also found that genotypic distribution of -20 SNP was related with the severity and severity/extent of CP in DM2 individuals, probably because this systemic condition directly influences the control of periodontal disease. These results are in disagreement with those found by Wohlfahrt et al.

(2006) in North American population. They did not find association for severe CP. The differences may be related to ethnic background of population.

In our population, we did not observe association for -52 and -44 *DEFB-1* variants with CP development in DM2 individuals, but this relation cannot be ruled out, since the study power analysis for these SNPs revealed that sample number used was quite small. The low sample number was directly related to rigorous inclusion/exclusion criteria of individuals in the study, which despite reducing possible bias, made it difficult the formation of a larger sample number, principally, in relation to healthy individuals groups. This fact may also relate with the lack of adherence to HWE among healthy individuals.

In healthy individuals, the relation among *DEFB-1* 5'UTR SNPs and hBD-1 concentration in the saliva was evaluated by Polesello et al. (2015). The authors described significant associations among high protein levels and *DEFB-1* variants (-52 G/G and -44 C/G genotypes; and ACxxx/ACxxx haplotypes). The genotype distribution of -20 *DEFB-1* SNP was not significantly associated with hBD-1 levels, but individuals with -20 A/A genotype produced a major protein level in saliva than -20 G/G individuals.

All this considered, we hypothesize that DM2 individuals with -20G/G genotype for *DEFB-1* possibly produce a lower amount of hBD-1 in the saliva (16). The lower hBD-1 production, results in an antimicrobial activity reduction, with consequent increase in the amount of pathogenic bacteria in the oral environment, thus deregulating the local immune response and increasing the risk of developing periodontitis.

CONCLUSION

For the population studied, the results indicate that genetic variations of *DEFB1* (SNP-20: G allele and GA and GG genotypes) may be associated with a susceptibility to CP development in DM2 individuals as well as CP individuals without DM2. Additionally, the *DEFB1* 5'UTR haplotypes (GCG and ACG) may also be involved in increasing this susceptibility. All these results indicate the

importance of innate immunity in the multifactorial context of CP, suggesting that polymorphisms in *DEFB1* can be considered as potential risk markers for CP.

'This research did not receive any specific grants from funding agencies. '

REFERENCES

1. Scheen AJ. Pathophysiology of Type 2 Diabetes. *Acta Clin Belg*. 2003;58(6):335–41.
2. Bascones-Martínez A, González-Febles J, Sanz-Esporrín J. Diabetes and periodontal disease. Review of the literature. *Am J Dent*. 2014;27(2):63–7.
3. Lim LP, Tay FBK, Sum CF, Thai AC. Relationship between markers of metabolic control and inflammation on severity of periodontal disease in patients with diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2007 Feb [cited 2016 Oct 25];34(2):118–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17309586>
4. Slots J. Periodontology: Past, present, perspectives. *Periodontol 2000*. Blackwell Publishing Ltd; 2013 Jun;62(1):7–19.
5. Sahni J, Talegaonkar S, Tariq M, Ahmad Z, Ali J, Baboota S, et al. Treatment modalities and evaluation models for periodontitis. *Int J Pharm Investig*. 2012;2(3):106.
6. Artese HPC, Longo PL, Gomes GH, Mayer MPA, Romito GA. Supragingival biofilm control and systemic inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Braz Oral Res*. 2015;29(1):1–7.
7. Aemaimanan P, Amimanan P, Taweechaisupapong S. Quantification of key periodontal pathogens in insulin-dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with generalized chronic periodontitis. *Anaerobe*. 2013;22:64–8.
8. AlJehani YA. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature. *Int J Dent*. 2014;2014:182513.
9. Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV. Effect of scaling and root planing on serum interleukin-10 levels and glycemic control in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19(2):188–93.
10. Chung WO, Dommisch H, Yin L, Dale BA. Expression of defensins in gingiva and their role in periodontal health and disease. *Curr Pharm Des*. 2007;13(30):3073–83.
11. Linzmeier RM, Ganz T. Human defensin gene copy number polymorphisms: comprehensive analysis of independent variation in alpha- and beta-defensin regions at 8p22-p23. *Genomics*. 2005 Oct;86(4):423–

- 30.
12. Bedi T, Mahendra J, Ambalavanan N. Defensins in periodontal health Occurence and Distribution Role of Defensins in Immune Response Gingival Defensins. *Indian J Dent Res.* 2015;26(4):340–4.
13. Arslan F, Babakurban ST, Erbek SS, Sahin FI, Terzi YK. Chronic tonsillitis is not associated with beta defensin 1 gene polymorphisms in Turkish population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* Elsevier Ireland Ltd; 2015;79(4):557–60.
14. Polesello V, Zupin L, Di Lenarda R, Biasotto M, Pozzato G, Ottaviani G, et al. DEFB1 polymorphisms and salivary hBD-1 concentration in Oral Lichen Planus patients and healthy subjects. *Arch Oral Biol.* 2017 Jan;73:161–5.
15. Schaefer AS, Richter GM, Nothnagel M, Laine ML, Rühling A, Schäfer C, et al. A 3' UTR transition within DEFB1 is associated with chronic and aggressive periodontitis. *Genes Immun.* Macmillan Publishers Limited; 2010 Jan;11(1):45–54.
16. Polesello V, Zupin L, Di Lenarda R, Biasotto M, Ottaviani G, Gobbo M, et al. Impact of DEFB1 gene regulatory polymorphisms on hBD-1 salivary concentration. *Arch Oral Biol.* Elsevier Ltd; 2015;60(7):1054–8.
17. Oppenheim JJ, Biragyn A, Kwak LW, Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(2):ii17–ii21.
18. Ikuta T, Inagaki Y, Tanaka K, Saito T, Nakajima Y, Bando M, et al. Gene polymorphism of β -defensin-1 is associated with susceptibility to periodontitis in Japanese. *Odontology.* 2015 Jan;103(1):66–74.
19. Braidia L, Boniotto M, Pontillo A, Tovo PA, Amoroso A, Crovella S. A single-nucleotide polymorphism in the human beta-defensi 1 gene is associated with HIV-1 infection in Italian Children. *J Int aids Soc.* 2004;18(11):1598–600.
20. Jurevic RJ, Bai M, Chadwick RB, White TC, Dale BA. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with *Candida* carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. *J Clin Microbiol.* 2003 Jan;41(1):90–6.
21. Sandrin-Garcia P, Brandão LAC, Guimarães RL, Pancoto JAT, Donadi EA, Lima-Filho JL de, et al. Functional single-nucleotide polymorphisms in the DEFB1 gene are associated with systemic lupus erythematosus in Southern Brazilians. *Lupus.* 2012 May;21(6):625–31.
22. Zanin V, Segat L, Bianco A, Padovan L, Tavares N, Crovella S. DEFB1 gene 5' untranslated region (UTR) polymorphisms in inflammatory bowel diseases. *Clinics.* 2012;67(4):395–8.
23. Celerino da Silva R, da Cruz HLA, Brandão LAC, Guimarães RL, Montenegro LML, Schindler HC, et al. DEFB1 gene polymorphisms and tuberculosis in a Northeastern Brazilian population. *Brazilian J Microbiol.*

- Elsevier; 2016;47(2):389–93.
24. Boniotto M, Hazbón MH, Jordan WJ, Lennon GP, Eskdale J, Alland D, et al. Novel hairpin-shaped primer assay to study the association of the -44 single-nucleotide polymorphism of the DEFB1 gene with early-onset periodontal disease. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;11(4):766–9.
 25. Cimões R, Siqueira RAC, Souza PRE de, Crovella S, Donos N. A fast method for DEFB1-44C / G SNP Genotyping in Brazilian Patients with Periodontitis. *Acta Stomatol Croat*. 2014;48(3):208–15.
 26. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4(1):1–6.
 27. American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2015;86(7):835–8.
 28. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*. 1975 Dec;25(4):229–35.
 29. Coelho A, Moura R, Cavalcanti C, Guimaraes R, Sandrin-Garcia P, Crovella S, et al. A rapid screening of ancestry for genetic association studies in an admixed population from Pernambuco, Brazil. *Genet Mol Res*. 2015;14(1):2876–84.
 30. Consortium T 1000 GP. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526:68–73.
 31. Cox DG, Canzian F. Genotype transposer: automated genotype manipulation for linkage disequilibrium analysis. *Bioinformatics*. 2001;17(8):738–9.
 32. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2013.
 33. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005;21(2):263–5.
 34. Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007 May;39(2):175–91.
 35. Kalus AA, Fredericks LP, Hacker BM, Dommisch H, Presland RB, Kimball JR, et al. Association of a genetic polymorphism (-44 C/G SNP) in the human DEFB1 gene with expression and inducibility of multiple beta-defensins in gingival keratinocytes. *BMC Oral Health*. BioMed Central; 2009 Aug;9:21.
 36. Ozturk A, Famili P, Vieira AR. The antimicrobial peptide DEFB1 is associated with caries. *J Dent Res*. 2010;89(6):631–6.

37. Navarra CO, Robino A, Pirastu N, Bevilacqua L, Gasparini P, Di Lenarda R, et al. Caries and Innate Immunity: DEFB1 Gene Polymorphisms and Caries Susceptibility in Genetic Isolates from North-Eastern Italy. *Caries Res.* 2016 Nov;50(6):589–94.
38. Sarkisyan NG, Gankovskaya L V, Tuzankina IA, Svitich OA, Ron GI, Shershnev VN, et al. ASSOCIATION OF POLYMORPHIC MARKERS IN GENES OF INNATE IMMUNITY IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS AND INFLAMMATORY DISEASES OF UPPER RESPIRATORY TRACT]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2016;(1):67–71.
39. Wohlfahrt JC, Wu T, Hodges JS, Hinrichs JE, Michalowicz BS. No Association Between Selected Candidate Gene Polymorphisms and Severe Chronic Periodontitis. *J Periodontol.* 2006;77(3):426–36.

Table 1. Allelic and genotypic frequencies distribution of *DEFB1* 5'UTR SNPs in diabetic mellitus type 2 patients with chronic periodontitis, in subjects with chronic periodontitis and healthy individuals form Northeast Brazil.

SNPs/ Alleles/ Genotypes	DM2+CP n=116 (%)	CP n=95 (%)	Healthy Individuals n=69 (%)	Fisher's exact test OR (95% CI), p-value	
				DM2+CP vs Healthy Individuals	CP vs. Healthy Individuals
rs1799946 (-52 G>A)					
G	117 (50.4)	111 (58.4)	72 (52.2)	Reference	Reference
A	115 (49.6)	79 (41.6)	66 (47.8)	1.07 (0.69-1.67), 0.748	0.78 (0.49-1.24), 0.311
GG	32 (27.6)	31 (32.6)	22 (31.9)	Reference	Reference
GA	53 (45.7)	49 (51.6)	28 (40.6)	1.30 (0.60-2.80), 0.474	1.24 (0.57-2.70), 0.586
AA	31 (26.7)	15 (15.8)	19 (27.5)	1.12 (0.47-2.66), 0.842	0.56 (0.21-1.46), 0.271
HWE	$\chi^2= 0.86; p=0.353$	$\chi^2= 0.36; p=0.547$	$\chi^2= 2.41; p=0.121$		
rs1800972 (-44 C>G)					
C	197 (84.9)	155 (81.6)	115 (83.3)	Reference	Reference
G	35 (15.1)	35 (18.4)	23 (16.7)	0.89 (0.48-1.66), 0.768	1.13 (0.61-2.12), 0.770
CC	86 (74.1)	65 (68.4)	51 (73.9)	Reference	Reference
CG	25 (21.5)	25 (26.3)	13 (18.8)	1.14 (0.51-2.65), 0.850	1.50 (0.66-3.54), 0.345
GG	5 (4.3)	5 (5.3)	5 (7.2)	0.59 (0.13-2.72), 0.506	0.79 (0.17-3.62), 0.750
HWE	$\chi^2= 2.93; p=0.087$	$\chi^2= 1.47; p=0.225$	$\chi^2= 7.14; p=0.007$		
rs11362 (-20 G>A)					
A	94 (40.5)	74 (39.0)	101 (73.2)	Reference	Reference
G	138 (59.5)	116 (61.0)	37 (26.8)	3.99 (2.48-6.53), 1.12e-09*	4.26 (2.59-7.10), 9.507e-10*
AA	18 (15.5)	16 (16.8)	38 (55.1)	Reference	Reference
GA	58 (50.0)	42 (44.2)	25 (36.2)	4.83 (2.22-10.89), 1.35e-05*	3.94 (1.74-9.26), 0.0004*
GG	40 (34.5)	37 (38.9)	6 (8.7)	13.64 (4.66-46.80), 2.35e-08*	14.15 (4.74-49.48), 1.79e-08*
HWE	$\chi^2= 0.16; p=0.688$	$\chi^2= 0.47; p=0.493$	$\chi^2= 0.41; p=0.523$		

DM2+CP= Diabetes Mellitus type 2 with chronic periodontitis; CP= Chronic periodontitis; HWE= Hardy-Weinberg equilibrium; χ^2 = Chi-square Test; OR= Odds ratio; 95% CI= 95% Confidence interval; * significant p-value.

Table 2. Haplotype frequencies of *DEFB1* 5'UTR SNPs in diabetic mellitus type 2 patients with chronic periodontitis, in subjects with chronic periodontitis and healthy individuals from Northeast Brazil.

Haplotypes			DM2+CP 2n (%)	CP 2n (%)	Healthy individuals 2n (%)	Fisher's exact test OR (95% CI), p-value	
-52 G>A	-44 C>G	-20 G>A				DM2 + PC vs. Healthy individuals	PC vs. Healthy individuals
A	C	A	47 (20.3)	30 (15.8)	49 (35.5)	Reference	Reference
G	C	A	31 (13.4)	33 (17.4)	36 (26.1)	0.90 (0.46-1.76), 0.752	1.49 (0.74-3.04), 0.247
G	C	G	65 (28.0)	59 (31.1)	21 (15.2)	3.20 (1.64-6.43), 0.0002*	4.54 (2.22-9.54), 6.67e ⁻⁰⁶ *
A	C	G	54 (23.3)	33 (17.4)	9 (6.5)	6.18 (2.65-15.88), 1.79e ⁻⁰⁶ *	5.89 (2.36-16.05), 2.19e ⁻⁰⁵ *
G	G	A	12 (5.2)	10 (5.3)	8 (5.8)	1.56 (0.53-4.82), 0.463	2.03 (0.64-6.64), 0.193
A	G	A	4 (1.7)	1 (0.5)	8 (5.8)	0.52 (0.11-2.12), 0.369	0.21 (0.004-1.67), 0.151
G	G	G	9 (3.9)	9 (4.7)	7 (5.1)	1.34 (0.40-4.60), 0.788	2.08 (0.62-7.34), 0.265
A	G	G	10 (4.3)	15 (7.9)	0 (0.0)	Nc	nc

DM2+CP= Diabetes Mellitus type 2 with chronic periodontitis; CP= Chronic periodontitis; HWE= Hardy-Weinberg equilibrium; χ^2 = Chi-square Test; OR= Odds ratio; 95% CI= 95% Confidence interval; * significant p-value.

Table 3. Genotype distribution of the rs11362 (-20 G>A) SNP according to the severity and severity/extent of chronic periodontitis in DM2 patients.

Severity and severity extent of chronic periodontitis in DM2 patients				
Chronic Periodontitis (CP)	rs11362 (-20 G>A)			p-value ¹
	GG	GA	AA	
	n(%)	n(%)	n(%)	
Severity				
Light	12(30,0)	8(13,8)	2(11,1)	0,021*
Moderate	19(47,5)	19(32,8)	9(50,0)	
Severe	9(22,5)	31(53,4)	7(38,9)	
Classification of CP				
Light localized	8(20)	6(10,3)	1(5,6)	0,046*
Light generalized	4(10)	2(3,4)	1(5,6)	
Moderate localized	1(2,5)	4(6,9)	2(11,1)	
Moderate generalized	18(45)	15(25,9)	7(38,9)	
Severe localized	0 (0,0)	0 (0,0)	1(5,6)	
Severe generalized	9(22,5)	31(53,4)	6(33,3)	

1 - Probability Ratio Test, * Statistically significant (p <0.05)

Artigo 2

Polimorfismo de única base (rs4804803) na região promotora de *DC-SIGN* e suas implicações na susceptibilidade a periodontite crônica em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2. Estudo Caso - Controle.

Pinho^{1*}, Roberto Carlos Mourão; Dias¹, Rayanne Soraia Aguiar de Melo; Rodrigues², Jessyca Kalynne Farias; dos Santos³, Erinaldo Ubirajara Damasceno; Bandeira^{4,5}, Francisco; Celerino da Silva², Ronaldo; Crovella^{2,6}, Sergio; Cimões¹, Renata

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brasil.

²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brasil.

³Programa de Biologia Celular e Molecular Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade de Pernambuco (UPE), Recife PE, Brasil.

⁴Divisão de Diabetes e Endocrinologia, Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife-PE, Brasil

⁵Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade de Pernambuco (UPE), Recife - PE, Brasil.

⁶Departamento de Genética, Centro de Biociências (CB), Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.

*Autor correspondente: robertomouraopinho@yahoo.com.br

RESUMO

A periodontite crônica (PC) é uma doença multifatorial, inflamatória e infecciosa, frequentemente presente em indivíduos portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), causada pela resposta imune contra bactérias orais. Sabe-se que células dendríticas estão envolvidas nesta doença periodontal e que polimorfismos genéticos em seu receptor DC-SIGN (“Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin”) podem modular a susceptibilidade a doença. Neste sentido, foi avaliado a distribuição do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) na região promotora de *DC-SIGN* (rs4804803) em indivíduos com DM2+PC, com apenas PC e em indivíduos saudáveis, e sua relação com a susceptibilidade a PC. O estudo contou com a participação de 280 indivíduos (116 DM2+PC, 95 com apenas PC e 69 indivíduos saudáveis), os quais foram genotipados por PCR em tempo real utilizando sondas alelo-específicas. Diferenças significativas ($p\text{-value}<0,05$) foram observadas entre os grupos para variáveis sócio-epidemiológicas (sexo, estado civil, renda, tabagismo, escolaridade) e clínico-epidemiológicas (idade, número de dentes, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice de sangramento, índice de placa). Com relação a distribuição alélica e genotípica, o genótipo GG foi significativamente mais frequente entre indivíduos saudáveis em relação aos DM2+PC, sugerindo uma menor susceptibilidade a DM2+PC ($p=0,030$). Adicionalmente, o genótipo GG também foi associado a um menor índice de sangramento em relação ao AG em indivíduos saudáveis ($p=0.016$). Esse foi o primeiro registro de associação de uma variante em *DC-SIGN* com a susceptibilidade a DM2+PC. Na amostra estudada, concluímos haver uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos portadores de DM2 relacionada ao genótipo GG (rs4804803) de *DC-SIGN*. Novos estudos em outras populações são encorajados, para esclarecer o papel deste receptor na modulação da susceptibilidade a doença periodontal.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus tipo 2, Periodontite Crônica, Polimorfismo de Nucleotídeo Único, *DC-SIGN*.

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença de caráter multifatorial, inflamatória e infecciosa, causada por uma resposta imune prejudicada contra bactérias orais ^{1,2}, que por sua vez estimula uma reação inflamatória local e a ativação imune ³, causando danos aos tecidos conectivo e ósseo ⁴. A doença pode se apresentar de duas formas, a periodontite agressiva e a crônica ⁵.

A periodontite crônica (PC) é caracterizada por um longo período de exposição a patógenos periodontais ⁶, resultando no acúmulo de biofilme dental e danos lentos e progressivos às estruturas de suporte dentário ⁷. Alguns fatores têm sido elencados com risco ao seu desenvolvimento, entre os quais o tabagismo, diabetes mellitus, estresse, medicamentos, entre outros ^{8,9}.

Na população diabética, a susceptibilidade ao desenvolvimento de periodontite é cerca de três vezes maior que em populações não-diabéticas ¹⁰, principalmente se o controle glicêmico estiver pobre ¹¹. A PC é considerada a sexta complicação clássica em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) ¹², havendo uma relação bidirecional entre as duas enfermidades, uma interferindo no controle da outra ^{13,14}.

Os tecidos orais mais comumente afetados na DM2 são os periodontais ¹⁵, onde o estado de hiperglicemia pode alterar diretamente a flora microbiana sub-gengival, prejudicando a função celular, alterando o metabolismo do colágeno ¹⁶ e promovendo alterações vasculares ¹⁷. Apesar da infecção bacteriana na PC não diferir entre indivíduos diabéticos e não-diabéticos, observa-se uma resposta imune diferenciada em indivíduos diabéticos, onde o desenvolvimento de anticorpos contra patógenos periodontais pode ser prejudicado ¹⁸.

A imunopatogênese da PC tem sido associada a regulação negativa de receptores do tipo “Toll like” (TRLs) e a presença de populações de células T efectoras ¹⁹. Na mucosa oral de um indivíduo afetado pode ser encontrado agregados linfóides contendo conjugados imunes de células dendríticas ²⁰. Observa-se um intenso infiltrado de células dendríticas expressando o receptor DC-SIGN (“Dendritic cell-specific-3 grabbing non-integrin”) na lâmina própria, combinada com evidências que células dendríticas em lesões

parecem se mobilizar em direção aos capilares. Esses fatos têm sugerido que, possivelmente, a microbiota específica da mucosa oral pode alvejar células dendríticas da lâmina própria direcionando as respostas das células T efectoras^{21,22}.

A lectina tipo C DC-SIGN, codificada pelo gene *CD209* no cromossomo 19 (19p13.2-3)²³, é uma molécula de reconhecimento padrão e de adesão, expressa em células dendríticas e por alguns tipos de macrófagos, envolvidas na endocitose de antígenos microbianos em tecidos periféricos (pela ligação a ICAM-2 em células endoteliais) e mediação da resposta imune (pela ligação de células T ICAM-3⁺ nos linfonodos)^{22,24}. Estudos têm apontado o aumento de receptores DC-SIGN em células dendríticas da mucosa oral de indivíduos com PC^{25,26}, bem como seu envolvimento chave na indução da resposta imune contra inúmeros patógenos, pela modulação da ativação imune induzida por receptores TLR²⁷.

Além dos fatores já citados, a susceptibilidade a PC também pode estar associada com a variabilidade genética do indivíduo, sugerindo um papel importante do genoma hospedeiro na modulação da susceptibilidade a doença^{28,29}. Neste sentido, o presente estudo objetivou a avaliar a distribuição do SNP rs4804803 A>G (-336) no gene *DC-SIGN* entre indivíduos com DM2+PC, indivíduos com apenas PC e indivíduos saudáveis, e sua relação com a susceptibilidade à PC.

2. METODOLOGIA

Considerações éticas

Todos os métodos utilizados no presente trabalho foram apreciados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife/PE, e pelo CEP do Hospital Agamenon Magalhães, Recife/PE (HAM). Os números dos pareceres de aprovação do CEP/ CCS/ UFPE e CEP/ HAM foram respectivamente CAAE 1310208 e CAAE 1368830

Tipo de estudo, população alvo e desenho do estudo

Foi realizado um estudo do tipo caso-controle, composto por uma etapa clínica, realizada no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM)

e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e outra laboratorial, realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Pós-Graduação em Odontologia e no Setor de Biologia Molecular do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE.

A população de estudo foi constituída por 116 indivíduos diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 e periodontite crônica (DM2+PC), 95 indivíduos diagnosticados com apenas periodontite crônica (PC) (grupos de casos), e 69 indivíduos saudáveis para essas duas condições (grupo controle), recrutados no Ambulatório de Endocrinologia do HAM e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Todos os indivíduos envolvidos foram provenientes do Estado de Pernambuco e recrutados baseados em critérios de inclusão/exclusão previamente estabelecidos:

Critérios de inclusão: Foram incluídos no estudo, de forma geral, indivíduos com idade mínima de 35 anos e com no mínimo 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia). Os indivíduos incluídos no grupo de indivíduos DM2+PC, deveriam ser portadores de DM2 e ter diagnóstico clínico de PC ³⁰. Já o grupo de indivíduos com apenas PC, deveriam ter diagnóstico clínico de PC ³⁰. Os indivíduos não portadores de DM2 e não diagnosticado para PC, foram incluídos no grupo de controles saudáveis.

Critérios de exclusão: Foram excluídos no estudo, indivíduos que tenham usado antibióticos nos últimos 6 meses; que fazem uso de anti-inflamatórios de forma crônica; que apresentam condições que comprometam a imunidade sistêmica; estar grávida ou lactante; ter se submetido a tratamento periodontal nos últimos 6 meses; ser fumante e usar aparelho ortodôntico.

Aspectos Clínicos

A PC foi caracterizada pela presença de inflamação (sangramento à sondagem), aumento da profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, segundo a Associação Americana de Periodontia ³⁰. O diagnóstico, baseia-se em vários parâmetros clínicos e radiográficos, onde nem sempre todos estarão presentes; e com base nestes parâmetros, a PC pode ser classificada em leve, moderada ou severa (quanto à severidade) e em localizada ou generalizada (quanto à extensão).

Para cada indivíduo foi preenchido um periograma, no qual constaram dados

sobre: presença de placa visível (PPV), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), perda de inserção clínica (ou nível de inserção clínica – NIC), mobilidade e presença de envolvimento de furca. Para cada dente foram sondados seis sítios: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual. O exame foi realizado com luz artificial e usando odontoscópio e sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (Trinity®), além dos equipamentos de proteção individual. Durante todo o processo, três examinadores e anotador previamente calibrados fizeram os exames clínicos e o registro nas fichas dos indivíduos (valores de concordância Kappa 0,80) ³¹.

Após o exame clínico foi realizada a coleta de saliva em tubos do tipo Falcon (15 ml) estéreis, solicitando ao indivíduo cuspir por 3 minutos. O material coletado foi armazenado no freezer a -20° para posterior isolamento do material genético.

Isolamento do material genético, escolha do polimorfismo e genotipagem por PCR em tempo real

O DNA foi extraído a partir de amostras de saliva por meio de kits comerciais de purificação de DNA genômico (Wizard®Promega), seguindo o protocolo do fabricante para amostras de sangue. O material foi quantificado utilizando nanodrop (Thermo Fischer®), e mantidos a temperatura de -20°C até as análises.

A escolha do polimorfismo foi baseada no impacto da variante na expressão gênica ³², em associações prévias com outras patologias de caráter infeccioso e inflamatório, e na frequência alélica mínima igual a 10% (MAF – Minim Allele Frequency = 0,1) em populações de referência (CEU = Utah residents with Northern and Western European ancestry; e YRI = Yoruba in Ibadan, Nigeria), depositadas no banco de dados 100 genomas ³³. Para o presente estudo, foi selecionado o SNP rs4804803 A>G, localizado na região promotora (posição -336) do gene *CD209* ou *DC-SIGN*.

A genotipagem foi realizada por PCR em tempo real utilizando sondas alelo específicas (TaqMan®), em termociclador ABI 7500 (Applied Biosystems®).

Análises Estatísticas

As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas por contagem direta, enquanto que a aderência da distribuição genotípica ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg em cada grupo foi verificada através do teste Qui-Quadrado. As possíveis associações foram

aferidas através do teste Exato de Fisher, utilizando tabelas de contingência (2x2) no programa R³⁴. Para as análises, considerou-se o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

O teste de independência da Razão de Verossimilhança foi aplicado para verificar associações com o genótipo quando não houve possibilidade de aplicar o teste Qui-quadrado de Pearson (IBM SPSS Statistics 20.0 trial version -IBM, Armonk, NY, EUA).

3. RESULTADOS

Duzentos e oitenta (280) indivíduos foram incluídos no estudo, dos quais 116 (41,5%) eram diabéticos tipo 2 com periodontite crônica (DM2+PC), 95(33,9%) apresentavam apenas com periodontite (PC), e 69 (24,6%) eram indivíduos saudáveis com idade média de $58,2 \pm 9,7$ anos (variando de 20 a 80 anos), $51,1 \pm 9,6$ anos (variando de 35 a 76 anos) e $49,6 \pm 10,7$ (variando de 35 a 77), respectivamente. A maioria dos indivíduos eram do sexo feminino (74,1%, 80% e 91,3%, respectivamente), casados (64,7%, 48,4% e 44,9%, respectivamente), com renda mensal de até 2 salários mínimos (89,6%, 75,3% e 66,7%, respectivamente), não fumantes (61,2%, 66,3% e 85,5%, respectivamente) e com segundo grau completo (escolaridade) (32,5%, 42,1% e 37,7%, respectivamente). Para todas essas variáveis foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($p\text{-value} < 0,05$) (Tabela 1).

Diferenças significativas entre aos grupos também foram observadas para as variáveis clínicas: número de dentes, profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), índice de sangramento e índice de placa (Tabela 2)

Em relação a distribuição alélica e genotípica do SNP rs4804803A/G (-336), diferenças significativas também foram observadas. O genótipo GG foi significativamente mais frequente em indivíduos saudáveis (10,1%) que em indivíduos com DM2+PC (1,7%) ($OR=0,17$; $IC95\%=0,02-0,97$; $p\text{-value}=0.030$), sendo considerado como um fator de proteção (Tabela 3). Adicionalmente, a distribuição genotípica estava enquadrada ao equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Em relação a classificação da PC em indivíduos DM2+PC, apenas o sexo foi associado com a condição. Observou-se uma maior proporção de periodontite severa

generalizada em indivíduos do sexo masculino (56,7%). As demais variáveis (renda mensal, hábito de fumar e tempo de diabetes) não apresentaram diferenças significativas (Tabela 4).

Adicionalmente, não foram observadas diferenças significativas entre distribuição genotípica do SNP rs4804803, a severidade, a extensão e a classificação da periodontite tanto entre os indivíduos DM2+PC quanto nos entre os indivíduos com apenas PC (Tabela 5). No entanto, entre os indivíduos controles, a média do índice de sangramento apresentou diferenças significativas quanto a distribuição genotípica. Indivíduos com genótipo AG apresentaram em média um menor percentual de sangramento ($2,49 \pm 3,79$) em relação ao genótipo AA ($6,74 \pm 7,81$), diferindo significativamente ($p\text{-value}=0,016$) (Tabela 6).

4. DISCUSSÃO

A PC é uma forma destrutiva da doença periodontal de caráter inflamatório, frequente em indivíduos portadores de DM2, iniciada e mantida por uma reação imune prejudicada contra bactérias orais, que culmina com danos aos tecidos conectivo e ósseo ^{1,11,13}. O tecido gengival inflamado, caracteriza-se por uma grande quantidade de subpopulações celulares ³⁵, como as células dendríticas, envolvidas na doença periodontal ^{26,36,37} e na captura e apresentação de antígenos ³⁸. Através do receptor DC-SIGN, as células dendríticas podem ser alvejadas por patógenos orais, que modulam a resposta imune celular ^{21,22}. Polimorfismos em regiões regulatórias de *DC-SIGN* tem sido relacionados com alteração dos níveis de expressão gênica ³⁹⁻⁴¹, e consequentemente, na susceptibilidade de inúmeras patologias, incluindo PC e DM.

Neste sentido, foi avaliado a distribuição do SNP rs4804803 A>G (-336) no gene *DC-SIGN* em indivíduos DM2+PC, apenas PC e saudáveis; e sua relação com a susceptibilidade à PC. Observou-se que indivíduos com genótipo GG possuem uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de DM2 e PC de forma conjunta.

Como uma molécula chave para resposta imune inata e adaptativa, DC-SIGN desempenha um importante papel no reconhecimento de um grande número de patógenos de interesse da saúde pública, como vírus ^{40,42,43}, parasitas ⁴⁴, bactérias ⁴⁵ e fungos ⁴⁶,

atuando na resposta inflamatória e ativação das células T^{47,48}, as quais podem estar aumentadas em indivíduos com PC²⁰.

Estudos apontam que o agente etiológico chave da PC, a bactéria *Porphyromonas gingivalis*, infectam células dendríticas mielóides através de DC-SIGN⁴⁹⁻⁵¹ e que a glicoproteína Mfa1 do patógeno, pode se ligar ao receptor desencadeando efeitos imunoestimulatórios⁵⁰ e ajudando na disseminação sistêmica da bactéria para placas ateroscleróticas, o que pode implicar em risco cardíaco⁵².

No presente estudo, verificamos uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de DM2+PC relacionado ao genótipo GG. O SNP rs4804803 A>G, localizado na região promotora de *DC-SIGN* (posição -336), afeta a ligação do fator de transcrição Sp1 e, estudos *in vivo*, tem relacionado a presença do alelo “A” com uma aumentada expressão do receptor^{40,53}.

Celerino da Silva et al, 2014⁴¹, estudando indivíduos com diabetes mellitus tipo 1 e indivíduos saudáveis de uma população do nordeste do Brasil para os SNPs rs735239 e rs4804803 de *DC-SIGN*, evidenciaram uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de DM1 relacionada ao alelo G e aos genótipos GG e AG do SNP rs735239 (-871), bem como as combinações alélicas G-G (rs735239-rs4804803) e genotípicas AA-GG (rs735239-rs4804803), corroborando em parte nossos resultados para indivíduos DM2+PC.

Podemos hipotetizar que indivíduos com o genótipo GG, provavelmente possuem uma baixa expressão de DC-SIGN^{40,53} e consequentemente, existe uma menor quantidade de receptores para interagir com Mfa1 do *P. Gingivalis*, assim modulando a susceptibilidade por meio de uma resposta imune anti-inflamatória⁴⁷. É sabido que o efeito imunomodulatório de DC-SIGN está associado ao tipo de ligante⁴¹.

Muito embora alguns relatos associando o DC-SIGN com as doenças orais já tenham sido realizados,^{25,26} assim como sobre o papel do *Porphyromonas gingivalis* na mobilização do DC-SIGN na PC⁵⁰, porém, estes trabalhos ou foram realizados em modelos hipotéticos, ou foram realizados na espécie murina, não havendo ainda trabalhos na busca por polimorfismos do DC-SIGN na saliva em indivíduos diabéticos e associando à PC, e essa é a grande contribuição do presente trabalho, e que pelos resultados obtidos,

poderão encorajar mais pesquisas em seres humanos, para melhor esclarecer o papel deste receptor na susceptibilidade da PC.

Adicionalmente, também foi encontrada uma associação entre a classificação da periodontite e o sexo. Uma maior proporção de periodontite severa generalizada foi diagnosticada nos indivíduos DM2+PC do sexo masculino, conduzindo a inferência que, na população estudada, existe, mesmo que de modo discreto, um maior cuidado com a saúde oral entre os indivíduos do sexo feminino. Nossos resultados com relação aos parâmetros clínicos são corroborados por outros estudos em uma população chinesa⁵⁴ e alemã⁵⁵.

Apesar das limitações do estudo (ausência de ensaios de expressão, número de variantes estudadas e pequeno número amostral), esse foi o primeiro registro de associação de uma variante em *DC-SIGN* com a susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos portadores de DM2. Estudos com novas variantes, com maior número de indivíduos e em outras populações são encorajados, para uma melhor compreensão do papel deste receptor na doença

CONCLUSÕES

Na amostra estudada, verificamos uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos portadores de DM2 relacionada ao genótipo GG (rs4804803) de *DC-SIGN*.

REFERÊNCIAS

1. Agrali OB, Kuru BE. Periodontal treatment in a generalized severe chronic periodontitis patient: A case report with 7-year follow-up. *Eur. J. Dent. Dental Investigations Society*; 2015;9:288–92.
2. Zupin L, Navarra CO, Robino A, Bevilacqua L, Di Lenarda R, Gasparini P, et al. NLRC5 polymorphism is associated with susceptibility to chronic periodontitis. *Immunobiology*. 2017;222:704–8.
3. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: Linking the primary inflammation to bone loss. *Clin. Dev. Immunol*. 2013;2013:1–7.
4. Chen D, Zhang TL, Wang X. Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population. *Biomed Res. Int*. 2016;2016:8389020.
5. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann. Periodontol*. 1999;4:1–6.
6. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol*. 2000. 2012;58:37–68.
7. Elangovan S, Hertzman-Miller R, Karimbux N, Giddon D. A framework for physician-dentist collaboration in diabetes and periodontitis. *Clin. Diabetes. American Diabetes Association*; 2014;32:188–92.
8. Van Dyke TE, Sheilesh D. Risk factors for periodontitis. *J. Int. Acad. Periodontol*. 2005;7:3–7.
9. Negrato CA, Tarzia O, Jovanovic L, Chinellato LE. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci*. 2013;21:1–12.
10. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontol*. 2000. 2007;44:127–53.
11. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br. Dent. J*. 2014;217:433–7.
12. Loe H. Periodontal disease: The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes*

Care. 1993;16:329–34.

13. Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, Jepsen S. Periodontitis and diabetes : a two-way relationship. *Diabetologia*. 2012;55:21–31.

14. Abdul B, Mirza Q, Syed A, Izhar F, Khan AA. Bidirectional relationship between diabetes and periodontal disease : Review of Evidence. *J. Pakistan Med. Assoc.* 2010;60:766–8.

15. Gandara BK, Morton TH. Non-periodontal oral manifestations of diabetes: A framework for medical care providers. *Diabetes Spectr.* 2011;24:199–205.

16. Abbass K, Adnan MK, Markert RJ, Emig M, Khan NA. *Mycobacterium fortuitum* breast abscess after nipple piercing. *Can. Fam. Physician.* 2014;60:51–2.

17. Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part i. *Eur. Heart J.* 2013. p. 2436–46.

18. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2008;79:637–46.

19. Gaffen SL, Hajishengallis G. A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J. Dent. Res.* 2008;87:817–28.

20. Jotwani R, Cutler CW. Multiple dendritic cell (DC) subpopulations in human gingiva and association of mature DCs with CD4+ T-cells in situ. *J. Dent. Res.* 2003;82:736–41.

21. Ivanov II, Frutos R de L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, et al. Specific Microbiota Direct the Differentiation of IL-17-Producing T-Helper Cells in the Mucosa of the Small Intestine. *Cell Host Microbe.* 2008;4:337–49.

22. Cutler CW, Jotwani R. Oral Mucosal Expression of HIV-1 Receptors, Co-receptors, and alfa-defensins: Tableau of Resistance or Susceptibility to HIV-Infections? *Adv Dent Res.* 2006;19:49–51.

23. Khoo U-S, Chan KYK, Chan VSF, Lin CLS. DC-SIGN and L-SIGN: the SIGNs for

infection. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2008;86:861–74.

24. García-Vallejo JJ, van Liempt E, da Costa Martins P, Beckers C, van het Hof B, Gringhuis SI, et al. DC-SIGN mediates adhesion and rolling of dendritic cells on primary human umbilical vein endothelial cells through LewisY antigen expressed on ICAM-2. *Mol. Immunol.* 2008;45:2359–69.

25. Jotwani R, Cutler CW. Fimbriated *Porphyromonas gingivalis* Is More Efficient than Fimbria-Deficient *P. gingivalis* in Entering Human Dendritic Cells in Vitro and Induces An Inflammatory Th1 Effector Response. *Infect. Immun.* 2004;72:1725–32.

26. Bodineau A, Coulomb B, Tedesco AC, Séguier S. Increase of gingival matured dendritic cells number in elderly patients with chronic periodontitis. *Arch. Oral Biol.* 2009;54:12–6.

27. den Dunnen J, Gringhuis SI, Geijtenbeek TBH. Innate signaling by the C-type lectin DC-SIGN dictates immune responses. *Cancer Immunol. Immunother.* 2009;58:1149–57.

28. Loos BG, John RP, Laine ML. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. *J. Clin. Periodontol.* 2005;32:159–79.

29. Dosseva-Panova V, Mlachkova A, Popova C. Gene polymorphisms in periodontitis. Overview. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2015;29:834–9.

30. American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J. Periodontol.* 2015;86:835–8.

31. Bello DMA, Araújo NC, Siqueira RAC de, Souza PRE de, Cimões R. Comparação de critérios de diagnóstico clínico de periodontite em diabéticos. *Braz J Periodontol.* 2016;26:14–8.

32. Boks MA, Gunput STG, Kosten I, Gibbs S, Van Vliet SJ, Ligtenberg AJM, et al. The Human Glycoprotein Salivary Agglutinin Inhibits the Interaction of DC-SIGN and Langerin with Oral Micro-Organisms. *J. Innate Immun.* 2016;8:350–61.

33. The 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526:68–73.

34. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. R Found. Stat. Comput. Vienna, Austria. 2013.
35. Séguier S, Gogly B, Bodineau A, Godeau G, Brousse N. Is collagen breakdown during periodontitis linked to inflammatory cells and expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human gingival tissue? *J. Periodontol.* 2001;72:1398–406.
36. Finger Stadler A, Patel M, Pacholczyk R, Cutler CW, Arce RM. Long-term sustainable dendritic cell-specific depletion murine model for periodontitis research. *J. Immunol. Methods.* 2017;
37. Bodineau A, Coulomb B, Folliguet M, Igondjo-Tchen S, Godeau G, Brousse N, et al. Do Langerhans cells behave similarly in elderly and younger patients with chronic periodontitis? *Arch. Oral Biol.* 2007;52:189–94.
38. El-Awady AR, Arce RM, Cutler CW. Dendritic cells: Microbial clearance via autophagy and potential immunobiological consequences for periodontal disease. *Periodontol.* 2000. 2015;69:160–80.
39. Alagarasu K, Damle IM, Bachal R V, Mulay AP, Shah PS, Dayaraj C. Association of promoter region polymorphisms of CD209 gene with clinical outcomes of dengue virus infection in Western India. *Infect. Genet. Evol.* 2013;17:239–42.
40. Wang L, Chen RF, Liu JW, Lee IK, Lee CP, Kuo HC, et al. DC-SIGN (CD209) promoter -336 A/G polymorphism is associated with dengue hemorrhagic fever and correlated to DC-SIGN expression and immune augmentation. Hirayama K, editor. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011;5:e934.
41. da Silva RC, de Alencar Cunha Tavares N, Moura R, Coelho A, Guimarães RL, Araújo J, et al. DC-SIGN polymorphisms are associated to type 1 diabetes mellitus. *Immunobiology.* 2014;219:859–65.
42. Da Silva RC, Segat L, Crovella S. Role of DC-SIGN and L-SIGN receptors in HIV-1 vertical transmission. *Hum. Immunol.* 2011;72:305–11.
43. Liu P, Ridilla M, Patel P, Betts L, Gallichotte E, Shahidi L, et al. Beyond attachment:

Roles of DC-SIGN in dengue virus infection. *Traffic*. 2017;18:218–31.

44. Chen L, Chen Q, Hou W, He L. High-throughput dynamic analysis of differentially expressed genes in splenic dendritic cells from mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Immunol. Lett.* 2017;184:15–22.

45. Tailleux L, Schwartz O, Herrmann J-L, Pivert E, Jackson M, Amara A, et al. DC-SIGN Is the Major Mycobacterium tuberculosis Receptor on Human Dendritic Cells. *J. Exp. Med.* 2003;197:121–7.

46. Qu X, Che C, Gao A, Lin J, Wang N, Du X, et al. Association of Dectin-1 and DC-SIGN gene single nucleotide polymorphisms with fungal keratitis in the northern Han Chinese population. *Mol. Vis.* 2015;21:391–402.

47. Zhou T, Chen Y, Hao L, Zhang Y. DC-SIGN and immunoregulation. *Cell. Mol. Immunol.* 2006;3:279–83.

48. Venkatesan G, Uppoor A, Naik DG. Redefining the role of dendritic cells in periodontics. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2013;17:700–5.

49. Zeituni AE, McCaig W, Scisci E, Thanassi DG, Cutler CW. The native 67-kilodalton minor fimbria of *Porphyromonas gingivalis* is a novel glycoprotein with DC-SIGN-targeting motifs. *J. Bacteriol. American Society for Microbiology*; 2010;192:4103–10.

50. Zeituni AE, Jotwani R, Carrion J, Cutler CW. Targeting of DC-SIGN on human dendritic cells by minor fimbriated *Porphyromonas gingivalis* strains elicits a distinct effector T cell response. *J. Immunol.* 2009;183:5694–704.

51. Miles B, Zakhary I, El-Awady A, Scisci E, Carrion J, O'Neill JC, et al. Secondary lymphoid organ homing phenotype of human myeloid dendritic cells disrupted by an intracellular oral pathogen. *Infect. Immun.* 2014;82:101–11.

52. Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, et al. Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. *J. Immunol.* 2012;189:3178–87.

53. Sakuntabhai A, Turbpaiboon C, Casadémont I, Chuansumrit A, Lowhnoo T, Kajaste-Rudnitski A, et al. A variant in the CD209 promoter is associated with severity of dengue disease. *Nat. Genet.* 2005;37:507–13.

54. Zhang Q, Li Z, Wang C, Shen T, Yang Y, Chotivichien S, et al. Prevalence and predictors for periodontitis among adults in China, 2010. *Glob. Health Action*. 2014;7:1–7.
55. Schulze A, Busse M. Gender Differences in Periodontal Status and Oral Hygiene of Non-Diabetic and Type 2 Diabetic Patients. *Open Dent. J*. 2016;10:287–97.

Tabela 1. Perfil sócio-epidemiológico dos indivíduos envolvidos no estudo (variáveis categóricas).

Variáveis Categóricas	Indivíduos						Total		p-value
	DM2+PC		PC		Saudáveis				
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Sexo									
Masculino	30	25,9	19	20,0	6	8,7	55	19,6	0,018 ¹
Feminino	86	74,1	76	80,0	63	91,3	225	80,4	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Estado civil									
Casado	75	64,7	46	48,4	31	44,9	152	54,3	0,017 ¹
Solteiro	23	19,8	31	32,6	19	27,5	73	26,1	
Divorciado	7	6,0	8	8,4	14	20,3	29	10,4	
Viúvo	10	8,6	10	10,5	4	5,8	24	8,6	
Sem resposta	1	0,9	0	0,0	1	1,4	2	0,7	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Renda (Salários Mínimos)									
Até 2	95	89,6	67	75,3	38	66,7	200	79,4	0,003 ²
De 2 a 4	7	6,6	19	21,3	15	26,3	41	16,3	
De 4 a 10	4	3,8	3	3,4	4	7,0	11	4,4	
Total	106	100,0	89	100,0	57	100,0	252	100,0	
Hábito de fumar									
Nunca Fumou	71	61,2	63	66,3	59	85,5	193	68,9	0,002 ¹
Ex-fumante	45	38,8	32	33,7	10	14,5	87	31,1	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Escolaridade									
Não sabe ler ou escrever	10	8,8	1	1,1	1	1,4	12	4,3	0,000 ²
1º grau incompleto	29	25,4	16	16,8	5	7,2	50	18,0	
1º grau completo	18	15,8	12	12,6	5	7,2	35	12,6	
2º grau incompleto	9	7,9	6	6,3	8	11,6	23	8,3	
2º grau completo	37	32,5	40	42,1	26	37,7	103	37,1	
Superior incompleto	2	1,8	5	5,3	3	4,3	10	3,6	
Universidade completa	6	5,3	7	7,4	11	15,9	24	8,6	
Não sei	2	1,8	7	7,4	10	14,5	19	6,8	
Não respondeu	1	0,9	1	1,1	0	0,0	2	0,7	
Total	114	100,0	95	100,0	69	100,0	278	100,0	

1- Teste qui-quadrado de Pearson; 2- Teste da Razão de Verossimilhança, *p-value significante (p<0,05)

Tabela 2. Perfil clínico-epidemiológicos dos indivíduos estudados (variáveis quantitativas).

Variável quantitativa	N		Média ± DP	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade (anos)						
Diabéticos	116	A	58,2 ± 9,7	35,0	80,0	0,000
Periodontite	95	AB	53,0 ± 9,6	35,0	76,0	
Controles saudáveis	69	B	49,6 ± 10,7	35,0	77,0	
Total	280		54,3 ± 10,5	35,0	80,0	
Renda (salários mínimos)						
Diabéticos	106	A	1,6 ± 1,2	0,0	10,0	0,004
Periodontite	89	A	1,6 ± 1,3	0,0	7,0	
Controles saudáveis	57	B	2,2 ± 1,5	1,0	7,0	
Total	252		1,7 ± 1,3	0,0	10,0	
Número de dentes						
Diabéticos	116	A	15,8 ± 5,6	8,0	28,0	0,000
Periodontite	95	A	17,7 ± 5,6	8,0	29,0	
Controles saudáveis	69	B	20,2 ± 5,8	8,0	28,0	
Total	280		17,5 ± 5,9	8,0	29,0	
Profundidade de Sondagem (PS)						
Diabéticos	116	A	2,4 ± 0,7	1,3	5,2	0,000
Periodontite	95	A	2,3 ± 0,6	1,3	4,4	
Controles saudáveis	69	B	1,9 ± 0,3	1,2	2,8	
Total	280		2,3 ± 0,6	1,2	5,2	
Nível de Inserção Clínica (NIC)						
Diabéticos	116	A	3,9 ± 1,7	1,6	10,2	0,000
Periodontite	95	A	3,5 ± 1,7	1,6	11,9	
Controles saudáveis	69	B	2,1 ± 0,4	1,3	3,8	
Total	280		3,3 ± 1,6	1,3	11,9	
Índice de sangramento (%)						
Diabéticos	116	A	11,6 ± 14,3	0,0	100,0	0,000
Periodontite	95	A	15,4 ± 14,0	0,0	50,0	
Controles saudáveis	69	B	5,1 ± 6,7	0,0	36,4	
Total	280		11,3 ± 13,3	0,0	100,0	
Índice de placa (%)						
Diabéticos	116	A	26,0 ± 25,4	0,0	100,0	0,003
Periodontite	95	A	25,0 ± 22,9	0,0	100,0	
Controles saudáveis	69	B	16,4 ± 19,8	0,0	100,0	
Total	280		23,3 ± 23,5	0,0	100,0	

1-Teste não paramétrico de Kruskal Wallis, * Estatisticamente significante (p<0,05)

Tabela 3. Distribuição Alélica e Genotípica de polimorfismo de única base (SNP) no gene *DC-SIGN* (rs4804803) em indivíduos com diabetes melitus tipo 2 e periodontite crônica (DM2+PC), indivíduos com apenas periodontite crônica (PC) e indivíduos saudáveis de uma população do Estado de Pernambuco.

SNPs/ Alelos/ Genótipos	Indivíduos			Teste Exato de Fisher OR (IC95%), p-value		
	DM2+PC n=115	PC n=95	Saudáveis n=69	DM2+PC vs. Saudáveis	PC vs. Saudáveis	DM2+PC vs. PC
rs4804803 (-336) A/G						
A	180 (78,3)	145 (76,3)	102 (73,9)	Referência	Referência	Referência
G	50 (21,7)	45 (23,7)	36 (26,1)	0.79 (0.47-1.33), 0.374	0.88 (0.51-1.51), 0.697	0.89 (0.55-1.45), 0.641
AA	67 (58,3)	58 (61,1)	40 (58,0)	Referência	Referência	Referência
AG	46 (40,0)	29 (30,5)	22 (31,9)	1.25 (0.63-2.51), 0.521	0.91 (0.43-1.92), 0.861	1.37 (0.74-2.57), 0.306
GG	2 (1,7)	8 (8,4)	7 (10,1)	0.17 (0.02-0.97), 0.030*	0.79 (0.23-2.78), 0.780	0.22 (0.02-1.16), 0.052
EHW	X ² =3,544 p=0.060	X ² =2,299 p=0.129	X ² =2,070 p=0.150			

* p-value significativo; EWH= Equilíbrio de Hardy-Weinberg; OR= Odds ratio; IC95%= Intervalo de confiança de 95%; DM2+PC = Diabetes melitus tipo 2 e periodontite crônica; PC = periodontite crônica.

Tabela 4. Classificação da periodontite crônica segundo as variáveis (sexo, hábito de fumar, renda e tempo de diabetes) em indivíduos com diabetes melitus tipo 2 e periodontite crônica de uma população do Estado de Pernambuco.

Classificação da Periodontite Crônica															
Variáveis	Leve				Moderada				Severa				Total		p-value ¹
	Localizada		Generalizada		Localizada		Generalizada		Localizada		Generalizada				
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo															
Masculino	2	6,7	0	0,0	2	6,7	8	26,7	1	3,3	17	56,7	30	100	0,037*
Feminino	13	15,1	7	8,1	5	5,8	32	37,2	0	0,0	29	33,7	86	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Renda (Salário mínimo)															
Até 2	14	14,7	7	7,4	7	7,4	36	37,9	0	0,0	31	32,6	95	100	0,201
De 2 a 4	1	14,3	0	0,0	0	0,0	1	14,3	1	14,3	4	57,1	7	100	
De 4 a 10	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	25,0	0	0,0	3	75,0	4	100	
Total	15	14,2	7	6,6	7	6,6	38	35,8	1	0,9	38	35,8	106	100	
Hábito de fumar															
Nunca Fumou	9	12,7	5	7,0	7	9,9	25	35,2	0	0,0	25	35,2	71	100	0,075
Ex-fumante	6	13,3	2	4,4	0	0,0	15	33,3	1	2,2	21	46,7	45	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Tempo de Diabetes															
≤ 5 anos	6	14,3	1	2,4	3	7,1	13	31,0	1	2,4	18	42,9	42	100	0,608
> 5 e ≤ 10 anos	2	7,4	3	11,1	1	3,7	13	48,1	0	0,0	8	29,6	27	100	
> 10 anos	7	14,9	3	6,4	3	6,4	14	29,8	0	0,0	20	42,6	47	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Uso de Insulina															
Sim	6	15,4	1	2,6	1	2,6	11	28,2	0	0,0	20	51,3	39	100	0,268
Não	9	11,7	6	7,8	6	7,8	29	37,7	1	1,3	26	33,8	77	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	

1- Teste da Razão de Verossimilhança, * Estatisticamente significativa (p<0,05).

Tabela 5. Distribuição genotípica do variante rs4804803 do gene DC-SIGN segundo a severidade, extensão e classificação da periodontite crônica em indivíduos com diabetes melitus tipo 2 e periodontite crônica, e indivíduos com apenas periodontite crônica de uma população do estado de Pernambuco.

de uma população do estado de Pernambuco.										
Periodontite Crônica (PC)	DM2+PC			Total	p-value	PC			Total	p-value
	AA	AG	GG			AA	AG	GG		
	N (%)	N (%)	N (%)			N (%)	N (%)	N (%)		
Severidade										
Leve	12 (17,9)	8 (17,4)	1 (50,0)	21 (18,3)	0,552	11 (19,3)	3 (10,3)	2 (22,2)	16 (16,8)	0,249
Moderada	29 (43,3)	17 (37,0)	1 (50,0)	47 (40,9)		15 (26,3)	13 (44,8)	1 (11,1)	29 (30,5)	
Severa	26 (38,8)	21 (45,7)	0 (0,0)	47 (40,9)		31 (54,4)	13 (44,8)	6 (66,7)	50 (52,6)	
Extensão										
Localizada	16 (23,9)	6 (13,0)	0 (0,0)	22 (19,1)	0,225	15 (26,3)	6 (20,7)	3 (33,3)	24 (25,3)	0,719
Generalizada	51 (76,1)	40 (87,0)	2 (100,0)	93 (80,9)		42 (73,7)	23 (79,3)	6 (66,7)	71 (74,7)	
Classificação da Periodontite										
Leve Localizada	9 (13,4)	5 (10,9)	0 (0,0)	14 (12,2)	0,507	9 (15,8)	1 (3,4)	2 (22,2)	12 (12,6)	0,181
Leve Generalizada	3 (4,5)	3 (6,5)	1 (50,0)	7 (6,1)		3 (5,3)	2 (6,9)	0 (0,0)	5 (5,3)	
Moderada Localizada	6 (9,0)	1 (2,2)	0 (0,0)	7 (6,1)		3 (5,3)	4 (13,8)	1 (11,1)	8 (8,4)	
Moderada Generalizada	23 (34,3)	16 (34,8)	1 (50,0)	40 (34,8)		11 (19,3)	9 (31,0)	0 (0,0)	20 (21,1)	
Severa Localizada	1 (1,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,9)		4 (7,0)	1 (3,4)	0 (0,0)	5 (5,3)	
Severa Generalizada	25 (37,3)	21 (45,7)	0 (0,0)	46 (40,0)		27 (47,4)	12 (41,4)	6 (66,7)	45 (47,4)	
Total	67 (100,0)	46 (100,0)	2 (100,0)	115 (100,0)		57 (100,0)	29 (100,0)	9 (100,0)	95 (100,0)	

1- Teste da razão de verossimilhança;, *Estatisticamente significativa (p<0,05)

Tabela 6. Média de profundidade de sondagem, do nível de inserção clínica, do índice de sangramento e de placa de acordo com a distribuição genotípica do SNP rs4804803 do gene *DC-SIGN* em indivíduos com diabetes melitus tipo 2 e periodontite crônica, com apenas periodontite crônica, e indivíduos saudáveis de uma população do Estado de Pernambuco.

Genótipos		Diabéticos			Periodontite			Controles saudáveis		
		N	Média ± DP	p-value	N	Média ± DP	p-value	N	Média ± DP	p-value
Profundidade de Sondagem	AA	67	2,37 ± 0,56	ref.	57	2,32 ± 0,61	ref.	40	1,87 ± 0,31	ref.
	AG	46	2,58 ± 0,77	0,285	29	2,29 ± 0,53	0,684	22	1,88 ± 0,30	0,389
	GG	2	2,10 ± 0,71	0,567	9	2,22 ± 0,43	0,801	7	1,77 ± 0,37	0,455
	Total	115	2,45 ± 0,66		95	2,30 ± 0,57		69	1,86 ± 0,31	
Nível de Inserção Clínica	AA	67	3,90 ± 1,82	ref.	57	3,57 ± 1,79	ref.	40	2,10 ± 0,42	ref.
	AG	46	3,97 ± 1,46	0,385	29	3,28 ± 1,14	0,468	22	2,10 ± 0,40	0,924
	GG	2	2,89 ± 0,35	0,431	9	3,97 ± 2,54	0,808	7	2,45 ± 0,62	0,056
	Total	115	3,91 ± 1,67		95	3,52 ± 1,70		69	2,14 ± 0,44	
Índice de sangramento (%)	AA	67	11,69 ± 12,34	ref.	57	16,09 ± 14,16	ref.	40	6,74 ± 7,81	ref.
	AG	46	11,70 ± 17,20	0,573	29	14,03 ± 13,14	0,528	22	2,49 ± 3,79	0,016
	GG	2	11,57 ± 11,93	0,871	9	15,50 ± 17,36	0,556	7	3,89 ± 4,67	0,375
	Total	115	11,69 ± 14,36		95	15,41 ± 14,05		69	5,09 ± 6,73	
Índice de placa (%)	AA	67	25,89 ± 23,87	ref.	57	25,32 ± 24,43	ref.	40	17,39 ± 19,58	ref.
	AG	46	26,13 ± 26,90	0,582	29	24,10 ± 21,64	0,989	22	16,50 ± 22,39	0,610
	GG	2	40,00 ± 56,57	0,943	9	25,86 ± 18,28	0,449	7	10,02 ± 12,18	0,293
	Total	115	26,23 ± 25,44		95	25,00 ± 22,89		69	16,36 ± 19,81	

1-Teste não paramétrico de Mann-Whitney; * Estatisticamente significante ($p < 0,05$) 3 -p-valor comparando cada genótipo com o valor de referência nos grupos

Artigo 3

Polimorfismos do gene *VDR* (FOKI, CDX2 E GATA) e susceptibilidade à periodontite crônica em indivíduos diabéticos e em não diabéticos. Estudo Caso - Controle

Pinho^{1*}, Roberto Carlos Mourão; Dias¹, Rayanne Soraia Aguiar de Melo; Bandeira^{2,3}, Francisco; Rodrigues⁴, Jessyca Kalyne Farias; Celerino da Silva⁴, Ronaldo; Crovella^{4,5}, Sergio; Cimões¹, Renata

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brasil.

²Divisão de Diabetes e Endocrinologia, Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife-PE, Brasil

³Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade de Pernambuco (UPE), Recife - PE, Brasil.

⁴Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), , Recife - PE, Brasil.

⁵Departamento de Genética, Centro de Biociências (CB), Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.

*Autor correspondente

RESUMO

O objetivo foi avaliar a distribuição do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) no Receptor da Vitamina D VDR nas variantes FOKI, (rs2228570), CDX2 (rs 47908762) e GATA (rs 4516035) em indivíduos com Diabetes Melitus tipo 2(DM2)+Periodontite crônica (PC), em indivíduos com apenas PC e sem DM2 e em indivíduos saudáveis, e sua relação com a susceptibilidade a PC. O estudo contou com a participação de 280 indivíduos (116 DM2+PC, 95 com apenas PC e 69 indivíduos saudáveis), os quais foram genotipados por PCR em tempo real utilizando sondas alelo-específicas. Diferenças significativas ($p\text{-value}<0,05$) foram observadas entre os grupos para variáveis sócio-epidemiológicas (sexo, estado civil, renda, tabagismo, escolaridade) e clínico-epidemiológicas (idade, número de dentes, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice de sangramento, índice de placa). Com relação a distribuição alélica e genotípica, o SNP do VDR rs 4516035(GATA)T/C, o alelo C foi mais frequente entre indivíduo DM2 + PC ($p=0,022$) e naqueles apenas com PC, Similarmente, o genótipo CC foi mais frequente entre indivíduos DM2+PC e também no grupo PC ($p=0,015$), sugerindo uma associação desses genótipos com a presença de PC.

PALAVRAS-CHAVE: Diabetes Mellitus tipo 2, Periodontite Crônica, VDR. *FokI*, GATA, CDX2.

A periodontite é uma doença inflamatória, iniciada e mantida pela placa bacteriana e seus produtos metabólicos, os quais desencadeiam infiltração local de células inflamatórias, causando a destruição dos tecidos conectivo e ósseo, estimulando reação inflamatória local e ativação imunológica [1–3]. Apresenta-se de duas formas: a agressiva e a crônica [4,5].

A periodontite crônica (PC) é caracterizada por um longo período de exposição aos patógenos periodontais, que causam danos lentos e progressivos às estruturas de suporte dentário [2,6]. A PC possui caráter multifatorial, onde fatores genéticos e ambientais (medicamentos, estresse, tabagismo e o diabetes mellitus) têm sido relacionados com o seu desenvolvimento [7,8].

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico, de múltiplas etiologias e caráter crônico, caracterizado por hiperglicemia crônica e comprometimento do metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, resultado de defeitos na secreção e/ou ação da insulina [9]. O DM é classificado, de acordo com a sua etiologia, em: gestacional, DM tipo 1 (DM1) e DM tipo 2 (DM2) [10].

Na população diabética, a susceptibilidade à periodontite está aumentada cerca de três vezes, principalmente, em indivíduos com pobre controle glicêmico e, por isso, a PC é considerada a sexta complicação clássica do DM, havendo uma relação bidirecional entre as duas enfermidades [11–14].

De forma geral, a infecção bacteriana causadora da periodontite não difere entre indivíduos não-diabéticos e diabéticos. No entanto, a resposta imune a infecção periodontal é bastante diferenciada em indivíduos DM2, visto que, esses não desenvolvem anticorpos para os patógenos associados com a periodontite [15].

Neste complexo sistema de equilíbrio homeostático das enfermidades crônicas, a forma ativa do hormônio 1,25-Dihidróxido vitamina D ($1,25[\text{OH}]_2\text{D}$) ou, simplesmente, vitamina D, tem sido elencada com de grande importância no metabolismo ósseo, na homeostase mineral e na modulação da resposta imune inata e/ou adaptativa [16–18].

A vitamina D tem sido ligada a redução do risco de doença periodontal, visto que estimula a produção de peptídeos antimicrobianos (α -/ β -defensinas, catelicidinas) [19], os quais atuam em um amplo espectro de microrganismos [20], agindo assim, como um modulador imunológico e ativador de mecanismos antiinflamatórios [17,19]

A ação da vitamina D se dar através da ativação do receptor da vitamina D (VDR), um fator de transcrição pertencente a superfamília dos receptores nucleares de hormônios esteróides [16], codificado pelo gene *VDR* (12q12-q14) e expresso em quase todas células humanas [21,22]. O VDR participa da regulação de cerca de 3% do genoma humano [23] e tem sido relacionado com a doença periodontal [24].

Polimorfismos de única base (SNPs) no gene *VDR* [como: *FokI* (rs2228570), *BsmI* (rs154410), *ApaI* (rs11168271) e *TaqI* (rs731236)] têm sido estudados no contexto da periodontite [25–29]. Outras variantes [*Cdx2* (rs11568820) e *Gata-1* (rs4516035)], apesar de estudadas em outros contextos [30–35], pouco tem sido na PC.

A variante *FokI* tem sido relacionada ao aumento do risco à periodontite agressiva generalizada na população coreana [25], e à PC na população japonesa [26]. Já a variante *TaqI* vem sendo associada ao aumentado risco de periodontite de início precoce na população chinesa [27]. Na população brasileira, as variantes *TaqI* e *BsmI* foram associadas ao risco a doença periodontal [29]. Ademais, haplótipos formados entre as variantes *BsmI*, *ApaI* e *TaqI*, foram associadas com risco à PC na população turca [28].

Considerando a influência de SNPs funcionais na expressão do *VDR*, o papel desse receptor nuclear na resposta imune e no metabolismo ósseo, e ainda a relação bidirecional entre a PC e DM2, o presente trabalho avaliou a distribuição SNPs funcionais (*FokI*, *Cdx2*, *Gata*) em *VDR* e sua relação com a PC e DM2 em uma população do nordeste do Brasil.

DESENHO DA PESQUISA E MÉTODOS

Considerações éticas

Todos os métodos utilizados no presente trabalho foram apreciados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife/PE, e pelo CEP do Hospital Agamenon Magalhães, Recife/PE (HAM). Os números dos pareceres de aprovação do CEP/ CCS/ UFPE e CEP/ HAM foram respectivamente CAAE 1310208 e CAAE 1368830

Tipo de estudo, população alvo e desenho do estudo

Foi realizado um estudo do tipo caso-controle, constituído por 280 indivíduos, sendo 116 diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 e periodontite crônica (DM2+PC), 95 diagnosticados com apenas periodontite crônica (PC) e 69 saudáveis para essas duas condições, recrutados no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM) e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Todos os indivíduos envolvidos foram provenientes do Estado de Pernambuco e recrutados baseados em critérios de inclusão/exclusão previamente estabelecidos:

- ✓ **Critérios de inclusão:** Foram incluídos no estudo, de forma geral, indivíduos com idade mínima de 35 anos e com no mínimo 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia). Os indivíduos incluídos no grupo de indivíduos DM2+PC, deveriam ser portadores de DM2 e ter diagnóstico clínico de PC. Já o grupo de indivíduos com apenas PC, deveriam ter apenas diagnóstico clínico de PC. Os indivíduos sem DM2 e PC, foram incluídos no grupo de controles saudáveis.
- ✓ **Critérios de exclusão:** Foram excluídos no estudo - indivíduos que tinham usado antibióticos (nos últimos 6 meses) e anti-inflamatórios de forma crônica; com condições que comprometessem a imunidade sistêmica; submetidos a tratamento periodontal (nos últimos 6 meses); grávidas ou lactantes; fumantes e com aparelho ortodôntico.

Aspectos Clínicos

A PC foi caracterizada pela presença de inflamação (sangramento à sondagem), aumento da profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, segundo a Associação Americana de Periodontia [4,5]. O diagnóstico, se baseou em parâmetros clínicos e radiográficos, onde nem sempre todos estavam presentes; e com base nestes parâmetros, a PC pode ser classificada em: leve, moderada ou severa (quanto à severidade) e em localizada ou generalizada (quanto à extensão).

Para cada indivíduo foi preenchido um periograma, no qual constaram dados sobre: presença de placa visível (PPV), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), perda de inserção clínica (ou nível de inserção clínica – NIC), mobilidade

e presença de envolvimento de furca. Para cada dente foram sondados seis sítios: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual. O exame foi realizado com luz artificial e usando odontoscópio e sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (Trinity®). Durante todo o processo, três examinadores e anotador calibrados fizeram os exames clínicos e o registro nas fichas dos indivíduos (valores de concordância Kappa 0,80).

Após o exame clínico foi realizada a coleta de saliva em tubos do tipo Falcon (15 ml) estéreis, solicitando ao indivíduo cuspir por 3 minutos. O material coletado foi armazenado no freezer a -20° para posterior isolamento do material genético.

Isolamento do material genético, escolha do polimorfismo e genotipagem

O DNA presente na saliva foi extraído por meio do kit comercial de purificação de DNA genômico (Wizard®Promega), seguindo o protocolo do fabricante para amostras de sangue. O material foi quantificado utilizando nanodrop (Thermo Fischer®), e mantidos a temperatura de -20°C até as análises.

A escolha dos polimorfismos foi baseada em sua importância funcional (expressão) e nos valores de MAF (Minor Allele Frequency) superiores a 0,1 (10%) em populações africanas e caucasianas, de acordo com as bases de dados 1000 genomas [36]. Os polimorfismos escolhidos foram: rs2228570 G/A (*Fok1*); rs4516035 T/C (*Gata*) e rs11568820 C/T (*Cdx2*).

A genotipagem foi realizada por PCR em tempo real utilizando sondas alelo específicas (TaqMan®), em termociclador ABI 7500 (Applied Biosystems®).

Análises Estatísticas

As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas por contagem direta, enquanto que a aderência ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificada através do teste Qui-Quadrado. As possíveis associações foram aferidas através do teste Exato de Fisher, utilizando tabelas de contingência (2x2) no programa R [37]. Para as análises, considerou-se o intervalo de confiança de 95% (IC95%), e os valores de p-value<0,05 como significativo.

O teste de independência da Razão de Verossimilhança foi aplicado para verificar associações com o genótipo quando não houve possibilidade de aplicar o teste Qui-quadrado de Pearson (IBM SPSS Statistics 20.0).

3. RESULTADOS

A população estudada foi composta por duzentos e oitenta (280) indivíduos, dos quais 116 (41,5%) possuíam diagnóstico confirmado para DM2 e PC [média de idade de $58,2 \pm 9,7$ anos (variando de 20 a 80 anos)], 95 (33,9%) diagnosticados com apenas PC [média de idade de $51,1 \pm 9,6$ anos (variando de 35 a 76 anos)] e 69 (24,6%) com diagnóstico negativo para DM2 e PC (indivíduos saudáveis) [idade média de $49,6 \pm 10,7$ anos (variando de 35 a 77anos)]. Os indivíduos, em sua maioria, eram do sexo feminino (74,1%, 80% e 91,3%, respectivamente), casados (64,7%, 48,4% e 44,9%, respectivamente), com renda mensal de até 2 salários mínimos (89,6%, 75,3% e 66,7%, respectivamente), não fumantes (61,2%, 66,3% e 85,5%, respectivamente) e com ensino médio completo (escolaridade) (32,5%, 42,1% e 37,7%, respectivamente), apresentando diferenças significativas entre os grupos para essas variáveis (p-value<0,05) (Tabela 1).

Diferenças significativas entre aos grupos também foram observadas para as variáveis clínico-epidemiológicas (variáveis quantitativas): idade, renda mensal, número de dentes, profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), índice de sangramento e índice de placa (Tabela 2). Os indivíduos DM2+PC e PC possuíam maior média de idade e menor renda mensal que os indivíduos saudáveis. Quanto aos parâmetros clínicos, os indivíduos DM2+PC e PC possuíam em média um menor número de dentes e uma maior profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice de sangramento e de placa que os indivíduos saudáveis.

Diferenças significativas entre os grupos, também foram observadas para a distribuição alélica e genotípica para o VDR SNP rs4516035 (*Gata*) (Tabela 3). O alelo C foi, significativamente, mais frequente entre indivíduos saudáveis (34,8%) que em indivíduos DM2+PC (23,5%; OR=0,58; IC95%=0,35-0,94; p-value=0,022). Similarmente, o genótipo CC foi, significativamente, mais frequente em indivíduos saudáveis (11,6%) que em indivíduos DM2+PC (2,6%; OR=0.17; IC95%=0.03-0.79; p-value=0.015), sugerindo que a presença destes variantes podem conduzir a uma menor susceptibilidade a DM2+PC. Os demais SNPs não apresentaram diferenças significativas entre os grupos analisados (Tabela 3).

Adicionalmente, os SNPs rs4516035 (*Gata*) e rs11569920 (*Cdx2*) do *VDR* apresentavam um moderado desequilíbrio de ligação ($D' > 0.8$), formando 4 possíveis haplótipos (Tabela 4), no entanto sem diferenças significativas entre os grupos.

Diferenças significativas foram observadas para distribuição genotípica de acordo com as médias das variáveis clínicas para o SNP rs2228570 (*FokI*) nos indivíduos DM2+PC e em controles saudáveis (Tabela 5). Em indivíduos DM2+PC, a média de profundidade de sondagem em indivíduos com genótipo AA (1,99; p-value=0,032) foi significativamente menor que indivíduos GG (2,57). Já entre controles saudáveis, indivíduos com genótipo GA (12,86; p-value=0,036) diferiram significativamente de indivíduos com genótipo GG (19,51) em relação a média do índice de placa. Diferenças significativas não foram observadas para as variáveis nos indivíduos PC, bem como, não foram observadas diferenças para os demais SNPs estudados.

Em relação severidade, extensão e classificação da periodontite entre os indivíduos DM2+PC e PC, e a distribuição genotípica dos SNPs em *VDR*, diferenças significativas, também foram observadas (Tabelas 6 e 7). Em relação a distribuição genotípica do SNP rs2228570 (*FokI*), diferenças significativas foram observadas quanto a extensão da PC (p-value= 0,018) entre indivíduos DM2+PC. Já entre os indivíduos PC, diferenças significativas foram observadas quanto a severidade (p-value=0,022) para o *FokI* (Tabela 6). Por outro lado, diferenças significativas foram observadas entre a distribuição genotípica do SNP rs4516035 (*Gata*) e a extensão da PC em indivíduos com apenas PC (p-value= 0,005) (Tabela 7).

DISCUSSÃO

A PC, sexta complicação clássica da DM2, é uma doença infecto-inflamatória, iniciada e mantida pela resposta imune alterada contra periodontopatógenos, que inflamam o periodonto e destroem os tecidos conectivo e ósseo [2]. A vitamina D e polimorfismos em seu receptor (*VDR*) têm sido relacionados com a modulação do risco de doenças periodontais [17].

Neste sentido, o presente estudo avaliou a distribuição de SNPs funcionais (rs2228570 – *FokI*; rs4516035 – *Gata*; rs11568820 – *Cdx2*) no gene *VDR* em indivíduos DM2+PC, PC e saudáveis e suas possíveis implicações na modulação da susceptibilidade a DM2 e a PC em indivíduos do Nordeste do Brasil. Associações significativas foram

observadas entre os grupos para características epidemiológicas (idade, sexo, estado civil, renda mensal, tabagismo e escolaridade) e clínicas (número de dentes, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica, índice de sangramento e de placa).

Indivíduos portadores da variante CC do SNP rs4516035 (*Gata*) no *VDR*, apresentaram uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento conjunto do DM2 e PC. O alelo T do SNP rs4516035 (*Gata*), situado no promotor 1A do *VDR*, forma um sítio de ligação putativo para GATA-3 [35], um fator de transcrição que direciona a polarização de células T naïve para células Th2. Em troca, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ regula para cima a expressão de GATA-3 [38].

Análises *in vitro* tem mostrado que o alelo C (rs4516035) possui taxa de transcrição 2 vezes menor que o alelo T, o que pode acarretar em uma menor expressão do receptor *VDR*, uma redução da eficiência de sinalização da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e uma redução na estimulação da produção de peptídeos antimicrobianos [19,34,39], conduzindo a uma maior susceptibilidade a doença periodontal. No entanto, nossos resultados mostram uma inflação tanto do alelo C quanto do genótipo CC em indivíduos saudáveis, havendo assim, necessidade de estudos mais aprofundados acerca do papel desse variante no contexto do desenvolvimento de DM2 e PC.

Para as variantes de *FokI* (rs2228570), apesar de associações prévias, com o risco ao desenvolvimento de PC em outras populações [25,26], não foram observados diferenças significativas entre os grupos em nossa população, corroborando outros achados da literatura [24,40–42]. Com relação aos variantes de *Cdx2* (rs11568820) também não verificamos associações significativas com a DM2 e PC em nossa população, corroborando outros estudos no contexto das doenças periodontais [32,43,44].

Apesar de não observamos diferenças entre os grupos quanto a distribuição genotípica, diferenças intragrupos foram observadas. O genótipo AA do SNP rs2228570 (*FokI*) apresentou uma menor média de profundidade de sondagem em comparação ao genótipo GG, em indivíduos DM2+PC, sugerindo um papel protetor. Já entre os controles saudáveis, o genótipo GA também apresentou uma menor média do índice de placa em comparação com o genótipo GG, sugerindo também um papel protetor.

Adicionalmente, a distribuição genotípica de SNP rs2228570 (*FokI*) também foi relacionada com a extensão da PC em indivíduos DM2+PC e com a severidade em

indivíduos PC, sugerindo sua associação com a PC. Para o SNP rs4516035 (*Gata*) também foi observado relação com a extensão da PC em indivíduos com apenas PC, sugerindo que para o genótipos TT e TC não apresenta uma natureza protetora.

A distribuição genotípica de SNPs em VDR e suas implicações na susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos diabéticos e não-diabéticos em uma população do Nordeste do Brasil, apresentou um caráter inovador, dando pista do papel da variabilidade genética humana no contexto da PC.

Mesmo com um número pequeno de amostras biológicas, devido aos rígidos critérios de inclusão e exclusão usados no estudo, sugere-se que as variantes C e CC do SNP rs4516035 (*Gata*) do VDR diminuem a susceptibilidade ao desenvolvimento conjunto de DM2 e PC, sendo esta a primeira descrição na literatura. No entanto, novos estudos com maior número de amostras biológicas e em outras populações, bem como, com análises funcionais, são encorajadas afim de esclarecer o real papel destas variantes no contexto da PC.

REFERÊNCIAS

1. Knight ET, Liu J, Seymour GJ, Faggion CM, Cullinan MP. Risk factors that may modify the innate and adaptive immune responses in periodontal diseases. *Periodontol.* 2000. 2016;71:22–51.
2. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2017;3:17038.
3. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol.* 2000. Wiley Online Library; 1997;14:33–53.
4. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann. Periodontol.* 1999;4:1–6.
5. American Academy of Periodontology. American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J. Periodontol.* 2015;86:835–8.

6. Elangovan S, Hertzman-Miller R, Karimbux N, Giddon D. A framework for physician-dentist collaboration in diabetes and periodontitis. *Clin. Diabetes. American Diabetes Association*; 2014;32:188–92.
7. Van Dyke TE, Sheilesh D. Risk factors for periodontitis. *J. Int. Acad. Periodontol.* 2005;7:3–7.
8. Negrato CA, Tarzia O, Jovanović L, Eduardo L, Chinellato M, Jovanovic L, et al. Periodontal disease and diabetes mellitus. *J Appl Oral Sci.* 2013;21:1–12.
9. Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Izumi Y, Kanazawa M, Matsuo A, et al. Effect of glycemic control on periodontitis in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *J. Diabetes Investig.* 2013;4:320–5.
10. Atkinson MA, Maclaren NK. What causes diabetes? *Sci. Am.* 1990;263:62–3, 66–71.
11. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontol.* 2000. 2007;44:127–53.
12. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br. Dent. J.* 2014;217:433–7.
13. Rocha M, Nava LE, Vázquez de la Torre C, Sánchez-Márin F, Garay-Sevilla ME, Malacara JM. Clinical and radiological improvement of periodontal disease in patients with type 2 diabetes mellitus treated with alendronate: a randomized, placebo-controlled trial. *J. Periodontol.* 2001;72:204–9.
14. Saini R, Saini S, Sugandha R. Periodontal disease: The sixth complication of diabetes. *J. Family Community Med.* 2011;18:31.
15. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2008;79:637–46.
16. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004;80:1689–96.
17. Andrukhov O, Andrukhova O, Hulan U, Tang Y, Bantleon H-P, Rausch-Fan

- X. Both 25-hydroxyvitamin-D3 and 1,25-dihydroxyvitamin-D3 reduces inflammatory response in human periodontal ligament cells. *PLoS One*. 2014;9:e90301.
18. Bikle DD. What is new in vitamin D: 2006-2007. *Curr. Opin. Rheumatol*. 2007;19:383–8.
19. Schaubert J, Gallo RL. Antimicrobial peptides and the skin immune defense system. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2008;122:261–6.
20. Pérez-Chaparro PJ, Gonçalves C, Figueiredo LC, Faveri M, Lobão E, Tamashiro N, et al. Newly Identified Pathogens Associated with Periodontitis. *J. Dent. Res*. 2014;93:846–58.
21. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol.Rev*. 2000;22:203–17.
22. Zhou H, Xu C, Gu M. Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and Graves' disease: a meta-analysis. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2009;70:938–45.
23. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr. Rev*. 2008. p. 726–76.
24. Tobón-Arroyave SI, Isaza-Guzmán DM P-TN, Tobón-Arroyave SI, Maria Isaza-Guzmán D, Pineda-Trujillo N. Association study of vitamin D receptor (VDR) - related genetic polymorphisms and their haplotypes with chronic periodontitis in a colombian population. *J. Clin. Diagnostic Res. JCDR Research & Publications Private Limited*; 2017;11:ZC60–6.
25. Park KS, Nam JH, Choi J. The short vitamin D receptor is associated with increased risk for generalized aggressive periodontitis. *J. Clin. Periodontol*. 2006;33:524–8.
26. Naito M, Miyaki K, Naito T, Zhang L, Hoshi K, Hara A, et al. Association between vitamin D receptor gene haplotypes and chronic periodontitis among Japanese men. *Int. J. Med. Sci*. 2007;4:216–22.
27. Sun JL, Meng HX, Cao CF, Tachi Y, Shinohara M, Ueda M, et al. Relationship

between vitamin D receptor gene polymorphism and periodontitis. *J. Periodontal Res.* 2002;37:263–7.

28. Gunes S, Sumer a P, Keles GC, Kara N, Koprulu H, Bagci H, et al. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. *Indian J. Med. Res.* 2008;127:58–64.

29. de Brito Júnior RB, Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, de Souza AP, Barros SP. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene are associated with periodontal disease. *J. Periodontol.* 2004;75:1090–5.

30. De Jongh RT, Lips P, Rijs KJ, Van Schoor NM, Kramer MHH, Vandenbroucke JP, et al. Associations between vitamin D receptor genotypes and mortality in a cohort of older Dutch individuals. *Eur. J. Endocrinol.* 164:75–82.

31. Bilgin B, A N Sendur M, Akinci MB, Yalcin B. Negative CDX2 expression can be an important predictive and prognostic biomarker in stage II colon cancer. *J. BUON.* 2017;22:282–3.

32. Cogulu D, Onay H, Ozdemir Y, Aslan GI, Ozkinay F, Eronat C. The Role of Vitamin D Receptor Polymorphisms on Dental Caries. *J. Clin. Pediatr. Dent. Clinical Pediatric Dentistry*; 2016;40:211–4.

33. Gobel F, Taschner S, Jurkin J, Konradi S, Vaculik C, Richter S, et al. Reciprocal role of GATA-1 and vitamin D receptor in human myeloid dendritic cell differentiation. *Blood.* 2009;114:3813–21.

34. Fang Y, Van Meurs JBJ, D 'alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, et al. Promoter and 3'-Untranslated-Region Haplotypes in the Vitamin D Receptor Gene Predispose to Osteoporotic Fracture: The Rotterdam Study. *Am. J. Hum. Genet.* 2005;77:807–23.

35. Halsall J, Osborne J, Potter L, Pringle J, Hutchinson P. A novel polymorphism in the 1A promoter region of the vitamin D receptor is associated with altered susceptibility and prognosis in malignant melanoma. *Br. J. Cancer.* 2004;91:765–70.

36. The 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human

genetic variation. *Nature*. 2015;526:68–73.

37. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. R Found. Stat. Comput. Vienna, Austria. 2013.

38. Rengarajan J, Szabo SJ, Glimcher LH. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunol. Today*. 2000;21:479–83.

39. Rajesh N, Arun KV, Kumar TSS, Reddy KKM, Alamelu S, Reddy BR. Evaluation of mRNA expression of the transcription factors of Th1 and Th2 subsets (T-bet and GATA-3) in periodontal health and disease - A pilot study in south Indian population. *J. Indian Soc. Periodontol*. 2015;19:624–7.

40. Deng H, Liu F, Pan Y, Jin X, Wang H, Cao J. BsmI, TaqI, Apal, and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor gene and periodontitis: A meta-analysis of 15 studies including 1338 cases and 1302 controls. *J. Clin. Periodontol*. 2011;38:199–207.

41. Wang X, Zhang TL, Chen D. Lack of association between the vitamin D receptor polymorphism rs2228570 and chronic periodontitis in a Han Chinese population. *Genet. Mol. Res*. 2015;14:12299–305.

42. Wang C, Zhao H, Xiao L, Xie C, Fan W, Sun S, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and severe chronic periodontitis in a Chinese population. *J. Periodontol*. 2009;80:603–8.

43. Ślebioda Z, Szponar EE, Dorocka-Bobkowska B, Ślebioda Z, Szponar EE, Dorocka-Bobkowska B. Vitamin D and Its Relevance in the Etiopathogenesis of Oral Cavity Diseases. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. Springer International Publishing; 2016;64:385–97.

44. Martelli FS, Martelli M, Rosati C, Fanti E. Vitamin D: Relevance in dental practice. *Clin. Cases Miner. Bone Metab*. 2014;11:15–9.

45. Zheng J, He S, Qi J, Wang X, Yu J, Wu Y, et al. Targeted CDX2 expression inhibits aggressive phenotypes of colon cancer cells in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol*. 2017;51:478–88.

Tabelas

Tabela 1. Perfil epidemiológico dos indivíduos envolvidos no estudo

Variáveis Categóricas	Indivíduos						Total		p-valor
	DM2+PC		PC		Saudáveis		n	%	
	n	%	n	%	n	%			
Sexo									
Masculino	30	25,9	19	20,0	6	8,7	55	19,6	0,018 ¹
Feminino	86	74,1	76	80,0	63	91,3	225	80,4	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Estado civil									
Casado	75	64,7	46	48,4	31	44,9	152	54,3	0,017 ¹
Solteiro	23	19,8	31	32,6	19	27,5	73	26,1	
Divorciado	7	6,0	8	8,4	14	20,3	29	10,4	
Viúvo	10	8,6	10	10,5	4	5,8	24	8,6	
Ignorado	1	0,9	0	0,0	1	1,4	2	0,7	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Renda Mensal (Salários Mínimos)									
Até 2 SM	95	89,6	67	75,3	38	66,7	200	79,4	0,003 ²
De 2 a 4 SM	7	6,6	19	21,3	15	26,3	41	16,3	
De 4 a 10 SM	4	3,8	3	3,4	4	7,0	11	4,4	
Total	106	100,0	89	100,0	57	100,0	252	100,0	
Hábito de fumar									
Nunca Fumou	71	61,2	63	66,3	59	85,5	193	68,9	0,002 ¹
Ex-fumante	45	38,8	32	33,7	10	14,5	87	31,1	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Escolaridade									
Analfabeto	10	8,8	1	1,1	1	1,4	12	4,3	0,000 ²
EF incompleto	29	25,4	16	16,8	5	7,2	50	18,0	
EF completo	18	15,8	12	12,6	5	7,2	35	12,6	
EM incompleto	9	7,9	6	6,3	8	11,6	23	8,3	
EM completo	37	32,5	40	42,1	26	37,7	103	37,1	
ES incompleto	2	1,8	5	5,3	3	4,3	10	3,6	
ES completa	6	5,3	7	7,4	11	15,9	24	8,6	
Não sabe	2	1,8	7	7,4	10	14,5	19	6,8	
Ignorado	1	0,9	1	1,1	0	0,0	2	0,7	
Total	114	100,0	95	100,0	69	100,0	278	100,0	

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; SM = Salário Mínimo; EF= Ensino Fundamental; EM = Ensino Médio; ES=Ensino Superior; ¹ = Teste qui-quadrado de Pearson; ² = Teste da Razão de Verossimilhança

Tabela 2. Perfil clínico-epidemiológico dos indivíduos envolvidos no estudo (variáveis quantitativas)

Variável	N	Média ± DP	Mínimo	Máximo	Teste de Kruskal Wallis
Idade					
DM2+PC	116	58,2 ± 9,7	20,0	80,0	<0,001*
PC	95	53,0 ± 9,6	35,0	76,0	
Controles Saudáveis	69	49,6 ± 10,7	35,0	77,0	
Renda Mensal (Salários Mínimos)					
DM2+PC	106	1,6 ± 1,2	0,0	10,0	0,004*
PC	89	1,6 ± 1,3	0,0	7,0	
Controles Saudáveis	57	2,2 ± 1,5	1,0	7,0	
Número de dentes					
DM2+PC	116	15,8 ± 5,6	8,0	28,0	<0,001*
PC	95	17,7 ± 5,6	8,0	29,0	
Controles Saudáveis	69	20,2 ± 5,8	8,0	28,0	
Profundidade de Sondagem					
DM2+PC	116	2,4 ± 0,7	1,3	5,2	<0,001*
PC	95	2,3 ± 0,6	1,3	4,4	
Controles Saudáveis	69	1,9 ± 0,3	1,2	2,8	
Média Nível de Inserção Clínica					
DM2+PC	116	3,9 ± 1,7	1,6	10,2	<0,001*
PC	95	3,5 ± 1,7	1,6	11,9	
Controles Saudáveis	69	2,1 ± 0,4	1,3	3,8	
Índice de sangramento (%)					
DM2+PC	116	11,6 ± 14,3	0,0	100,0	<0,000*
PC	95	15,4 ± 14,0	0,0	50,0	
Controles Saudáveis	69	5,1 ± 6,7	0,0	36,4	
Índice de placa (%)					
DM2+PC	116	26,0 ± 25,4	0,0	100,0	0,003*
PC	95	25,0 ± 22,9	0,0	100,0	
Controles Saudáveis	69	16,4 ± 19,8	0,0	100,0	

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; n= número amostral; DP= Desvio Padrão

Tabela 3. Distribuição Alélica e Genotípica de polimorfismos de única base (SNPs) no gene *VDR* em uma população do Estado de Pernambuco.

SNPs/ Alelos/ Genótipos	Indivíduos			DM2+PC vs. Saudáveis	Teste Exato de Fisher OR (IC95%), p-value		DM2+PC vs. PC
	DM2+PC n=115	PC n=95	Saudáveis n=69		PC vs. Saudáveis		
rs2228570 G>A (<i>FokI</i>)							
G	157 (68,3)	140 (73,7)	102 (73,9)	Referência	Referência	Referência	
A	73 (31,7)	50 (26,3)	36 (26,1)	1.32 (0.80-2.18), 0.289	1.01 (0.60-1.72), 1.000	1.30 (0.83-2.04), 0.237	
GG	50 (43,5)	52 (54,7)	39 (56,5)	Referência	Referência	Referência	
GA	57 (49,6)	36 (37,9)	24 (34,8)	1.84 (0.94-3.68), 0.06	1.12 (0.55-2.31), 0.739	1.64 (0.90-3.03), 0.113	
AA	8 (6,9)	7 (7,4)	6 (8,7)	1.04 (0.29-3.96), 1.00	0.88 (0.23-3.43), 1.000	1.19 (0.35-4.16), 0.789	
EHW	χ²=2,381 p=0.123	χ²=0,050 p=0,824	χ²=0,663 p=0.415				
rs4516035 T>C (<i>Gata1</i>)							
T	176 (76,5)	141 (74,2)	90 (65,2)	Referência	Referência	Referência	
C	54 (23,5)	49 (25,8)	48 (34,8)	0.58 (0.35-0.94), 0.022*	0.65 (0.39-1.08), 0.087	0.88 (0.55-1.41), 0.689	
TT	64 (55,6)	50 (52,6)	29 (42,0)	Referência	Referência	Referência	
TC	48 (41,7)	41 (43,2)	32 (46,4)	0.68 (0.35-1.33), 0.265	0.74 (0.37-1.49), 0.410	0.91 (0.50-1.66), 0.777	
CC	3 (2,6)	4 (4,2)	8 (11,6)	0.17 (0.03-0.79), 0.015*	0.29 (0.06-1.21), 0.062	0.59 (0.08-3.65), 0.699	
EHW	χ²=3,004 p=0.083	χ²=1,545 p=0.214	χ²=0,101 p=0.853				
rs11568820 C>T (<i>Cdx2</i>)							
C	124 (53,9)	113 (59,5)	82 (59,4)	Referência	Referência	Referência	
T	106 (46,1)	77 (40,5)	56 (40,6)	1.25 (0.80-1.97), 0.330	1.00 (0.62-1.60), 1.000	1.25 (0.83-1.89), 0.277	
CC	36 (31,3)	32 (33,7)	25 (36,2)	Referência	Referência	Referência	
CT	52 (45,2)	49 (51,6)	32 (46,4)	1.13 (0.54-2.33), 0.734	1.19 (0.57-2.51), 0.726	0.94 (0.49-1.83), 0.876	
TT	27 (23,5)	14 (14,7)	12 (17,4)	1.56 (0.62-4.04), 0.396	0.91 (0.32-2.58), 1.000	1.70 (0.72-4.17), 0.231	
EHW	χ²=0,933 p=0.334	χ²=0,465 p=0.495	χ²=0,101 p=0.750				

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; EHW= Equilíbrio de Hardy-Weinberg; OR= Odds ratio; IC95%= Intervalo de confiança de 95%; vs=versus.

Tabela 4. Distribuição haplotípica de SNPs do gene *VDR* em uma população do Estado de Pernambuco

Haplótipos		Indivíduos			Teste Exato de Fisher OR (IC95%), p-value		
Gata1	Cdx2	DM2+PC	PC	Saudáveis	DM2+PC vs. Saudáveis	PC vs. Saudáveis	DM2+PC vs. PC
		2n=230	2n=19 0				
				2n=138			
T	C		86		Referência	Referência	Referência
		96 (41,7)	(45,3)	55 (39,9)			
T	T		55		1.31 (0.76-2.28), 0.360	1.00 (0.56-1.80), 1.000	1.30 (0.81-2.10), 0.256
		80 (34,8)	(28,9)	35 (25,4)			
C	C		27		0.59 (0.30-1.17), 0.110	0.64 (0.32-1.26), 0.641	0.93 (0.49-1.78), 0.878
		28 (12,2)	(14,2)	27 (19,6)			
C	T		22		0.71 (0.35-1.46), 0.391	0.67 (0.32-1.41), 0.290	1.06 (0.53-2.12), 0.873
		26 (11,3)	(11,6)	21 (15,2)			

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; EWH= Equilíbrio de Hardy-Weinberg; OR= Odds ratio; IC95%= Intervalo de confiança de 95%; vs=versus.

Tabela 5. Distribuição genotípica do SNP rs2228570 (FokI) VDR segundo as médias das variáveis clínicas em indivíduos DM2+PC, apenas PC e controles saudáveis.

Variáveis Clínicas	Genótipos	Indivíduos								
		DM2+PC			PC			Controles Saudáveis		
		n	Média ± DP	p-valor #	n	Média ± DP	p-valor #	n	Média ± DP	p-valor #
Profundidade de Sondagem	GG	50	2,57 ± 0,80	ref.	51	2,27 ± 0,62	ref.	39	1,88 ± 0,28	ref.
	GA	57	2,41 ± 0,51	0,676	37	2,37 ± 0,52	0,069	24	1,81 ± 0,38	0,269
	AA	8	1,99 ± 0,48	0,032*	7	2,12 ± 0,40	0,685	6	1,93 ± 0,15	0,776
Nível de Inserção Clínica	GG	50	4,07 ± 1,82	ref.	51	3,61 ± 1,78	ref.	39	2,17 ± 0,47	ref.
	GA	57	3,85 ± 1,56	0,755	37	3,54 ± 1,71	0,560	24	2,08 ± 0,43	0,506
	AA	8	3,35 ± 1,49	0,223	7	2,80 ± 0,83	0,112	6	2,16 ± 0,30	0,751
Índice de Sangramento (%)	GG	50	14,07 ± 18,62	ref.	51	15,96 ± 12,75	ref.	39	5,56 ± 7,00	ref.
	GA	57	9,84 ± 9,74	0,607	37	14,39 ± 15,64	0,251	24	4,53 ± 6,49	0,474
	AA	8	10,01 ± 10,10	0,901	7	16,76 ± 16,11	0,914	6	4,35 ± 6,75	0,702
Índice de Placa (%)	GG	50	25,78 ± 25,72	ref.	51	24,39 ± 23,83	ref.	39	19,51 ± 19,35	ref.
	GA	57	25,63 ± 24,80	0,985	37	26,15 ± 23,84	0,542	24	12,86 ± 22,16	0,036*
	AA	8	33,35 ± 30,39	0,428	7	23,32 ± 7,19	0,527	6	9,87 ± 6,80	0,292

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; n= número amostral; DP= Desvio Padrão; ref.= referência; #= Teste de Mann-Whitney

Tabela 6. Distribuição genotípica do SNP rs2228570 (FokI) *VDR* segundo a severidade, extensão e severidade/extensão da periodontite crônica em indivíduos DM2+PC e apenas PC.

Classificação		Indivíduos DM2+PC			p-valor [#]	Indivíduos PC			p-valor [#]
		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)		AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	
Severidade									
Leve		3 (37,5)	9 (15,8)	9 (18,0)	0,621	1 (14,3)	10 (27,0)	5 (9,8)	0,022*
Moderada		2 (25,0)	26 (45,6)	19 (38,0)		5 (71,4)	7 (18,9)	17 (33,3)	
Severa		3 (37,5)	22 (38,6)	22 (44,0)		1 (14,3)	20 (54,1)	29 (56,9)	
Extensão									
Localizada		5 (62,5)	9 (15,8)	8 (16,0)	0,018*	4 (57,1)	11 (29,7)	9 (17,6)	0,072
Generalizada		3 (37,5)	48 (84,2)	42 (84,0)		3 (42,9)	26 (70,3)	42 (82,4)	
Classificação da Periodontite									
Leve	Localizada	3 (37,5)	6 (10,5)	5 (10,0)	0,222	1 (14,3)	7 (18,9)	4 (7,8)	0,126
	Generalizada	0 (0,0)	3 (5,3)	4 (8,0)		0 (0,0)	3 (8,1)	2 (3,9)	
Moderada	Localizada	1 (12,5)	3 (5,3)	3 (6,0)		3 (42,9)	1 (2,7)	4 (7,8)	
	Generalizada	1 (12,5)	23 (40,4)	16 (32,0)		2 (28,6)	6 (16,2)	12 (23,5)	
Severa	Localizada	1 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)		0 (0,0)	3 (8,1)	2 (3,9)	
	Generalizada	2 (25,0)	22 (38,6)	22 (44,0)		1 (14,3)	17 (45,9)	27 (52,9)	

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; n= número amostral; ref.= referência; #= Teste da razão de verossimilhança.

Tabela 7. Distribuição genotípica do SNP rs4516035 (*Gata1*) VDR segundo a severidade, extensão e severidade/extensão da periodontite crônica em indivíduos DM2+PC e apenas PC.

Classificação		Indivíduos DM2+PC			p-valor [#]	Indivíduos PC			p-valor [#]
Genótipos		CC n (%)	TC n (%)	TT n (%)		CC n (%)	TC n (%)	TT n (%)	
Severidade									
Leve		1 (33,3)	9 (18,8)	11 (17,2)	0,816	0 (0,0)	9 (21,4)	7 (14,3)	0,169
Moderada		1 (33,3)	17 (35,4)	29 (45,3)		0 (0,0)	14 (33,3)	15 (30,6)	
Severa		1 (33,3)	22 (45,8)	24 (37,5)		4 (100,0)	19 (45,2)	27 (55,1)	
Extensão									
Localizada		1 (33,3)	7 (14,6)	14 (21,9)	0,516	0 (0,0)	17 (40,5)	7 (14,3)	0,005*
Generalizada		2 (66,7)	41 (85,4)	50 (78,1)		4 (100,0)	25 (59,5)	42 (85,7)	
Classificação da Periodontite									
Leve	Localizada	1 (33,3)	6 (12,5)	7 (10,9)	0,801	0 (0,0)	8 (19,0)	4 (8,2)	0,172
	Generalizada	0 (0,0)	3 (6,3)	4 (6,3)		0 (0,0)	1 (2,4)	4 (8,2)	
Moderada	Localizada	0 (0,0)	1 (2,1)	6 (9,4)		0 (0,0)	6 (14,3)	2 (4,1)	
	Generalizada	1 (33,3)	16 (33,3)	23 (35,9)		0 (0,0)	8 (19,0)	12 (24,5)	
Severa	Localizada	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,6)		0 (0,0)	3 (7,1)	2 (4,1)	
	Generalizada	1 (33,3)	22 (45,8)	23 (35,9)		4 (100,0)	16 (38,1)	25 (51,0)	

DM2+PC= Diabetes Mellitus e Periodontite Crônica; PC= Periodontite Crônica; * p-value significativo; n= número amostral; ref.= referência; #= Teste da razão de verossimilhança.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo caso-controle, foi composto por uma etapa clínica e outra laboratorial. As avaliações clínicas dos indivíduos, assim como a coleta de material biológico para estudo dos polimorfismos genéticos da β defensina 1, do VDR, do DC-SIGN e a sua provável associação com a periodontite crônica em indivíduos diabéticos, não diabéticos e saudáveis foram os objetivos e envolveu uma amostra aleatória de 280 indivíduos, sendo 116 com DM2 e PC, 95 com PC e 69 indivíduos no grupo controle.

Os resultados para a população pesquisada apontam que as variações genéticas de *DEFB1* (SNP -20: alelo G e genótipos GA e GG) podem estar associadas com uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento de PC, em indivíduos diabéticos tipo 2 e não diabéticos.

O genótipo GG do SNP **rs4804803 (-336) do DC- SIGN** apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos diabéticos x controle saudáveis ($p=0,028$), portanto uma menor susceptibilidade ao desenvolvimento de PC em indivíduos portadores de DM2 relacionada ao genótipo GG (rs4804803) de *DC-SIGN*.

Para o SNP do VDR rs 4516035(GATA) T/C, o alelo C foi mais frequente entre indivíduos DM2 + PC e naqueles apenas com PC. O genótipo CC foi mais frequente entre indivíduos DM2+PC e também no grupo PC, sugerindo uma associação desses genótipos com a proteção à PC, em indivíduos com e sem DM2.

REFERÊNCIAS

- ABIKO, Y.; NISHIMURA, M.; KAKU, T. Defensins in saliva and the salivary glands. **Medical Electron Microscopy**, v. 36, n. 4, p. 247–252, 1 dez. 2003.
- AGRALI, O. B.; KURU, B. E. Periodontal treatment in a generalized severe chronic periodontitis patient: A case report with 7-year follow-up. **European journal of dentistry**, v. 9, n. 2, p. 288–92, 2015.
- ALAGARASU, K. et al. Association of promoter region polymorphisms of CD209 gene with clinical outcomes of dengue virus infection in Western India. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 17, p. 239–242, jul. 2013.
- ALBANDAR, J. M.; RAMS, T. E. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. **Periodontology 2000**, v. 29, n. 1, p. 7–10, jun. 2002.
- ALGHODAIER, H. et al. Validation of a diabetes numeracy test in Arabic. **Plos One**, vol 12, n.5, p. e0175442, 2017.
- ALLEN, P. F.; MCMILLAN, A. S.; LOCKER, D. An assessment of sensitivity to change of the Oral Health Impact Profile in a clinical trial. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 29, n. 3, p. 175-82, Jun 2001. ISSN 0301-5661 (Print)0301-5661. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
- ALLEN, P. F. et al. A comparison of the validity of generic- and disease-specific measures in the assessment of oral health-related quality of life. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 27, n. 5, p. 344-52, Oct 1999. ISSN 0301-5661 (Print)0301-5661. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

ALNAEELI, M.; PENNINGER, J. M.; TENG, Y.-T. A. Immune interactions with CD4+ T cells promote the development of functional osteoclasts from murine CD11c+ dendritic cells. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 177, n. 5, p. 3314–26, 1 set. 2006.

American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions. **Journal of Periodontology**, v. 86, n. 7, p. 835–838, jul. 2015.

ANAND, N.; CHANDRASEKARAN, S. C.; RAJPUT, N. S. Vitamin D and periodontal health: Current concepts. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 17, n. 3, p. 302–8, maio 2013.

ARAUJO, A. C. et al. Impact of periodontal disease on quality of life. **Quintessence Int**, v. 41, n. 6, p. e111-8, Jun 2010. ISSN 0033-6572. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

ARMITAGE, G. C. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. **Annals of Periodontology**, v. 4, n. 1, p. 1–6, dez. 1999.

ARSLAN, F. et al. Chronic tonsillitis is not associated with beta defensin 1 gene polymorphisms in Turkish population. **International journal of pediatric otorhinolaryngology**, v. 79, n. 4, p. 557-560, 2015.

BALDINI, A. et al. Association between periodontal disease and Interleukin-1 β +3953 and vitamin D receptor Taq1 genetic polymorphisms in an Italian caucasian population. **Annali di stomatologia**, v. 4, n. 2, p. 191–5, 2013.

BARRETT, J. C. et al. Haploview: Analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, v. 21, n. 2, p. 263–265, 2005.

BELLINI, M. et al. Dental phobia in dentistry patients. **Minerva Stomatol**, v. 57, n. 10, p. 485-95, Oct 2008. ISSN 0026-4970. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19078890> >.

BELLO, D. M. A. et al. Comparação de critérios de diagnóstico clínico de periodontite em diabéticos. **Braz J Periodontol**, v. 26, n. 3, p. 14–18, 2016.

BODINEAU A, COULOMB B, FOLLIGUET M, IGONDJO-TCHEN S, GODEAU G, BROUSSE N, et al. Do Langerhans cells behave similarly in elderly and younger patients with chronic periodontitis? **Arch Oral Biol** [Internet]. 2007 Feb [cited 2017 Jul 20];52(2):189–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996906002329>.

BODINEAU A, COULOMB B, TEDESCO AC, SÉGUIER S. Increase of gingival matured dendritic cells number in elderly patients with chronic periodontitis. **Arch Oral Biol** [Internet]. 2009 Jan [cited 2017, Jul 20];54(1):12–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996908001866>

BOKS, M. A. et al. The Human Glycoprotein Salivary Agglutinin Inhibits the Interaction of DC-SIGN and Langerin with Oral Micro-Organisms. **J Innate Immun**, v. 8, p. 350–361, 2016.

BORONAT-CATALÁ, M.; CATALÁ-PIZARRO, M.; BAGÁN SEBASTIÁN, J.-V. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis Graduate in Dentistry. **J Clin Exp Dent. J Clin Exp Dent.I.F. B**, v. 66, n. 22, p. 175–9, 2014.

BOUILLON, R. et al. Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 6, p. 726–776, out. 2008.

BOUILLON, R.; OKAMURA, W. H.; NORMAN, A. W. Structure-Function Relationships in the Vitamin D Endocrine System*. **Endocrine Reviews**, v. 16, n. 2, p. 200–257, abr. 1995.

CAI, M. et al. DC-SIGN expression on podocytes and its role in inflammatory immune response of lupus nephritis. **Clinical and experimental immunology**, v. 183, n. 3, p. 317–25, mar. 2016.

CARRION, J. et al. Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 189, n. 6, p. 3178–87, 15 set. 2012.

CEKICI, A. et al. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. [s.d.].

CELERINO DA SILVA, R.; SEGAT, L.; CROVELLA, S. Role of DC-SIGN and L-SIGN receptors in HIV-1 vertical transmission. **Human Immunology**, v. 72, n. 4, p. 305–311, 2011.

CHANG, P.-C.; LIM, L. P. Interrelationships of periodontitis and diabetes: A review of the current literature. **Journal Of Dental Sciences**, v. 7, p. 272–282, 2012.

CHEN, D.; ZHANG, T.-L.; WANG, X. Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population. **BioMed research international**, v. 2016, p. 8389020, 2016.

CHEN, L. et al. High-throughput dynamic analysis of differentially expressed genes in splenic dendritic cells from mice infected with *Schistosoma japonicum*. **Immunology Letters**, v. 184, p. 15–22, abr. 2017.

CIMÕES, R. et al. A Fast Method for DEFB1 - 44C/G SNP Genotyping in Brazilian Patients with Periodontitis. **Acta stomatologica Croatica**, v. 48, n. 3, p. 208–15, set. 2014.

CONSORTIUM, T. 1000 G. P. A global reference for human genetic variation. **Nature**, v. 526, p. 68–73, 2015.

COX, D. G.; CANZIAN, F. Genotype transposer: automated genotype manipulation for linkage disequilibrium analysis. **Bioinformatics (Oxford, England)**, v. 17, n. 8, p. 738–739, 2001.

CURTIS, B. M.; SCHARNOWSKE, S.; WATSON, A. J. Sequence and expression of a membrane-associated C-type lectin that exhibits CD4-independent binding of human immunodeficiency virus envelope glycoprotein gp120. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 17, p. 8356–60, 1 set. 1992.

DA SILVA, R. C. et al. DC-SIGN polymorphisms are associated to type 1 diabetes mellitus. **Immunobiology**, v. 219, n. 11, p. 859–65, nov. 2014.

DAL, K. et al. The relationship between glycemic control and BNP levels in diabetic patients. **Cardiology Journal**, v. 21, n. 3, p. 252–256, 9 jun. 2014.

DALE, B. A.; FREDERICKS, L. P. Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. **Current issues in molecular biology**, v. 7, n. 2, p. 119–33, jul. 2005.

DE OLIVEIRA, B.H.; NADANOVSKY P. Psychometric properties of the Brazilian version of the Oral Health Impact Profile-short form. **Community Dent Oral Epidemiol**, 2005;33(4):307-14.

DETTOGNI, R. S. et al. Single nucleotide polymorphisms in immune system genes and their association with clinical symptoms persistence in dengue-infected persons.

Human Immunology, v. 76, n. 10, p. 717–723, out. 2015.

DHOPLE, V.; KRUKEMEYER, A.; RAMAMOORTHY, A. The human beta-defensin-3, an antibacterial peptide with multiple biological functions. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1758, n. 9, p. 1499–1512, 2006.

Acta (BBA) - Biomembranes, v. 1758, n. 9, p. 1499–1512, 2006.

DI BENEDETTO, A. et al. Periodontal Disease: Linking the Primary Inflammation to Bone Loss. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 503754, n. 7, 2013.

DIAMOND, G.; RYAN, L. Beta-defensins: what are they really doing in the oral cavity?

Oral diseases, v. 17, n. 7, p. 628–35, out. 2011.

DIVARIS, K. et al. Exploring the genetic basis of chronic periodontitis: a genome-wide association study. **Human Molecular Genetics**, v. 22, n. 11, p. 2312–2324, 1 jun. 2013.

DOSSEVA-PANOVA, V.; MLACHKOVA, A.; POPOVA, C. Gene polymorphisms in periodontitis. Overview. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 29, 2015.

EBERSOLE, J. L. et al. Microbiologic and Immunologic Characteristics of Periodontal Disease in Hispanic Americans With Type 2 Diabetes. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 4, p. 637–646, abr. 2008.

EL-AWADY, A. R.; ARCE, R. M.; CUTLER, C. W. Dendritic cells: microbial clearance via autophagy and potential immunobiological consequences for periodontal disease.

Periodontology 2000, v. 69, n. 1, p. 160–80, out. 2015.

ELANGO VAN, S. et al. A framework for physician-dentist collaboration in diabetes and periodontitis. **Clinical diabetes: a publication of the American Diabetes Association**, v. 32, n. 4, p. 188–92, out. 2014.

ERTUGRUL, A. S. et al. Gingival crevicular fluid levels of human beta-defensins 1 and 3 in subjects with periodontitis and/or type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study. **Journal of Periodontal Research**, v. 48, n. 4, p. 475–482, 2013.

FANG, Y. et al. Cdx-2 Polymorphism in the Promoter Region of the Human Vitamin D Receptor Gene Determines Susceptibility to Fracture in the Elderly. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 18, n. 9, p. 1632–1641, 1 set. 2003.

FAUL, F. et al. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. **Behavior research methods**, v. 39, n. 2, p. 175–91, maio 2007.

FELDMAN, D. Androgen and vitamin D receptor gene polymorphisms: the long and short of prostate cancer risk. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 89, n. 2, p. 109–11, 15 jan. 1997.

LOPES, M. W. F. et al. The Impact of Chronic Periodontitis on Quality of Life in Brazilian Subjects. **Acta stomatologica Croatica**, v. 43, n. 2, p. 89-98, 2015. ISSN 0001-7019. Disponível em: < <http://hrcak.srce.hr/file/61814> >. Disponível em: < <http://hrcak.srce.hr/file/61813> >.

FINGER STADLER A, PATEL M, PACHOLCZYK R, CUTLER C.W, ARCE R.M. Long-term sustainable dendritic cell-specific depletion murine model for periodontitis research. **J Immunol Methods** [Internet]. 2017 Jun 21 [cited 2017 Jul 20]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28645528>.

FRIEDEWALD, V. E. et al. *The American Journal of Cardiology* and *Journal of Periodontology* Editors' Consensus: Periodontitis and Atherosclerotic Cardiovascular Disease. **Journal of Periodontology**, v. 80, n. 7, p. 1021–1032, jul. 2009.

GANDARA, B. K.; MORTON, T. H. Non-Periodontal Oral Manifestations of Diabetes: A Framework for Medical Care Providers. **Diabetes Spectrum**, v. 24, n. 4, 2011.

GEIJTENBEEK, T. B. et al. DC-SIGN, a Dendritic Cell–Specific HIV-1-Binding Protein that Enhances trans-Infection of T Cells. **Cell**, v. 100, n. 5, p. 587–597, 2000a.

GEIJTENBEEK, T. B. et al. Identification of DC-SIGN, a Novel Dendritic Cell–Specific ICAM-3 Receptor that Supports Primary Immune Responses. **Cell**, v. 100, n. 5, p. 575–585, 2000b.

GREER, A.; ZENOBIA, C.; DARVEAU, R. P. Defensins and LL-37: a review of function in the gingival epithelium. **Periodontology 2000**, v. 63, n. 1, p. 67–79, out. 2013.

GROSS, C. et al. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal mexican-American women. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 11, n. 12, p. 1850–1855, 24 fev. 2010.

GUNES, S. et al. Analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis. **The Indian journal of medical research**, v. 127, n. 1, p. 58–64, 2008.

HAUSSLER, M. R. et al. The Nuclear Vitamin D Receptor: Biological and Molecular Regulatory Properties Revealed. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 13, n. 3, p. 325–349, 1 mar. 1998.

HOLICK, M. F. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 3, p. 362–71, mar. 2004.

IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION DIABETES. **IDF. Diabetes Atlas**. 7. ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2015.

IKUTA, T. et al. Gene polymorphism of β -defensin-1 is associated with susceptibility to periodontitis in Japanese. **Odontology / the Society of the Nippon Dental University**, v. 103, n. 1, p. 66–74, jan. 2015.

JIN, W. et al. DC-SIGN plays a stronger role than DCIR in mediating HIV-1 capture and transfer. [s.d.].

JOTWANI, R.; CUTLER, C. W. Multiple Dendritic Cell (DC) Subpopulations in Human Gingiva and Association of Mature DCs with CD4+ T-cells *in situ*. **Journal of Dental Research**, v. 82, n. 9, p. 736–741, set. 2003.

JUREVIC, R. J. et al. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: high-throughput SNP assays and association with Candida carriage in type I diabetics and nondiabetic controls. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 1, p. 90–6, jan. 2003.

KHOO, U.S. et al. DC-SIGN and L-SIGN: the SIGNS for infection. **Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)**, v. 86, n. 8, p. 861–74, 6 ago. 2008.

KIM, Y.-I. et al. An endoplasmic reticulum stress-initiated sphingolipid metabolite, ceramide-1-phosphate, regulates epithelial innate immunity by stimulating β -defensin production. **Molecular and cellular biology**, v. 34, n. 24, p. 4368–78, 15 dez. 2014.

KRISANAPRAKORNKIT, S. et al. Inducible expression of human beta-defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum* in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and the epithelial barrier. **Infection and immunity**, v. 68, n. 5, p. 2907–15, maio 2000.

LAINE, M. L.; CRIELAARD, W.; LOOS, B. G. Genetic susceptibility to periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 58, n. 1, p. 37–68, fev. 2012.

LAINE, M. L.; LOOS, B. G.; CRIELAARD, W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. **International journal of dentistry**, v. 2010, p. 324719, 2010.

LALROHLUI, F. et al. Mitochondrial complex I and V gene polymorphisms in type II diabetes mellitus among high risk Mizo-Mongoloid population , Northeast India. **Genes and Environment**, p. 1–6, 2016.

LÉGER, P. et al. Differential Use of the C-Type Lectins L-SIGN and DC-SIGN for Phlebovirus Endocytosis. **Traffic (Copenhagen, Denmark)**, v. 17, n. 6, p. 639–56, jun. 2016.

LIN, N. U. et al. A novel mutation in the deoxyribonucleic acid-binding domain of the vitamin D receptor causes hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 81, n. 7, p. 2564–9, jul. 1996.

LINZMEIER, R. M.; GANZ, T. Human defensin gene copy number polymorphisms: Comprehensive analysis of independent variation in α - and β -defensin regions at 8p22–p23. **Genomics**, v. 86, n. 4, p. 423–430, 2005a.

LINZMEIER, R. M.; GANZ, T. Human defensin gene copy number polymorphisms: comprehensive analysis of independent variation in alpha- and beta-defensin regions at 8p22-p23. **Genomics**, v. 86, n. 4, p. 423–30, out. 2005b.

LISTGARTEN, M. A. Structure of the Microbial Flora Associated with Periodontal Health and Disease in Man: A Light and Electron Microscopic Study. **Journal of Periodontology**, v. 47, n. 1, p. 1–18, jan. 1976.

LIU, P. et al. Beyond attachment: Roles of DC-SIGN in dengue virus infection. **Traffic**, v. 18, n. 4, p. 218–231, abr. 2017.

LOCKER, D. Oral health and quality of life. **Oral Health Prev Dent**, v. 2 Suppl 1, p. 247-53, 2004. ISSN 1602-1622 (Print)1602-1622. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LOCKER, D.; JOKOVIC, A. Using subjective oral health status indicators to screen for dental care needs in older adults. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 24, n. 6, p. 398-402, Dec 1996. ISSN 0301-5661 (Print)0301-5661. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LOCKER, D.; SLADE, G. Oral health and the quality of life among older adults: the oral health impact profile. **J Can Dent Assoc**, v. 59, n. 10, p. 830-3, 837-8, 844, Oct 1993. ISSN 0709-8936 (Print)0709-8936. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LÖE, H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. **Diabetes care**, v. 16, n. 1, p. 329–34, jan. 1993.

LOO, W. T. Y. et al. Clinical application of human β -defensin and CD14 gene polymorphism in evaluating the status of chronic inflammation. **Journal of translational medicine**, v. 10 Suppl 1, n. Suppl 1, p. S9, 19 set. 2012.

LOOS, B. G.; JOHN, R. P.; LAINE, M. L. Identification of genetic risk factors for periodontitis and possible mechanisms of action. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. s6, p. 159–179, out. 2005.

LÓPEZ, N. J. et al. Routine Prophylaxes Every 3 Months Improves Chronic Periodontitis Status in Type 2 Diabetes. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 7, p. e232–e240, jul. 2014.

LU, Q. et al. Expression of human beta-defensins-1 and -2 peptides in unresolved chronic periodontitis. **Journal of Periodontal Research**, v. 39, n. 4, p. 221–227, ago. 2004.

MALLOY, P. J. et al. Hereditary vitamin D resistant rickets caused by a novel mutation in the vitamin D receptor that results in decreased affinity for hormone and cellular hyporesponsiveness. **The Journal of clinical investigation**, v. 99, n. 2, p. 297–304, 15 jan. 1997.

MARTELLI, F. S. et al. Vitamin D: Relevance in dental practice. **Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism**, v. 11, n. 1, p. 15–19, 2014.

MASI, S. et al. Association Between Short Leukocyte Telomere Length, Endotoxemia, and Severe Periodontitis in People With Diabetes: A Cross-Sectional Survey. **Diabetes Care**, v. 37, n. 4, p. 1140–1147, 20 abr. 2014.

MEALEY, B. L.; OATES, T. W. Diabetes Mellitus and Periodontal Diseases. **Journal of Periodontology**, v. 77, n. 8, p. 1289–1303, 2006.

MEALEY, B. L.; OCAMPO, G. L. Diabetes mellitus and periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 44, n. 1, p. 127–53, jun. 2007.

MEHLOTRA, R. K. et al. Variation in human β -defensin genes: new insights from a multi-population study. **International journal of immunogenetics**, v. 40, n. 4, p. 261–9, ago. 2013.

MESA, F. et al. Association between COX-2 rs 6681231 genotype and interleukin-6 in periodontal connective tissue. A pilot study. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e87023, 13 fev. 2014.

MOORE, W. E.; MOORE, L. V. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontology** **2000**, v. 5, p. 66–77, jun. 1994.

MORRISON, N. A. et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. **Nature**, v. 367, n. 6460, p. 284–7, 20 jan. 1994.

MOURÃO, L. C. et al. Impact of chronic periodontitis on quality-of-life and on the level of blood metabolic markers. **J Indian Soc Periodontol**, v. 19, n. 2, p. 155-8, Mar-Apr 2015. ISSN 0972-124X (Print)0972-124x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.4103/0972-124x.149935> >.

NAITO, M. et al. Association between vitamin D receptor gene haplotypes and chronic periodontitis among Japanese men. **International Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 216–222, 2007.

NEGRATO, C. A. et al. Periodontal disease and diabetes mellitus. **J Appl Oral Science**, v. 21, n. 1, p. 1–12, 2013.

NEGRATO, C.; TARZIA, O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 2, n. 1, p. 3, 15 jan. 2010.

NÉMETH, B. C. et al. Relevance of α - defensins (HNP1-3) and defensin β -1 in diabetes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 27, p. 9128–9137, 2014.

NORA SILVA et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 329–355, 2015.

NORMAN, A. W. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. **The American journal of clinical nutrition**, v. 88, n. 2, p. 491S–499S, ago. 2008.

OWEN, T. A. et al. Pleiotropic Effects of Vitamin D on Osteoblast Gene Expression Are Related to the Proliferative and Differentiated State of the Bone Cell Phenotype: Dependency upon Basal Levels of Gene Expression, Duration of Exposure, and Bone Matrix Competency in Normal Rat Osteoblast Cultures*. **Endocrinology**, v. 128, n. 3, p. 1496–1504, mar. 1991.

PANENI, F. et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. **European Heart Journal**, v. 34, n. 31, p. 2436–2443, 1 ago. 2013.

PARASCHIV, C. et al. CLINICAL FORMS OF PERIODONTAL DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. **Romanian Journal of Oral Rehabilitation**, v. 6, n. 1, [s.d.].

PARK, K. S.; NAM, J. H.; CHOI, J. The short vitamin D receptor is associated with increased risk for generalized aggressive periodontitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 33, n. 8, p. 524–8, ago. 2006.

PENG, H. et al. Decreased vitamin D receptor protein expression is associated with the progression and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma: a multi-ethnic cohort study from the Xinjiang, China. **Int J Clin Exp Pathol** , v. 10, n. 2, p. 2340–2350, 2017.

PERSSON, G. R. Diabetes and Periodontal Disease: An Update for Health Care Providers. **Diabetes Spectrum**, v. 24, n. 4, 2011.

PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHNSON, N. W. Periodontal diseases. **The Lancet**, v. 366, n. 9499, p. 1809–1820, 19 nov. 2005.

POLESELLO, V. et al. Impact of DEFB1 gene regulatory polymorphisms on hBD-1 salivary concentration. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 7, p. 1054–1058, 2015.

POLESELLO, V. et al. DEFB1 polymorphisms and salivary hBD-1 concentration in Oral Lichen Planus patients and healthy subjects. **Archives of oral biology**, v. 73, p. 161–165, jan. 2017.

PRESHAW, P. M. et al. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. **Diabetologia**, v. 55, n. 1, p. 21–31, jan. 2012.

PULITO, C. et al. Cdx2 Polymorphism Affects the Activities of Vitamin D Receptor in Human Breast Cancer Cell Lines and Human Breast Carcinomas. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0124894, 7 abr. 2015.

QU, X. et al. Association of Dectin-1 and DC-SIGN gene single nucleotide polymorphisms with fungal keratitis in the northern Han Chinese population. **Molecular vision**, v. 21, p. 391–402, 2015.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria., 2013.

RHODIN, K. et al. Chronic Periodontitis Genomewide Association Studies: Genecentric and Gene Set Enrichment Analyses. **J Dent Res**, v. 93, n. 9, p. 882–890, 2014.

SAIJO, T. et al. A Unique Mutation in the Vitamin D Receptor Gene in Three Japanese Patients with Vitamin D-dependent Rickets Type II: Utility of Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis for Heterozygous Carrier Detection. **Am. J. Hum. Genet**, v. 49, p. 668–673, 1991.

SAINI, R.; SAINI, S.; SUGANDHA, R. Periodontal disease: The sixth complication of diabetes. **Journal of family & community medicine**, v. 18, n. 1, p. 31, jan. 2011.

SAINZ, J. et al. Dectin-1 and DC-SIGN Polymorphisms Associated with Invasive Pulmonary Aspergillosis Infection. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e32273, 27 fev. 2012.

SAMI A. ZELKHA; ROBERT W. FREILICH; SALOMON AMAR. Periodontal Innate Immune Mechanisms Relevant to Atherosclerosis and Obesity. **Periodontol 2000**, v. 54, n. 1, p. 207–221, 2010.

SCHAEFER, A. S. et al. A genome-wide association study identifies GLT6D1 as a susceptibility locus for periodontitis. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. 3, p. 553–562, 1 fev. 2010.

SCHORK, N.; FALLIN, D.; LANCHBURY, J. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. **Clin Genet**, v. 58, p. 250–264, 2000.

SCHUTTE, B. C. et al. Discovery of five conserved α -defensin gene clusters using a computational search strategy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 4, p. 2129–2133, 19 fev. 2002.

SEGAT, L. et al. Analysis of DEFB1 regulatory SNPs in cystic fibrosis patients from North-Eastern Italy. **International Journal of Immunogenetics**, v. 37, n. 3, p. 169–175, 2010.

SEMPLE, F.; DORIN, J. R. β -Defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? **Journal of innate immunity**, v. 4, n. 4, p. 337–48, 2012.

SERGIO IVÁN TOBÓN-ARROYAVE et al. Association Study of Vitamin D Receptor (VDR) - Related Genetic Polymorphisms and their Haplotypes with Chronic Periodontitis in a Colombian Population. v. 11, n. 2, p. 60–66, 2017.

SHAW, G. Polymorphism and single nucleotide polymorphisms (SNPs). **BJU International**, v. 112, n. 5, p. 664–665, set. 2013.

SHELDON, I. M.; OWENS, S.-E.; TURNER, M. L. Innate immunity and the sensing of infection, damage and danger in the female genital tract. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 119, p. 67–73, 2017.

SILVA, J. DE A. et al. Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus clinical manifestations. **Lupus**, v. 22, n. 11, p. 1110–1117, out. 2013.

SLADE, G. D. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 25, n. 4, p. 284-90, Aug 1997. ISSN 0301-5661 (Print)0301-5661. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SLADE, G. D. Assessing change in quality of life using the Oral Health Impact Profile. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 26, n. 1, p. 52-61, Feb 1998. ISSN 0301-5661 (Print)0301-5661. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SLADE, G. D.; SPENCER, A. J. Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. **Community Dent Health**, v. 11, n. 1, p. 3-11, Mar 1994. ISSN 0265-539X (Print)0265-539x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SMYTH, S.; HERON, A. Diabetes and obesity: the twin epidemics. **Nature Medicine**, v. 12, n. 1, p. 75–80, jan. 2006.

SUN, J. L. et al. Relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 37, n. 4, p. 263–7, ago. 2002.

TAILLEUX, L. et al. DC-SIGN is the major Mycobacterium tuberculosis receptor on human dendritic cells. **The Journal of experimental medicine**, v. 197, n. 1, p. 121–7, 6 jan. 2003.

TANTAWY, M. et al. Vitamin D receptor gene polymorphism in Egyptian pediatric acute lymphoblastic leukemia correlation with BMD. **Meta Gene**, v. 9, p. 42–46, set. 2016.

TARANNUM, F.; FAIZUDDIN, M. Effect of gene polymorphisms on periodontal diseases. **Indian journal of human genetics**, v. 18, n. 1, p. 9–19, jan. 2012.

THE INTERNATIONAL HAPMAP CONSORTIUM. A haplotype map of the human genome. **Nature**, v. 437, p. 1299–1320, 2005.

TIAN, Y. et al. Association of cytokines, high sensitive C-reactive protein, VEGF and beta-defensin-1 gene polymorphisms and their protein expressions with chronic periodontitis in the Chinese population. **The International journal of biological markers**, v. 28, n. 1, p. 100-107, 2013.

UITTERLINDEN, A. G. et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. **Gene**, v. 338, n. 2, p. 143–56, 1 set. 2004.

VAN DER VELDEN, U. et al. Java project on periodontal diseases. The natural development of periodontitis: risk factors, risk predictors and risk determinants. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 33, n. 8, p. 540–548, ago. 2006.

VAN DYKE, T. E.; SHEILESH, D. Risk factors for periodontitis. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 7, n. 1, p. 3–7, jan. 2005.

VANKEERBERGHEN, A. et al. Differential induction of human beta-defensin expression by periodontal commensals and pathogens in periodontal pocket epithelial cells. **Journal of periodontology**, v. 76, n. 8, p. 1293-1303, 2005.

VENKATESAN, G.; UPPOOR, A.; NAIK, D. G. Redefining the role of dendritic cells in periodontics. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 17, n. 6, p. 700–5, nov. 2013.

WANG, L. et al. DC-SIGN (CD209) Promoter -336 A/G polymorphism is associated with dengue hemorrhagic fever and correlated to DC-SIGN expression and immune augmentation. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 5, n. 1, p. e934, 4 jan. 2011.

WILLIAMS, R. C. Periodontal Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 322, n. 6, p. 373–382, 8 fev. 1990.

WOHLFAHRT, J. C. et al. No association between selected candidate gene polymorphisms and severe chronic periodontitis. **Journal of periodontology**, v. 77, n. 3, p. 426-436, 2006.

XIE, G.-H. et al. Defensins and sepsis. **BioMed research international**, v. 2014, p. 180109, 2014.

ZANIN, V. et al. DEFB1 gene 5' untranslated region (UTR) polymorphisms in inflammatory bowel diseases. **Clinics**, v. 67, n. 4, p. 395–398, 5 abr. 2012.

ZHOU, T. et al. DC-SIGN and immunoregulation. **Cellular & molecular immunology**, v. 3, n. 4, p. 279–83, ago. 2006.

ZMUDA, J. M.; CAULEY, J. A.; FERRELL, R. E. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. **Epidemiologic reviews**, v. 22, n. 2, p. 203–17, 2000.

ZUPIN, L. et al. NLRC5 polymorphism is associated with susceptibility to chronic periodontitis. **Immunobiology**, v. 222, n. 5, p. 704–708, maio 2017.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE PRÓTESE E CIRURGIA BUCO-FACIAL

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **“ASSOCIAÇÃO DA PERIODONTITE CRÔNICA COM A QUALIDADE DE VIDA, A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2”** que está sob a responsabilidade da pesquisadora Renata Cimões Jovino Silveira (Professora da Pós-Graduação em odontologia da UFPE); Secretária de Pós-graduação em Odontologia da UFPE – Avenida Professor Moraes Rego, 1235 – Recife – PE, CEP: 50670-901; telefone: (81)21268817; e-mail: renata.cimoes@globo.com Telefone para contato: 21268817. Também participam dessa pesquisa: Rayanne Soraia Aguiar de Melo Dias (mestranda em odontologia UFPE-999495129), Felipe Rodrigues de Almeida (mestrando em odontologia UFPE - 999728554), Roberto Carlos Mourão Pinho (doutorando em odontologia UFPE - 988098147) e Professor Francisco Bandeira (Chefe do setor de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães- 31841601).

Este Termo de Consentimento pode conter alguns tópicos que o (a) senhor (a) não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte a pessoa que está lhe entrevistando, para que o (a) senhor (a) seja bem esclarecido (a) sobre tudo que está respondendo. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr. (a) não será penalizado (a) de forma alguma. Também garantimos que o (a) Senhor (a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar a associação entre a periodontite crônica (chamada popularmente de piorréia), a deficiência da vitamina D e a presença de alterações genéticas que estão ligadas ao sistema de defesa do nosso corpo em pacientes diabéticos tipo 2, bem como a percepção de qualidade de vida dos mesmos. Cada paciente será avaliado através de um exame clínico, onde será medida a profundidade da gengiva ao redor dos dentes, observando se haverá algum sangramento e se há placa bacteriana visível (que se formam dos restos de comida deixados pela má escovação) e a altura do osso ao redor dos dentes. No mesmo momento serão coletadas amostras de saliva (o paciente cospe num tubinho estéril o que conseguir) e amostras de células da parte interna da bochecha da boca (esfregando levemente com uma escova pequena). Os pacientes também responderão a um questionário para avaliação da percepção de qualidade de vida.

Para realização da pesquisa o paciente será examinado uma única vez; nesse momento serão também coletadas as amostras, os dados pessoais e a aplicação do questionário.

Ao paciente submetido à pesquisa, poderá ocorrer o risco de, durante o exame clínico e/ou ao responder ao questionário de 14 perguntas sobre qualidade de vida,

ficar constrangido e ocorrer sangramento gengival e/ou desconforto leve (esses dois últimos no caso do exame clínico). Esses sintomas e o constrangimento serão minimizados com a realização do exame e do questionário em local reservado, por profissional qualificado e respeitando a individualidade de cada paciente.

Entre os benefícios, os participantes receberão orientações de higiene oral e informações de como tratar a doença gengival presente e prevenir seu avanço. Receberão também orientações de como e onde procurar serviços de odontologia.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa ficarão armazenados em computador pessoal, sob a responsabilidade do pesquisador principal, no endereço acima informado pelo período de 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

(Pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **"ASSOCIAÇÃO DA PERIODONTITE CRÔNICA COM A QUALIDADE DE VIDA, A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2"**, como voluntário(a). Fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pelo(a) pesquisador(a) sobre o desenvolvimento da pesquisa, os procedimentos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____



Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura

APÊNDICE B – FICHA CLÍNICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

FICHA CLÍNICA

Nº do paciente: _____ Prontuário: _____

1. Nome: _____

2. Nacionalidade: _____

3. Sexo: _____

4. Idade: _____

5. Estado civil: _____

6. Fone: _____ cel: _____

7. Renda (salários): _____

8. Hábito de fumar:

☐ nunca fumou☐ ex-fumante: _____ (anos que parou)☐ fumante: _____ (quantos por dia)

9. Escolaridade:

I. ☐ Não sabe ler ou escreverII. ☐ 1º grau incompletoIII. ☐ 1º grau completoIV. ☐ 2º grau incompletoV. ☐ 2º grau completoVI. ☐ Universidade incompletaVII. ☐ Universidade completaVIII. ☐ Pós-graduaçãoIX. ☐ Não sei

10. Tipo de diabetes: _____

11. Diabético há quanto tempo: _____

12. Medicamentos que utiliza: _____

13. Usa insulina? Tipo e dose? Há quanto

tempo? _____

FICHA PERIODONTAL

PACIENTE: DATA:

[illegible]

45																
46																
47																
48																

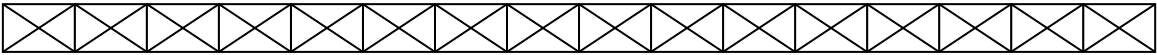
SANGRAMENTO: Faces _____ % _____



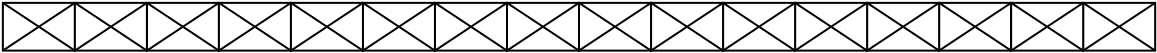
18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38



PLACA: Faces _____ % _____



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



ANEXO A- QUALIDADE DE VIDA/ OHIP-14

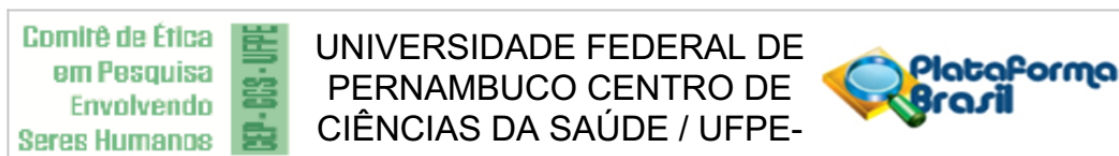
QUESTIONÁRIO DE QUALIDADE DE VIDA (OHIP-14)

NOME: _____ DATA: _____

(0) Nunca; (1) quase nunca; (2) ocasionalmente; (3) quase sempre; (4) sempre.

1 – Você teve problemas em pronunciar alguma palavra por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
2 – Você sentiu que o seu paladar piorou por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
3 – Você teve dores na sua boca?	(0) (1) (2) (3) (4)
4 – Você já achou desconfortável mastigar algum alimento por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
5 – Você esteve preocupado por causa de problemas dentários?	(0) (1) (2) (3) (4)
6 – Você se sentiu tenso por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
7 – Sua alimentação ficou prejudicada por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
8 – Você teve que parar suas refeições por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
9 – Você teve dificuldade de relaxar por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
10 – Você ficou envergonhado por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
11 – Você ficou um pouco irritado com outras pessoas por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
12 – Você teve dificuldades em fazer suas atividades diárias por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
13 – Você sentiu que a vida em geral ficou pior por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)
14 – Você teve sua capacidade de trabalho reduzida por causa de problemas com seus dentes, boca ou dentaduras?	(0) (1) (2) (3) (4)

ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO DA PERIODONTITE CRÔNICA COM A QUALIDADE DE VIDA, A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2

Pesquisador: Renata Cimões Jovino Silveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 49166415.0.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.310.208

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa da Profa. Dra. Renatas Cimões Jovino Silveira, que contará com a participação da seguinte equipe: Felipe Rodrigues de Almeida, Rayanne Soraia Aguiar de Melo Dias e Roberto Carlos Mourão Pinho, alunos do Programa de Pós-graduação em Odontologia, e do médico Dr. Francisco Alfredo Bandeira e Farias, chefe da divisão de diabetes do Hospital Agamenon Magalhães. Que buscarão investigar e fornecer mais informações da correlação entre a periodontite crônica e o diabetes tipo 2.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Avaliar se há associação entre a condição periodontal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 e a presença de polimorfismos celulares e os níveis séricos de vitamina D, bem como a influência dessas condições crônicas na percepção da qualidade de vida desses pacientes, através de um estudo tipo caso-controle.

Objetivos Específicos:

- Verificar a condição periodontal de pacientes diabéticos tipo 2;
- Detectar a presença de polimorfismos de uma única base (SNPs) da betadefensina-1;

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

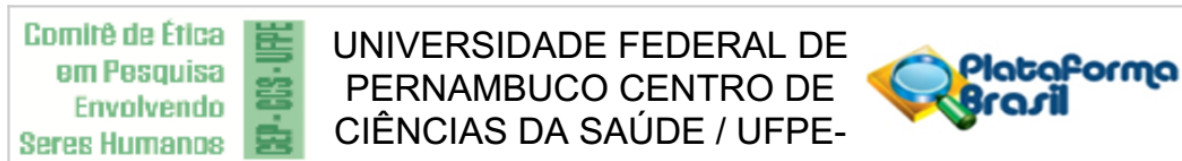
CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.310.208

- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético da beta-defensina-1 e a severidade da periodontite em diabéticos tipo 2;
- Detectar polimorfismos da IL-6 na posição -174 nos pacientes pesquisados;
- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético da IL-6 e a severidade de periodontite em pacientes portadores de periodontite e diabetes mellitus tipo 2;
- Verificar os níveis séricos de vitamina D de pacientes diabéticos tipo 2;
- Verificar se existe associação entre a condição periodontal dos pacientes e a deficiência de vitamina D;
- Detectar polimorfismos do VDR na posição FokI nos pacientes pesquisados;
- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético do VDR e a severidade de periodontite em pacientes portadores de periodontite e diabetes mellitus tipo 2;
- Avaliar se a condição periodontal de diabéticos tipo 2 interfere na percepção da qualidade de vida.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios estão adequados para a pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A população a ser estudada será proveniente de pacientes diagnosticados com Periodontite Crônica na Clínica de Periodontia do Curso de Graduação da UFPE e os diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 atendidos no Hospital Agamenon Magalhães (HAM) - Recife. Nesses mesmos locais também serão coletadas amostras em pessoas saudáveis para formação do grupo controle. Será uma amostra de conveniência constituída por 300 pessoas, divididos em 3 grupos de 100: um grupo formado por diabéticos e que apresentem a periodontite crônica, o segundo grupo formado por pessoas com periodontite crônica e sem diabetes e o terceiro grupo será o controle, formado por pessoas saudáveis para essas condições estudadas. Após explicação dos objetivos da pesquisa, se o participante aceitar, será solicitado que ele assine o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Antes de iniciar o exame clínico, serão registrados dados sobre a idade, o sexo, renda, escolaridade, estado civil, hábito de fumar, tipo de diabetes, uso de insulina e outros medicamentos, tempo de tratamento para o diabetes e resultados de exames laboratoriais (Hemoglobina glicada, glicemia em jejum, níveis séricos de vitamina D e calcemia), que estiverem com ele. Estes também responderão a um questionário de qualidade de vida.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

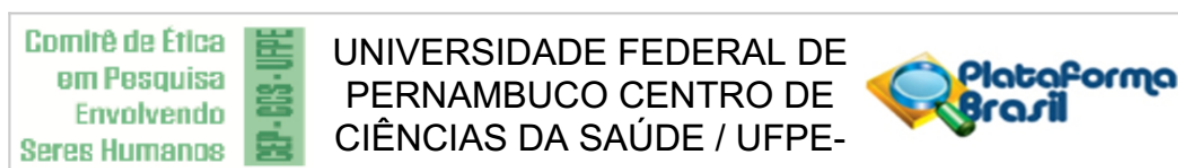
CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.310.208

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador responsável obedecendo a Resolução CNS Nº466/12 anexou os seguintes documentos que atendem a resolução:

- 1- Os currículos de todos os pesquisadores estão anexados;
- 2- Folha de Rosto devidamente preenchida e carimbada;
- 3- O cronograma e orçamento estão adequadas a proposta;
- 4- A Carta de Anuência do Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães, permitindo a coleta do material biológico nos Diabéticos.
- 5- Carta de anuência do Laboratório de Biologia Molecular, no Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPE, onde serão processados os materiais;
- 6- Carta de anuência da Clínica da Pós-graduação em odontologia-UFPE;
- 7- Carta de Anuência do Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva;
- 8- O TCLE em linguagem clara e acessível aos participantes.

Recomendações:

sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O trabalho preenche os critérios éticos necessários para a sua aprovação, e poderá ser executado.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

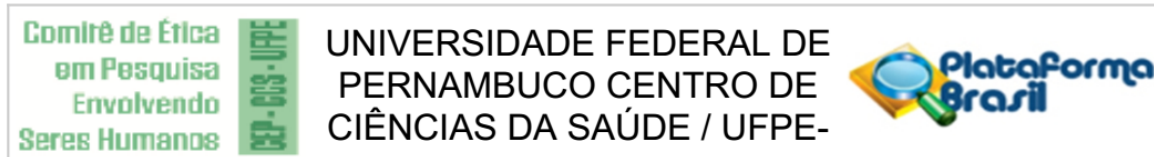
CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 1.310.208

Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576064.pdf	09/10/2015 17:29:13		Aceito
Outros	carta_resposta.docx	09/10/2015 17:28:00	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_ultima-versao.docx	09/10/2015 17:12:55	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_APENDICE_A.docx	09/10/2015 17:12:19	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	09/09/2015 21:51:45	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	02/09/2015 15:27:31	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Roberto.pdf	22/08/2015 15:10:56	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Renata.pdf	22/08/2015 15:10:15	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Rayanne.pdf	22/08/2015 15:09:06	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Francisco.pdf	22/08/2015 15:08:42	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Felipe.pdf	22/08/2015 15:07:40	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Questionario_qualidade_vida_ANEXO_A.docx	22/08/2015 14:48:31	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Ficha_clinica_APENDICE_B.docx	22/08/2015 14:48:05	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	22/08/2015 14:45:02	Renata Cimdões Jovino Silveira	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-



Continuação do Parecer: 1.310.208

Declaração de Pesquisadores	Termo_de_confidencialidade.pdf	22/08/2015 14:43:25	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_POS_ODONTO_UFPE.pdf	22/08/2015 14:43:01	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_HAM.pdf	22/08/2015 14:42:33	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_DPTO_de_clinica_e_preventiva_ODONTO_UFPE.pdf	22/08/2015 14:42:08	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 05 de Novembro de 2015

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

E-mail: cepccs@ufpe.br



HOSPITAL AGAMENON
MAGALHÃES - HAM



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO DA PERIODONTITE CRÔNICA COM A QUALIDADE DE VIDA, A DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D E POLIMORFISMOS EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 2

Pesquisador: Renata Cimões Jovino Silveira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49166415.0.3001.5197

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.368.830

Apresentação do Projeto:

O diabetes mellitus é uma desordem metabólica caracterizada pelo aumento do nível de glicose na corrente sanguínea devido a secreção ou atividade defeituosa do hormônio insulina. Dos fatores de risco sistêmicos dessa doença, está bem estabelecido que pacientes com diabetes têm pelo menos um pequeno aumento na severidade da doença periodontal quando comparados com não diabéticos. A presença de microorganismos no biofilme dentário é necessário, mas não é suficiente para o desenvolvimento de periodontite, porém a imunidade do hospedeiro e fatores genéticos e ambientais irão determinar parte da susceptibilidade e severidade da doença. A pesquisa das alterações genéticas do tipo polimorfismo de única base (SNP) tem sido pouco desenvolvido por grupos de pesquisa em Odontologia no Brasil; diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar a condição periodontal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2, a presença de polimorfismos celulares (B-defensina-1, IL-6 e VDR) e os níveis séricos de vitamina D, bem como a implicação dessas condições crônicas na percepção da qualidade de vida desses pacientes. Os exames clínicos e as coletas de saliva e de células de descamação da mucosa oral serão realizadas na Clínica de Periodontia do Curso de Graduação em Odontologia da UFPE e no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM) - Recife- PE. A análise laboratorial acontecerá no Laboratório de Biologia Molecular da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE.

Endereço: Estrada do Arraial, 2723

Bairro: Prédio Anexo a Emergência Geral

CEP: 52.051-380

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3184-1769

Fax: (81)3048-0117

E-mail: cepham@hotmail.com.br



HOSPITAL AGAMENON
MAGALHÃES - HAM



Continuação do Parecer: 1.368.830

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar se há associação entre a condição periodontal de pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 e a presença de polimorfismos celulares (B-defensina-1, IL-6 e VDR) e os níveis séricos de vitamina D, bem como a influência dessas condições crônicas na percepção da qualidade de vida desses pacientes, através de um estudo tipo caso-controle. **Objetivo Secundário:** - Verificar a condição periodontal de pacientes diabéticos tipo 2; - Detectar a presença de polimorfismos de uma única base (SNPs) da betadefensina-1;- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético da beta-defensina-1 e a severidade da periodontite em diabéticos tipo 2;- Detectar polimorfismos da IL-6 na posição -174 nos pacientes pesquisados;- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético da IL-6 e a severidade de periodontite em pacientes portadores de periodontite e diabetes mellitus tipo 2;- Verificar os níveis séricos de vitamina D de pacientes diabéticos tipo 2; - Verificar se existe associação entre a condição periodontal dos pacientes e a deficiência de vitamina D;- Detectar polimorfismos do VDR na posição FokI nos pacientes pesquisados;- Verificar se existe associação entre a presença de polimorfismo genético do VDR e a severidade de periodontite em pacientes portadores de periodontite e diabetes mellitus tipo 2;- Avaliar se a condição periodontal de diabéticos tipo 2 interfere na percepção da qualidade de vida.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Ao paciente submetido à pesquisa, poderá ocorrer o risco de, durante o exame clínico e/ou ao responder ao questionário de 14 perguntas sobre qualidade de vida, ficar constrangido e ocorrer sangramento gengival e/ou desconforto leve (esses dois últimos no caso do exame clínico). Esses sintomas e o constrangimento serão minimizados com a realização do exame e do questionário em local reservado, por profissional qualificado e respeitando a individualidade de cada paciente. **Benefícios:** Entre os benefícios, os participantes receberão orientações de higiene oral e informações de como tratar a doença gengival presente e prevenir seu avanço. Receberão também orientações de como e onde procurar serviços de odontologia quando for necessário.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Preenche as exigências.

Endereço: Estrada do Arraial, 2723

Bairro: Prédio Anexo a Emergência Geral

CEP: 52.051-380

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3184-1769

Fax: (81)3048-0117

E-mail: cepham@hotmail.com.br



HOSPITAL AGAMENON MAGALHÃES - HAM



Continuação do Parecer: 1.368.830

Recomendações:

Não

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em condições de ser implementado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado de acordo com a Resolução 466/2012

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576064.pdf	09/10/2015 17:29:13		Aceito
Outros	carta_resposta.docx	09/10/2015 17:28:00	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_ultima-versao.docx	09/10/2015 17:12:55	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_APENDICE_A.docx	09/10/2015 17:12:19	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576064.pdf	14/09/2015 13:01:32		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576064.pdf	09/09/2015 21:53:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_ultima-versao.docx	09/09/2015 21:52:22	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	09/09/2015 21:51:45	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_APENDICE_A.docx	09/09/2015 21:51:04	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576064.pdf	02/09/2015 15:29:02		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	02/09/2015 15:27:31	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Roberto.pdf	22/08/2015 15:10:56	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Renata.pdf	22/08/2015 15:10:15	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito

Endereço: Estrada do Arraial, 2723

Bairro: Prédio Anexo a Emergência Geral

CEP: 52.051-380

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)3184-1769

Fax: (81)3048-0117

E-mail: cepham@hotmail.com.br



HOSPITAL AGAMENON MAGALHÃES - HAM



Continuação do Parecer: 1.368.830

Outros	Lattes_Rayanne.pdf	22/08/2015 15:09:06	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Francisco.pdf	22/08/2015 15:08:42	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Lattes_Felipe.pdf	22/08/2015 15:07:40	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Questionario_qualidade_vida_ANEXO_A.docx	22/08/2015 14:48:31	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Outros	Ficha_clinica_APENDICE_B.docx	22/08/2015 14:48:05	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	22/08/2015 14:45:02	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_confidencialidade.pdf	22/08/2015 14:43:25	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_POS_ODONTO_UFPE.pdf	22/08/2015 14:43:01	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_HAM.pdf	22/08/2015 14:42:33	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia_DPTO_de_clinica_e_preventiva_ODONTO_UFPE.pdf	22/08/2015 14:42:08	Renata Cimões Jovino Silveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 15 de Dezembro de 2015

Assinado por:
CARLOS ALBERTO SÁ MARQUES
(Coordenador)

Endereço: Estrada do Arraial, 2723

Bairro: Prédio Anexo a Emergência Geral

CEP: 52.051-380

UF: PE **Município:** RECIFE

Telefone: (81)3184-1769

Fax: (81)3048-0117

E-mail: cepham@hotmail.com.br

ANEXO C – NORMAS DA REVISTA *International Journal of Oral Science*

Guide for Authors

Welcome to the website for *International Journal of Oral Science*. The instructions below are structured so you can quickly and easily answer the following questions:

1. Is my manuscript suitable for *International Journal of Oral Science*? ([Scope](#) + [Editorial Policy](#))
 2. How do I format my manuscript for *International Journal of Oral Science*? ([Format of Papers](#))
 3. How do I submit my manuscript to *International Journal of Oral Science*? ([Submission of Papers](#))
-

Scope

International Journal of Oral Science seeks to publish the best research from all aspects of oral science and related interdisciplinary fields, including basic, applied and clinical research. The journal publishes fully peer-reviewed Original Articles, Reviews, Letters to the Editor, and Clinical Studies. In addition, Research Summaries are provided for most articles.

Topics of particular interest within the journal's scope include, but are not limited to, those listed below:

- Oral microbiology
 - Oral and maxillofacial oncology
 - Cariology
 - Oral inflammation and infection
 - Dental stem cells and regenerative medicine
 - Craniofacial surgery
 - Dental material
 - Oral biomechanics
 - Dental implants
 - Oral, dental and maxillofacial genetic and developmental diseases
-

Editorial policy

Submission to the *International Journal of Oral Science* implies that all authors have seen and approved the full manuscript. Corresponding authors of accepted papers will be required to sign a License to Publish form on behalf of all authors (see below).

The *International Journal of Oral Science* levies an article-processing charge for all submissions that are accepted for publication. Upon acceptance, it is mandatory that authors fill out and send back the payment form along with their license to publish form. Upon publication, the article is universally and freely accessible to all via the Internet, in an easily readable format. Further details are outlined below in the Open Access and Charges section.

To avoid unnecessary delays in the review process, please consider the following policies carefully before submitting your manuscript.

Authorship

Requirements for all categories of articles largely conform to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," developed by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). A manuscript will be considered for publication with the understanding that:

1. all named authors have agreed to its submission
2. it is not currently being considered for publication by another journal
3. if the paper is accepted, it will not subsequently be published in the same or similar form in any language without the consent of publisher

Each author must have contributed sufficiently to the intellectual content of the submission. The corresponding author should list all authors and their contributions to the work. Any changes to the author list after submission, such as a change in the order of the authors, or the deletion or addition of authors, must be approved by a signed letter from every author. The corresponding author must confirm that he or she has had full access to the data in the study and final responsibility for the decision to submit for publication. To qualify as a contributing author, one must meet all of the following criteria:

1. Conceived and/or designed the work that led to the submission, acquired data, and/or played an important role in interpreting the results
2. Drafted or revised the manuscript
3. Approved the final version

Contributions by individuals who made direct contributions to the work but do not meet all of the above criteria should be noted in the Acknowledgments section of the manuscript.

Medical writers and industry employees can be contributors. Their roles, affiliations, and potential conflicts of interest should be included in the author list or noted in the Acknowledgments and/or Contributors section concurrent with their contribution to the work submitted. Signed statements from any medical writers or editors declaring that they have given permission to be named as an author, as a contributor, or in the Acknowledgments section is also required. Failure to acknowledge these contributors can be considered inappropriate, which conflicts with the editorial policy of the *International Journal of Oral Science*.

Plagiarism and fabrication

Plagiarism is when an author attempts to pass off someone else's work as his or her own. Duplicate publication, sometimes called self-plagiarism, occurs when an author reuses substantial parts of his or her own published work without providing the appropriate references. Plagiarism without dishonest intent is relatively frequent, for example, when an author reuses parts of an introduction from an earlier paper.

Because of some confusion as to the appropriate use of other authors' writing, we offer the following guideline in addition to the normal principles regarding plagiarism: if more than 5 consecutive words are taken verbatim from the text of another publication (including the authors' own work), this fact should be indicated by the use of inverted commas, as well as citation of the original source. It is not appropriate to make trivial changes to the wording instead. This rule can be relaxed slightly for descriptions of methodology from the authors' own papers, or for common phrases. If plagiarism is found, the journal will contact the author and, in some cases, the author's institute and funding agencies. The paper containing the plagiarism will be marked on each page of the PDF, and depending on the extent of the plagiarism, the paper may be formally retracted.

CrossCheck is a multi-publisher initiative to screen published and submitted content for originality. *International Journal of Oral Science* uses CrossCheck to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. To find out more about CrossCheck visit www.crossref.org/crosscheck.html.

Duplicate publication

Material submitted to the journal must be original and not published or submitted for publication elsewhere in any language. This policy applies to material submitted elsewhere while the contribution to *International Journal of Oral Science* is under consideration.

Authors submitting a manuscript should notify the editor(s) if part of their contribution has appeared or will appear elsewhere, or if any related material is under consideration or in press elsewhere.

If a submission contains a figure that is published elsewhere or that is copyrighted, the author must provide documentation that the previous publisher or copyright holder has given permission for the figure to be re-published. The editors consider all material in good faith, and assume that the journal has full permission to publish every part of the submitted material, including illustrations.

Conflicts of interest

In the interests of transparency and to help readers form their own judgments of potential bias authors must declare any competing financial interests in relation to the work described. This information must be included in their cover letter and in the conflict of interest section of their manuscript. In cases where the authors declare a competing financial interest, a statement to that effect is published as part of the article. If no such conflict exists, the statement will simply read that the authors have nothing to disclose.

For the purposes of this statement, competing interests are defined as those of a financial nature that, through their potential influence on behaviour or content, or from perception of such potential influences, could undermine the objectivity, integrity or perceived value of a publication. They can include any of the following:

- **Funding:** Research support (including salaries, equipment, supplies, reimbursement for attending symposia, and other expenses) by organizations that may gain or lose financially through this publication. The role of the funding body in the design of the study, collection and analysis of data and decision to publish should be stated.
- **Employment:** Recent (while engaged in the research project), present or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through this publication.
- **Personal financial interests:** Stocks or shares in companies that may gain or lose financially through publication; consultation fees or other forms of remuneration from organizations that may gain or lose financially; patents or patent applications whose value may be affected by publication.

It is difficult to specify a threshold at which a financial interest becomes significant, but note that many US universities require faculty members to disclose interests exceeding \$10,000 or 5% equity in a company. Any such figure is arbitrary, so we offer as one possible practical alternative guideline: "Declare all interests that could embarrass you were they to become publicly known after your work was published." We do not consider diversified mutual funds or investment trusts to constitute a competing financial interest.

The statement must contain an explicit and unambiguous statement describing any potential conflict of interest, or lack thereof, for any of the authors as it relates to the subject of the report. Examples include "Dr. Smith receives compensation as a consultant for XYZ Company," "Dr. Jones and Dr. Smith have financial holdings in ABC Company," or "Dr. Jones owns a patent on the diagnostic device described in this report." These statements acknowledging or denying conflicts of interest must be included in the manuscript under the heading Conflict of Interest. The Conflict of Interest disclosure appears in the cover letter, in the manuscript submission process and before the References section in the manuscript.

Following the Conflict of Interest heading, there must be a listing for each author, detailing the professional services relevant to the submission. Neither the precise amount received from each entity nor the aggregate income from these sources needs to be provided. Professional services include any activities for which the individual is, has been, or will be compensated with cash, royalties, fees, stock or stock options in exchange for work performed, advice or counsel provided, or for other services related to the author's professional knowledge and skills. This would include, but not necessarily be limited to, the identification of organizations from which the author received contracts or in which he or she holds an equity stake if professional services were provided in conjunction with the transaction.

Examples of declarations are:

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Conflict of interest

Dr Caron's work has been funded by the NIH. He has received compensation as a member of the scientific advisory board of Acadia Pharmaceutical and owns stock in the company. He also has consulted for Lundbeck and received compensation. Dr Rothman and Dr Jensen declare no conflict of interest.

Electronic manipulation of images

Digital image enhancement is acceptable practice, although it can result in the presentation of unrepresentative data as well as in the loss of meaningful signals. During manipulation of images a positive relationship between the original data and the resulting electronic image must be maintained. If a figure has been subjected to significant electronic manipulation, the specific nature of the enhancements must be noted in the figure legend or in the 'Materials and methods' section. The editors reserve the right to request original versions of figures from the authors of a paper under consideration.

Human and other animal experiments

For primary research manuscripts reporting experiments on live vertebrates and/or higher invertebrates, the corresponding author must confirm that all experiments were performed in accordance with relevant guidelines and regulations. The manuscript must include a statement identifying the institutional and/or licensing committee approving the experiments, including any relevant details regarding animal welfare, patient anonymity, drug side effects and informed consent.

For experiments involving human subjects, authors must identify the committee approving the experiments and include with their submission a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects.

Biosecurity policy

The Editor may also seek advice about submitted papers that raise concerns. These may include, for example, ethical issues or issues of data or materials access. Very occasionally, concerns may also relate to the implications of publishing a paper to the society, including threats to security. In such circumstances, advice will usually be sought simultaneously with the technical peer-review process. As in all publishing decisions, the decision whether to publish is at the discretion of the Editor.

Supplementary information for editors and reviewers

Any manuscripts under review or accepted for publication elsewhere should accompany the submission if they are relevant to its scientific assessment.

Authors should also provide upon submission any kind of supplementary material that will aid the review process.

Peer review policy

All contributions that are selected for peer review are sent to three or more independent reviewers. The identity of reviewers is confidential and manuscripts are considered private information. Papers may be rejected without external review at the Editor's discretion. Authors are encouraged to suggest or recommend for exclusion reviewers at the time of submissions.

Anonymity

Reviewers' identities are not released to authors, except when reviewers specifically ask to be identified. If reviewers wish to reveal their identities while the manuscript is under consideration, this should be done through the Editor. Should a reviewer contact an author directly, we ask authors to inform the Editor as soon as possible. We prohibit any attempt by authors to confront reviewers or determine their identities. Our own policy is to neither confirm nor deny any speculation about reviewers' identities, and we encourage reviewers to adopt a similar policy.

Selection of peer reviewers

Reviewer selection is critical to the publication process, and we base our choices on many factors, including expertise, reputation, and specific recommendations.

Correction and retraction policy

We recognize our responsibility to correct errors. Content published online is final and cannot be amended. The online version is part of the published record; therefore the original version must be preserved and changes to the paper should be made as a formal correction. If an error is noticed after online publication an HTML (or full-text) version of the

correction will be created and linked to the original article. Please note the following policy for making corrections to online peer-reviewed content:

- **Erratum.** Notification of an important error made by the journal that affects the publication record or the scientific integrity of the paper or the reputation of the authors, or of the journal.
- **Corrigendum** Notification of an important error made by the author that affects the publication record or the scientific integrity of the paper or the reputation of the authors or the journal.
- **Retraction.** Notification of invalid results. All coauthors must sign a retraction specifying the error and stating briefly how the conclusions are affected.

Decisions about corrections are made by the Editor (sometimes with advice of peer reviewers) and this sometimes involves author consultation. Requests to make corrections that do not affect the paper in a significant way or impair the reader's understanding of the contribution (a spelling mistake or grammatical error, for example) are not considered. In cases where coauthors disagree about a correction, the Editor will take advice from independent peer reviewers and impose the appropriate correction, noting the dissenting author(s) in the text of the published version.

Format of papers

Article Types

Original Articles

Original Articles describe original research, and should be 3000-6000 words (excluding the abstract, tables, figure legends and references) and contain no more than 8 display items (such as figures or tables).

Reviews

Reviews cover a focused area on the advancing edge of oral science and provide a balanced view of current research that can be understood by researchers outside that specialty. They should be succinctly written.

Reviews do not require 'Materials and methods' or 'Results' sections but can be structured using short topical headings.

Authors interested in publishing a Review may submit a proposal, including an outline of the proposed article, by email to the Editorial Office ijos@scu.edu.cn. Reviews will be subject to the established review process.

Letters to the Editor

Letters to the Editor present preliminary reports of unusual urgency, significance and interest, whose subjects may be republished in expanded form. They should contain no more than 900 words of text, one display item (figure or table) and a maximum of 10 references. Letters to the Editor do not contain an abstract, and apart from keywords there is no obligation to divide the text into sections. In all other respects, the directions for full papers should be followed.

Research Summaries

Research Summaries are provided by Springer Nature and are professionally written, 100-150 word pieces that deliver an easily understood synopsis of the work and will accompany many of the articles published in the journal.

Article Requirements

Cover letter

Each manuscript must be accompanied by a cover letter including statements that:

1. All authors agree with the submission;
2. The work has not been published or submitted for publication elsewhere, either completely or in part, or in another form or language;
3. If material has been reproduced from another source, the authors have authorization from the copyright holder (usually the Publisher) to use it, and have included this authorization with their submission;
4. Conflict of Interest Statement

Organization of manuscript

Manuscripts should be presented in the following order (omitting sections inappropriate for specific article types e.g. 'Materials and methods' for Reviews). Footnotes to the text are not allowed and any such material should be incorporated into the text as parenthetical matter.

(i) Title page

The title page should include a succinct title (less than 25 words); a concise running title (which should normally not exceed 50 characters); the full names of all authors including their given names; the affiliations (including city, state and country) of all authors; and the full contact details of the corresponding author (including telephone and fax numbers, and email address).

(ii) Abstract

A brief abstract (maximum 200-300 words) should state the purpose, basic procedures, main findings and principal conclusions of the study. The abstract should not contain abbreviations or references and should not be structured.

(iii) Keywords

Three to eight key words, for the purposes of indexing, should be supplied below the abstract, in order of relevance.

(iv) Introduction

The Introduction should summarize the rationale for the study and outline pertinent background material. The Introduction should not contain either results or conclusions.

(v) Materials and Methods

Materials and Methods should be described in sufficient detail to allow the experimental work to be reproduced in another laboratory, and to leave the reader in no doubt as to how the results were derived.

(vi) Results

The Results should be presented in a logical sequence in the text, tables and figures; repetitive presentation of the same data in different forms should be avoided. The Results should not include material appropriate to the Discussion.

(vii) Discussion

The Discussion should not reiterate Results, but rather should consider them in relation to any hypotheses advanced in the Introduction. This may include an evaluation of methodology and the relationship of new information to the existing body of knowledge in that field.

(viii) Acknowledgments

Authors should acknowledge the source of financial grants and other funding, and declare any industrial links or affiliations. The contribution of colleagues or institutions should also be acknowledged. Personal thanks and thanks to anonymous reviewers should not be included.

(ix) Conflict of interests

A conflict of interest statement must be included for each contributing author. Please see the Conflict of Interest guidelines in the Editorial Policies section for more information and for guidelines on what constitutes a conflict of interest.

(x) References

Authors are responsible for the accuracy of the references. Only articles that have been published may be included in the references. References follow the Vancouver format (for using End-Note, please follow the Leukemia journal reference style). In the text, references should be cited using superscript Arabic numerals in the order in which they appear. If

cited in tables or figure legends, references should be numbered according to the first identification of the table or figure in the text. References are listed sequentially at the end of the paper, according to the numbering and order of citations in the text. The first three authors are to be listed, after which, list only the first three authors and 'et al'. Abbreviations of journal names should conform to the Index Medicus style. The first and last page numbers for each reference should be provided. The following are examples of the reference style:

Journal Article

1 Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg* 1980; 38(8): 613– 616.

2 Horch HH, Sader R, Pautke C et al. Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35(8): 708–713.

Article not in English

3 Casals E, Cuenca E. [Is it possible to plan the workforce of dentists? An analysis of human resource trends and uptake of dental services in Catalonia 1991–2008.] *Revista Clínica Odontológica España* 2009; 14: 1–13. Spanish.

Book

4 Perez CA, Brady LW, Halperin EC et al. *Principles and practice of radiation oncology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.

Book Chapter

5 Harding SR, Fryer JI. Recurrent oral ulceration in Greenland natives. In: Casselli G (ed.) *Coeliac diseases*. 3rd ed. London: Stoma Press, 1982: 307–324.

Electronic Material

6 Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency. *Guidance to changes to the Medical Devices Directive 93/42/EC with respect to custom-made devices statements*. London: MHRA, 2009. Available at <http://www.mhra.gov.uk/Howweregulate/Devices/RevisionstotheMedicalDevicesandAIMDDirectives/index.htm> (accessed 22 July 2011).

Where a reference is to appear next to a number in the text, for example following an equation, chemical formula or biological acronym, citations should be written as (ref. X).

Example: "expressed odontogenic genes such as Pax9, DMP1 and DSPP (ref. 3)."

References to unpublished data and personal communications should not appear in the list but should be cited in the text only (e.g. Smith A, 2007, unpubl. data).

(x) Tables and figures

Tables should be labeled sequentially as Table 1, Table 2, etc. Each table should be numbered, titled and cited in the text. Reference to table footnotes should be made by using Arabic numerals. Tables should not duplicate the content of the text. They should consist of at least two columns, and each column should have a heading. Authors should ensure that the data in the tables are consistent with those cited in the relevant places in the text, totals add up correctly, and percentages have been calculated correctly. Unlike figures or images, tables may be embedded into the main manuscript file if necessary, or supplied as separate electronic files.

Figures and images should be labeled sequentially, numbered and cited in the text. Each figure should be saved in a separate file. Figures including multiple parts (e.g. Fig.1a, 1b, 1c) should be saved in a single file (e.g. Figure1a-c). The figure number should be placed above each figure. Figure legends should be inserted in the article's text file. The use of three-dimensional histograms is strongly discouraged when the addition of the third dimension gives no extra information. If a table or figure has been published before, the authors must obtain written permission to reproduce the material in both print and electronic formats from the copyright owner and submit it with the manuscript. This also applies to quotes, illustrations and other materials taken from previously published works not in the public domain. The original source should be cited in the figure caption or table footnote.

Artwork Guidelines

Detailed guidelines for submitting artwork can be found by downloading the [guidelines PDF](#). Using the guidelines, please submit production quality artwork with your initial online submission. If you have followed the guidelines, we will not require the artwork to be resubmitted following the peer-review process, if your paper is accepted for publication.

Color figures

Color figures must be supplied in the following format.

For Single Images:

Width	500 pixels (authors should select "constrain proportions", or equivalent instructions, to allow the application to set the correct height automatically.)
Resolution	125 dpi (dots per inch)
Format	JPEG for photographs GIF for line drawings or charts
Filenaming	Please save image with .jpg or .gif extension to ensure it can be read by all platforms and graphics packages.

For Multi-part Images :

Width	900 pixels (authors should select "constrain proportions", or equivalent instructions, to allow the application to set the correct height automatically.)
Resolution	125 dpi (dots per inch)
Format	JPEG for photographs GIF for line drawings or charts
Filenaming	Please save image with .jpg or .gif extension to ensure it can be read by all platforms and graphics packages.

Black and white images

- Image resolution of at least 300 dpi at publication size
- Images should be scanned at a minimum of 300 dpi
- During software manipulation of images, care should be taken that resolution is maintained
- Images may be rotated or scaled, but this must be the same in the x and y dimensions
- Contrast and brightness can be adjusted, but this must be uniform across the entire image, and must not result in the loss of any feature, band or spot. The background should still be visible
- If lanes are removed, and once separate parts of an image are joined together, a black, white or grey line should indicate clearly where the image was cut

- If black borders are drawn around the image, the lines should correspond to all edges where the image was cut
- Protein molecular weights or DNA fragment sizes should be indicated for all figure panels showing gel electrophoresis

Graphs, Histograms and Statistics

- Error bars must be described in the figure legend
- Axes on graphs should extend to zero, except for log axes
- Statistical analyses (including error bars and p values) should only be shown for independently repeated experiments, and must not be shown for replicates of a single experiment
- The number of times an experiment was repeated (N) must be stated in the legend

House Style

As the electronic submission will provide the basic material for typesetting, it is important that papers are prepared in the general editorial style of the journal.

1. See the artwork guidelines above for information on labeling of figures
2. Do not make rules thinner than 1 pt (0.36 mm)
3. Use a coarse hatching pattern rather than shading for tints in graphs
4. Color should be distinct when being used as an identifying tool
5. Use SI units throughout
6. Spaces, not commas should be used to separate thousands
7. Abbreviations should be preceded by the words for which they stand in the first instance of use and should not be used for terms used fewer than 4 times
8. Text should be double spacing with a wide margin
9. Use a common word-processing package (such as Microsoft Word) for the text. Embed tables converted into images at the end of the Word document, or as a separate file in whichever program you used to generate them
10. If you submit raw data, this can be done in Excel, or tab/comma delimited format
11. At first mention of a manufacturer the town, (state if USA) and country should be provided.

File Formats

File formats for manuscript files, figures and tables that are acceptable for our electronic manuscript submission process are given on the online forms. Further advice on file types is also available from the [Tips](#) webpage. Please follow the artwork guidelines above for submitting figures, and use a common word-processing package (such as Microsoft Word) for the text. Either embed tables converted into images at the end of your Word document, or as a separate files in whichever program you used to generate them. If you submit raw data, this can be done in Excel, or tab/comma delimited format.

Supplementary information

Supplementary information is peer-reviewed material directly relevant to the conclusions of an article that cannot be included in the printed version owing to space or format constraints. It is posted on the journal's website and linked to the article when the article is published and may consist of data files, graphics, movies or extensive tables.

The article must be complete and self-explanatory without the supplementary information. Supplementary information enhances a reader's understanding of the manuscript but is not essential to that understanding.

Supplementary information must be supplied to the Editorial Office in its final form for peer review. On acceptance the final version of the peer reviewed supplementary information should be submitted with the accepted manuscript.

To ensure that the contents of the supplementary information files can be viewed by the editor(s), referees and readers, please also submit a 'read-me' file containing brief instructions on how to use the file.

Supplying supplementary information files

Authors should ensure that supplementary information is supplied in its FINAL format because it is not subedited and will appear online exactly as originally submitted. It can neither be altered, nor added to, after the paper has been accepted for publication.

Please supply the supplementary information via eJP, the electronic manuscript submission and tracking system, in an acceptable file format (see below).

Authors should:

- Include a text summary (no more than 50 words) to describe the contents of each file.
- Identify the types of files (file formats) submitted.
- Include the text 'Supplementary information accompanies the manuscript on the *International Journal of Oral Science*'s website (<http://www.nature.com/ijos/>)' at the end of the article and before the references.

Accepted file formats

- Quick Time files (.mov)
- Graphical image files (.gif)
- HTML files (.html)
- MPEG movie files (.mpg)
- JPEG image files (.jpg)
- Sound files (.wav)
- Plain ASCII text (.txt)
- Acrobat files (.pdf)
- MS Word documents (.doc)
- Postscript files (.ps)
- MS Excel spreadsheet documents (.xls)

We cannot accept TeX or LaTeX (.tex) files

File sizes must be as small as possible, so that they can be downloaded quickly. Images should not exceed 640 x 480 pixels (approximately 23 x 17 cm at 72dpi), and we would recommend 480 x 360 pixels as the maximum frame size for movies. We also recommend a frame rate of 15 frames per second. If applicable to the presentation of the supplementary information, use a 256-color palette. Please consider the use of lower specification for all of these points if the supplementary information can still be represented clearly. Our recommended maximum data rate is 150 KB/s.

The number of files should be limited to eight, and the total file size should not exceed 8 MB. Individual files should not exceed 1 MB. Please seek advice from the Editorial Office before sending files larger than our maximum size to avoid delays in publication.

Language Editing

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

- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates [Nature Research Editing Service](#) and [American Journal Experts](#).

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

ARTICLE-PROCESSING CHARGES AND OPEN ACCESS LICENCE TO PUBLISH

International Journal of Oral Science (IJOS) is an open access journal, thus articles are universally and freely accessible to all immediately upon publication in an easily readable format, and are deposited without embargo in an agreed format

(current preference is XML with a declared DTD) in at least one widely and internationally recognized open access repository.

Articles are published under a CC BY license (Creative Commons Attribution 4.0 International License). The CC BY License is preferred by many research funding bodies. It allows for maximum dissemination and re-use of open access materials: under this license users are free to share (copy, distribute and transmit) and remix (adapt) the contribution including for commercial purposes, providing they attribute the contribution in the manner specified by the author or licensor (read the full legal code).

The CC BY-NC-ND and CC BY-NC-SA licenses are available on request: please contact the editorial office on acceptance of your article to discuss these options.

Under Creative Commons Licenses, authors retain copyright in their work.

Once manuscript is accepted, the correspondence author must complete and sign a [Licence to Publish form](#) on behalf of all authors and return it to the editorial office. Failure to promptly return the form will result in delay of publication.

Government employees from the United States and the UK are required to sign and submit the relevant government open access licence form below:

- [US Government Employee Open Access Licence to Publish form](#)
- [UK Government Employee Open Access Licence to Publish form](#)

International Journal of Oral Science (IJOS) levies an following Article-Processing Charge (APC) per article for publication. Upon acceptance of their manuscript authors must complete the [Article-processing Charge form](#) and return alongside the signed [Licence to Publish form](#) to the address provided.

Article Type	Charges
Original Articles, unsolicited Reviews & Clinical Studies	£2,650 / \$3,975 / €3,000 / ¥424,000 / RMB 27,900 (+VAT where applicable)
Letters to the Editor	£750 / \$1,125 / €850 / ¥120,000 / RMB 7,900 (+VAT where applicable)

Please note in regards to payment that usual credit terms are 30 days from receipt of invoice. Failure to pay your invoice within the stated credit term may result in you being subject to such penalties as restrictions on your ability to publish with Springer Nature or *International Journal of Oral Science (IJOS)* in the future, involvement of a third party debt collection agency or legal proceedings.

Proofs

The corresponding author will be sent an e-mail with instructions on how to download the proofs. Proofs must be returned within 48 hours of receipt. Failure to do so may result in a delay to publication. Extensive corrections cannot be made at this stage.

Offprints

Offprints may be ordered using the order form available for download with the proofs. Orders submitted after the journal is printed are subject to increased reprint prices.

Business matters

For enquiries related to business correspondence, advertising, supplements, subscriptions or permissions, please contact:

Judy Bai
Senior Publishing Manager
Unit 10-11, 42F, The Center
989 Changle Road
Shanghai, 200031, China
T: +86 (21) 24225005
E: j.bai@nature.com

For enquiries related to manuscripts in production and editorial processes, please contact:

International Journal of Oral Science editorial office
West China School of Stomatology
Sichuan University
No.14 Section 3 Renminnan Road
Chengdu
Sichuan 610041
China
T: + 86-28-85502415
F: +86-28-85582167
E: ijos@scu.edu.cn

Submission of papers

If you have not done so already, [register for an account](#). Please consult the instructions below to enable you to submit your manuscript through our secure server.

Please ensure that your browser is set to accept cookies. Our tracking system requires cookies for proper operation. (If you have Windows XP, you will need to change the default settings. For more details, please refer to the 'Tips' function on this site.)

Navigating the System

When you first access the manuscript tracking system, you will be taken to your Home page, where different categories of tasks are listed. If you are required to perform a pending action item or task, there will be a **red arrow** ➔ next to a 'Manuscript' link. Throughout the system, **red arrows** ➔ reflect pending action items which you should address. If there are no red arrows visible on your Home page, then you are finished and have no outstanding tasks to complete.

At any time please press [HOME](#) to go to the submission home page.

Process for Manuscript Submission

Please make sure you have gathered all the required manuscript information **BEFORE** starting the submission process. The manuscript submission process begins when you click on the 'Submit Manuscript' link on your homepage.

The manuscript submission process is broken down into a series of 4 tasks which gather detailed information about your manuscript and allow you to upload text and figure/image files. The sequence of tasks is as follows:

1. 'Files' – allows you to select and upload your files, then specify the order in which they should appear in the merged PDF (which is created to simplify the review process)
2. 'Manuscript Information' – asks for author details, the manuscript title, abstract, other associated manuscript information and the types and number of files being submitted.

3. 'Validate' – gives you the opportunity to check and verify the manuscript files and information before submitting.
4. 'Submit' – is the last step in the manuscript submission process, when the system performs a final check to ensure that all mandatory fields have been completed. Once your manuscript has been finalised, click on the 'Approve Submission' button to submit your manuscript for consideration.

Before you begin, you will need to have the following details for all authors. (Items in parenthesis may not be compulsory for co-authors).

- First and Last Names
- Institution
- Email Address
- (Full Postal Address)
- (Telephone Number)
- (Fax Number)

In addition you will need:

- Cover letter
- Title and Running Title (you can copy and paste this from your manuscript)
- Abstract (you can copy and paste this from your manuscript)
- Manuscript files in Word, WordPerfect, text or any RTF format
- Figures/Images in separate TIFF or JPG files, in either grayscale or CMYK colour (not RGB)
- Tables in Excel (preferred) as separate files or embedded at the end of the manuscript file

Do not embed images or figures in the text from word processing software as embedded images are not acceptable for production. (Tables are an exception to this rule.)

Saving files with Microsoft Office 2007

Microsoft Office 2007 saves files in an XML format by default (file extensions .docx, .pptx and .xlsx). Files saved in this format cannot be accepted for publication. Please save Word documents with the .doc file extension; Excel documents with the .xls file extension, and PowerPoint documents with the .ppt file extension.

Equations in Word must be created using Equation Editor 3.0

Equations created using the new equation editor in Word 2007 and saved as a 'Word 97-2003 Document' (.doc) are converted to graphics and can no longer be edited. To insert or change an equation with the previous equation editor:

- Select 'Object' on the 'Text' section of the 'Insert' tab
- In the drop-down menu - select 'Equation Editor 3.0'

Do not use the 'Equation' button in the 'Symbols' section of the 'Insert' tab.

Adobe Acrobat

Best results are achieved by using Adobe Acrobat Reader 6.0 or above to read PDF files. To install this FREE program, download from the link [here](#) and follow the on-screen instructions.

Getting Help

ANEXO D – NORMAS DA REVISTA SCIENTIFIC REPORTS

1. [nature.com](#)
2. [scientific reports](#)
3. [publish](#)
4. [submission guidelines](#)

nature research journal
MENU

Scientific Reports

Close menu

Close menuClose menu

Close menu

Submission guidelines

-
-
- [Submission guidelines](#)
-
-
- [General information for preparing manuscripts](#)
- [Cover letter](#)
- [Format of manuscripts](#)
- [Methods](#)
- [References](#)
- [Acknowledgements](#)
- [Author contributions](#)
- [Competing financial interests](#)
- [Data availability](#)
- [Supplementary information](#)
- [Figure legends](#)
- [Tables](#)
- [Equations](#)
- [General figure guidelines](#)
- [Figures for peer review](#)
- [Figures for publication](#)
- [Statistical guidelines](#)
- [Chemical and biological nomenclature and abbreviations](#)
- [Gene nomenclature](#)

- [Characterisation of chemical and biomolecular materials](#)

General information for preparing manuscripts

Format of articles

Scientific Reports publishes original research in one format, Article. In most cases we do not impose strict limits on word count or page number. We do, however, strongly encourage authors to write concisely and to adhere to the guidelines below.

Articles should ideally be no more than 11 typeset pages in length. As a guide, the main text (not including Abstract, Methods, References and figure legends) should be no more than 4,500 words. The maximum Article title length is 20 words. The Abstract — which must be no more than 200 words long and contain no references — should serve both as a general introduction to the topic and as a brief, non-technical summary of the main results and their implications.

For the main body of the text, there are no explicit requirements for section organization. According to the authors' preference, the text may be organized as best suits the research. As a guideline and in the majority of cases, however, we recommend that you structure your manuscript as follows:

- Introduction
- Results (with subheadings)
- Discussion (without subheadings)
- Methods

A specific order for the main body of the text is not compulsory and, in some cases, it may be appropriate to combine sections. Figure legends are limited to 350 words. As a guideline references should be limited to 60 (this is not strictly enforced). Footnotes should not be used.

We suggest that Articles contain no more than 8 display items ([figures](#) and/or [tables](#)). In addition, a limited number of uncaptioned molecular structure graphics and numbered mathematical equations may be included if necessary. To enable typesetting of papers, the number of display items should be commensurate with the word length — we suggest that for Articles with less than 2,000 words, no more than 4 figures/tables should be included. Please note that schemes are not used and should be presented as figures.

Authors must provide a competing financial interests statement within the manuscript file.

Submissions should include a cover letter, a manuscript text file, individual figure files and optional supplementary information files. For first submissions (i.e. not

revised manuscripts), authors may incorporate the manuscript text and figures into a single file up to 3 MB in size; the figures may be inserted in the text at the appropriate positions, or grouped at the end. Supplementary information should be combined and supplied as a single separate file, preferably in PDF format.

ONLY the following file types can be uploaded for Article text:

- txt, doc, docx, tex

A [submission template](#) is available in the [Overleaf](#) template gallery to help you prepare a LaTeX manuscript within the *Scientific Reports* formatting criteria.

Scientific Reports is read by scientists from diverse backgrounds. In addition, many are not native English speakers. Authors should, therefore, give careful thought to how their findings may be communicated clearly. Although a shared basic knowledge of science may be assumed, please bear in mind that the language and concepts that are standard in one field may be unfamiliar to non-specialists. Thus, technical jargon should be avoided and clearly explained where its use is unavoidable.

Abbreviations, particularly those that are not standard, should also be kept to a minimum. Where unavoidable, abbreviations should be defined in the text or legends at their first occurrence, and abbreviations should be used thereafter. The background, rationale and main conclusions of the study should be clearly explained. Titles and abstracts in particular should be written in language that will be readily intelligible to any scientist. We strongly recommend that authors ask a colleague with different expertise to review the manuscript before submission, in order to identify concepts and terminology that may present difficulties to non-specialist readers.

The format requirements of *Scientific Reports* are described below.

Scientific Reports uses UK English spelling.

Cover letter

Authors should provide a cover letter that includes the affiliation and contact information for the corresponding author. Authors should briefly explain why the work is considered appropriate for *Scientific Reports*. Authors are asked to suggest the names and contact information for scientific reviewers and they may request the exclusion of certain referees. Please ensure that your cover letter also includes suggestions for [Editorial Board Members](#) who would be able to handle your submission. Finally, authors should indicate whether they have had any prior

discussions with a *Scientific Reports* Editorial Board Member about the work described in the manuscript.

Format of manuscripts

In most cases we do not impose strict limits on word counts and page numbers, but we encourage authors to write concisely and suggest authors adhere to the guidelines below. For a definitive list of which limits are mandatory please visit the [submission checklist page](#).

Articles should be no more than 11 typeset pages in length. As a guide, the main text (not including Abstract, Methods, References and figure legends) should be no more than 4,500 words. The maximum title length is 20 words. The Abstract (without heading) - which must be no more than 200 words long and contain no references - should serve both as a general introduction to the topic and as a brief, non-technical summary of the main results and their implications.

The manuscript text file should include the following parts, in order: a title page with author affiliations and contact information (the corresponding author should be identified with an asterisk). The main text of an Article can be organised in different ways and according to the authors' preferences, it may be appropriate to combine sections.

As a guideline, we recommend that sections include an Introduction of referenced text that expands on the background of the work. Some overlap with the Abstract is acceptable. This may then be followed by sections headed Results (with subheadings), Discussion (without subheadings) and Methods.

The main body of text must be followed by References, Acknowledgements (optional), Author Contributions (names must be given as initials), Additional Information (including a Competing Financial Interests Statement), Figure Legends (these are limited to 350 words per figure) and Tables (maximum size of one page). Footnotes are not used.

For first submissions (i.e. not revised manuscripts), authors may choose to incorporate the manuscript text and figures into a single file up to 3 MB in size - the figures may be inserted within the text at the appropriate positions, or grouped at the end. Supplementary Information should be combined and supplied as a separate file, preferably in PDF format. The first page of the Supplementary Information file should include the title of the manuscript and the author list.

Authors who do not incorporate the manuscript text and figures into a single file should adhere to the following: all textual content should be provided in a single

file, prepared using either Microsoft Word or LaTeX; figures should be provided as individual files.

The manuscript file should be formatted as single-column text without justification. Pages should be numbered using an Arabic numeral in the footer of each page. Standard fonts are recommended and the 'symbols' font should be used for representing Greek characters.

TeX/LaTeX - Authors submitting LaTeX files may use the standard 'article' document class (or similar) or may use the wlscrep.cls file and [template provided by Overleaf](#). Non-standard fonts should be avoided; please use the default Computer Modern fonts. For the inclusion of graphics, we recommend graphicx.sty. Please use numerical references only for citations. Our system cannot accept .bib files. If references are prepared using BibTeX (which is optional), please include the .bbl file with your submission (as a 'related manuscript file') in order for it to be processed correctly; this file is included automatically in the zip file generated by Overleaf for submissions. Please see this [help article on Overleaf](#) for more details. Alternatively ensure that the references (source code) are included within the manuscript file itself. As a final precaution, authors should ensure that the complete .tex file compiles successfully on their own system with no errors or warnings, before submission.

Manuscripts published in *Scientific Reports* are not subject to in-depth copy editing as part of the production process. Authors are responsible for procuring copy editing or language editing services for their manuscripts, either before submission, or at the revision stage, should they feel it would benefit their manuscript. Such services include those provided by our affiliates [Nature Research Editing Service](#) and [American Journal Experts](#). Please note that the use of [Nature Research Editing Service](#) is at the author's own expense and in no way implies that the article will be selected for peer review or accepted for publication.

Methods

Where appropriate, we recommend that authors limit their Methods section to 1,500 words. Authors must ensure that their Methods section includes adequate experimental and characterization data necessary for others in the field to reproduce their work. Descriptions of standard protocols and experimental procedures should be given. Commercial suppliers of reagents or instrumentation should be identified only when the source is critical to the outcome of the experiments. Sources for kits should be identified. Experimental protocols that describe the synthesis of new compounds should be included. The systematic name of the compound and its bold Arabic numeral are used as the heading for the experimental protocol. Thereafter, the compound is represented by its assigned bold numeral. Authors should describe the experimental protocol in detail, referring to amounts of reagents in parentheses, when possible (eg 1.03 g, 0.100 mmol). Standard abbreviations for reagents and

solvents are encouraged. Safety hazards posed by reagents or protocols should be identified clearly. Isolated mass and percent yields should be reported at the end of each protocol.

References

References will not be copy edited by *Scientific Reports*. References will be linked electronically to external databases where possible, making correct formatting of the references essential.

References should be numbered sequentially, first throughout the text, then in tables, followed by figures; that is, references that only appear in tables or figures should be last in the reference list. Only one publication is given for each number. Only papers or datasets that have been published or accepted by a named publication, recognized preprint server or data repository should be in the numbered list; preprints of accepted papers in the reference list should be submitted with the manuscript. Published conference abstracts and numbered patents may be included in the reference list. Grant details and acknowledgements are not permitted as numbered references. Footnotes are not used.

BibTeX (.bib) bibliography files cannot be accepted. LaTeX submission must either contain all references within the manuscript .tex file itself, or (for authors using the Overleaf template) can include the .bbl file generated during the compilation process as a 'related manuscript file' (see the "Format of manuscripts" section for more details).

Scientific Reports uses standard *Nature* referencing style. All authors should be included in reference lists unless there are six or more, in which case only the first author should be given, followed by 'et al.'. Authors should be listed last name first, followed by a comma and initials (followed by full stops) of given names. Article and dataset titles should be in Roman text, only the first word of the title should have an initial capital and the title should be written exactly as it appears in the work cited, ending with a full stop. Book titles should be given in italics and all words in the title should have initial capitals. Journal and data repository names are italicized and abbreviated (with full stops) according to common usage. Volume numbers and the subsequent comma appear in bold. The full page range should be given (or article number), where appropriate.

Published papers:

Printed journals

Schott, D. H., Collins, R. N. & Bretscher, A. Secretory vesicle transport velocity in living cells depends on the myosin V lever arm length. *J. Cell Biol.* **156**, 35-39 (2002).

Online only

Bellin, D. L. *et al.* Electrochemical camera chip for simultaneous imaging of multiple metabolites in biofilms. *Nat. Commun.* **7**, 10535; 10.1038/ncomms10535 (2016).

For papers with more than five authors include only the first author's name followed by 'et al.'.

Books:

Smith, J. Syntax of referencing in *How to reference books* (ed. Smith, S.) 180-181 (Macmillan, 2013).

Online material:

Manaster, J. Sloth squeak. *Scientific American Blog Network* <http://blogs.scientificamerican.com/psi-vid/2014/04/09/sloth-squeak> (2014).

Hao, Z., AghaKouchak, A., Nakhjiri, N. & Farahmand, A. Global integrated drought monitoring and prediction system (GIDMaPS) data sets. *figshare* <http://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.853801> (2014).

Acknowledgements

Acknowledgements should be brief, and should not include thanks to anonymous referees and editors, or effusive comments. Grant or contribution numbers may be acknowledged. Assistance from medical writers, proof-readers and editors should also be acknowledged here.

Author contributions

Scientific Reports requires an Author Contribution Statement as described in the [Author responsibilities](#) section of our [Editorial and Publishing Policies](#).

Competing financial interests

A [competing financial interests statement](#) is required for all accepted papers published in *Scientific Reports*. If there is no conflict of interest, a statement declaring this will still be included in the paper.

Data availability

Scientific Reports requires a Data Availability Statement to be included in the Methods section of submitted manuscripts (see '[Availability of materials and data](#)' section for more information).

Supplementary Information

Any Supplementary Information should be submitted with the manuscript and will be sent to referees during peer review. It is published online with accepted manuscripts. We request that authors avoid "data not shown" statements and instead make their data available via deposition in a public repository (see '[Availability of materials and data](#)' for more information). Any data necessary to evaluation of the claims of the paper that are not available via a public depository should be provided as Supplementary Information. Supplementary Information is not edited, typeset or proofed, so authors should ensure that it is clearly and succinctly presented at initial submission, and that the style and terminology conform to the rest of the paper. Authors should include the title of the manuscript and full author list on the first page.

The guidelines below detail the creation, citation and submission of Supplementary Information - publication may be delayed if these are not followed correctly. Please note that modification of Supplementary Information after the paper is published requires a formal correction, so authors are encouraged to check their Supplementary Information carefully before submitting the final version.

1. Multiple pieces of Supplementary Information can be combined and supplied as a single file, or supplied separately (e.g. supplementary videos, spreadsheets [.csv or .xlsx] or data files).
2. Designate each item as Supplementary Table, Figure, Video, Audio, Note, Data, Discussion, Equations or Methods, as appropriate. Number Supplementary Tables and Figures as, for example, "Supplementary Table S1". This numbering should be separate from that used in tables and figures appearing in the main article. Supplementary Note or Methods should not be numbered; titles for these are optional.
3. Refer to each piece of supplementary material at the appropriate point(s) in the main article. Be sure to include the word "Supplementary" each time one is mentioned. Please do not refer to individual panels of supplementary figures.
4. Use the following examples as a guide (note: abbreviate "Figure" as "Fig." when in the middle of a sentence): "Table 1 provides a selected subset of the most active compounds. The entire list of 96 compounds can be found as Supplementary Table S1 online." "The biosynthetic pathway of L-ascorbic acid in animals involves intermediates of the D-glucuronic acid pathway (see Supplementary Fig. S2 online). Figure 2 shows..."
5. Remember to include a brief title and legend (incorporated into the file to appear near the image) as part of every figure submitted, and a title as part of every table.
6. File sizes should be as small as possible, with a maximum size of 50 MB, so that they can be downloaded quickly.

Further queries about submission and preparation of Supplementary Information should be directed to email: scientificreports@nature.com.

Figure legends

Figure legends begin with a brief title sentence for the whole figure and continue with a short description of what is shown in each panel in sequence and the symbols used; methodological details should be minimised as much as possible. Each legend must total no more than 350 words. Text for figure legends should be provided in numerical order after the references.

Tables

Please submit tables in your main article document in an editable format (Word or TeX/LaTeX, as appropriate), and not as images. Tables that include statistical analysis of data should describe their standards of error analysis and ranges in a table legend.

Equations

Equations and mathematical expressions should be provided in the main text of the paper. Equations that are referred to in the text are identified by parenthetical numbers, such as (1), and are referred to in the manuscript as "equation (1)".

If your manuscript is or will be in .docx format and contains equations, you must follow the instructions below to make sure that your equations are editable when the file enters production.

If you have not yet composed your article, you can ensure that the equations in your .docx file remain editable in .doc by enabling "Compatibility Mode" before you begin. To do this, open a new document and save as Word 97-2003 (*.doc). Several features of Word 2007/10 will now be inactive, including the built-in equation editing tool. You can insert equations in one of the two ways listed below.

If you have already composed your article as .docx and used its built-in equation editing tool, your equations will become images when the file is saved down to .doc. To resolve this problem, re-key your equations in one of the two following ways.

1. Use MathType to create the equation. MathType is the recommended method for creating equations.
2. Go to Insert > Object > Microsoft Equation 3.0 and create the equation.

If, when saving your final document, you see a message saying "Equations will be converted to images", your equations are no longer editable and we will not be able to accept your file.

General figure guidelines

Authors are responsible for obtaining permission to publish any figures or illustrations that are protected by copyright, including figures published elsewhere and pictures taken by professional photographers. The journal cannot publish images downloaded from the internet without appropriate permission.

Figures should be numbered separately with Arabic numerals in the order of occurrence in the text of the manuscript. When appropriate, figures should include error bars. A description of the statistical treatment of error analysis should be included in the figure legend. Please note that schemes are not used; sequences of chemical reactions or experimental procedures should be submitted as figures, with appropriate captions. A limited number of uncaptioned graphics depicting chemical structures - each labelled with their name, by a defined abbreviation, or by the bold Arabic numeral - may be included in a manuscript.

Figure lettering should be in a clear, sans-serif typeface (for example, Helvetica); the same typeface in the same font size should be used for all figures in a paper. Use 'symbols' font for Greek letters. All display items should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, spurious decorative effects (such as three-dimensional 'skyscraper' histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. Labelling must be of sufficient size and contrast to be readable, even after appropriate reduction. The thinnest lines in the final figure should be no smaller than one point wide. Authors will see a proof that will include figures.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case bold a, b, and so on, in the same type size as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with only the first letter of each label capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature (for example, ms rather than msec) or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by commas (1,000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined on the bar itself rather than in the legend. In legends, please use visual cues rather than verbal explanations such as "open red triangles".

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

Figures for peer review

At the initial submission stage authors may choose to upload separate figure files or to incorporate figures into the main article file, ensuring that any inserted figures are of sufficient quality to be clearly legible.

When submitting a revised manuscript all figures must be uploaded as separate figure files ensuring that the image quality and formatting conforms to the specifications below.

Figures for publication

Each complete figure must be supplied as a separate file upload. Multi-part/panel figures must be prepared and arranged as a single image file (including all sub-parts; a, b, c, etc.). Please do not upload each panel individually.

Please read the [digital images integrity and standards](#) section of our [Editorial and Publishing Policies](#). When possible, we prefer to use original digital figures to ensure the highest-quality reproduction in the journal. For optimal results, prepare figures to fit A4 page-width. When creating and submitting digital files, please follow the guidelines below. Failure to do so, or to adhere to the following guidelines, can significantly delay publication of your work.

Authors are responsible for obtaining permission to publish any figures or illustrations that are protected by copyright, including figures published elsewhere and pictures taken by professional photographers. The journal cannot publish images downloaded from the internet without appropriate permission.

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

1. Line art, graphs, charts and schematics

For optimal results, all line art, graphs, charts and schematics should be supplied in vector format, such as EPS or AI, and should be saved or exported as such directly from the application in which they were made. Please ensure that data points and axis labels are clearly legible.

2. Photographic and bitmap images

All photographic and bitmap images should be supplied in a bitmap image format such as tiff, jpg, or psd. If saving tiff files, please ensure that the compression option is selected to avoid very large file sizes.

Please do not supply Word or Powerpoint files with placed images. Images can be supplied as RGB or CMYK (note: we will not convert image colour modes).

Figures that do not meet these standards will not reproduce well and may delay publication until we receive high-resolution images.

3. Chemical structures

Chemical structures should be produced using ChemDraw or a similar program. All chemical compounds must be assigned a bold, Arabic numeral in the order in which the compounds are presented in the manuscript text. Structures should then be exported into a 300 dpi RGB tiff file before being submitted.

4. Stereo images

Stereo diagrams should be presented for divergent 'wall-eyed' viewing, with the two panels separated by 5.5 cm. In the final accepted version of the manuscript, the stereo images should be submitted at their final page size.

Statistical guidelines

Every article that contains statistical testing should state the name of the statistical test, the *n* value for each statistical analysis, the comparisons of interest, a justification for the use of that test (including, for example, a discussion of the normality of the data when the test is appropriate only for normal data), the alpha level for all tests, whether the tests were one-tailed or two-tailed, and the actual *P* value for each test (not merely "significant" or " $P < 0.05$ "). It should be clear what statistical test was used to generate every *P* value. Use of the word "significant" should always be accompanied by a *P* value; otherwise, use "substantial," "considerable," etc.

Data sets should be summarized with descriptive statistics, which should include the *n* value for each data set, a clearly labelled measure of centre (such as the mean or the median), and a clearly labelled measure of variability (such as standard deviation or range). Ranges are more appropriate than standard deviations or standard errors for small data sets. Graphs should include clearly labelled error bars. Authors must state whether a number that follows the $\pm$ sign is a standard error (s.e.m.) or a standard deviation (s.d.).

Authors must justify the use of a particular test and explain whether their data conform to the assumptions of the tests. Three errors are particularly common:

- Multiple comparisons: When making multiple statistical comparisons on a single data set, authors should explain how they adjusted the alpha level to avoid an inflated Type I error rate, or they should select statistical tests appropriate for multiple groups (such as ANOVA rather than a series of *t*-tests).
- Normal distribution: Many statistical tests require that the data be approximately normally distributed; when using these tests, authors should

explain how they tested their data for normality. If the data do not meet the assumptions of the test, then a non-parametric alternative should be used instead.

- Small sample size: When the sample size is small (less than about 10), authors should use tests appropriate to small samples or justify their use of large-sample tests.

There is a [checklist](#) available to help authors minimize the chance of statistical errors.

Chemical and biological nomenclature and abbreviations

Molecular structures are identified by bold, Arabic numerals assigned in order of presentation in the text. Once identified in the main text or a figure, compounds may be referred to by their name, by a defined abbreviation, or by the bold Arabic numeral (as long as the compound is referred to consistently as one of these three).

When possible, authors should refer to chemical compounds and biomolecules using systematic nomenclature, preferably using [IUPAC](#). Standard chemical and biological abbreviations should be used. Unconventional or specialist abbreviations should be defined at their first occurrence in the text.

Gene nomenclature

Authors should use approved nomenclature for gene symbols, and use symbols rather than italicized full names (for example Ttn, not titin). Please consult the appropriate nomenclature databases for correct gene names and symbols. A useful resource is LocusLink.

Approved human gene symbols are provided by HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC), e-mail: hgnc@genenames.org; see also www.genenames.org. Approved mouse symbols are provided by The Jackson Laboratory, e-mail: nomen@informatics.jax.org; see also www.informatics.jax.org/mgihome/nomen.

For proposed gene names that are not already approved, please submit the gene symbols to the appropriate nomenclature committees as soon as possible, as these must be deposited and approved before publication of an article.

Avoid listing multiple names of genes (or proteins) separated by a slash, as in 'Oct4/Pou5f1', as this is ambiguous (it could mean a ratio, a complex, alternative names or different subunits). Use one name throughout and include the other at first mention: 'Oct4 (also known as Pou5f1)'.

Characterization of chemical and biomolecular materials

Scientific Reports is committed to publishing technically sound research.

Manuscripts submitted to the journal will be held to rigorous standards with respect to experimental methods and characterization of new compounds. Authors must provide adequate data to support their assignment of identity and purity for each new compound described in the manuscript. Authors should provide a statement confirming the source, identity and purity of known compounds that are central to the scientific study, even if they are purchased or resynthesized using published methods.

1. Chemical identity

Chemical identity for organic and organometallic compounds should be established through spectroscopic analysis. Standard peak listings (see formatting guidelines below) for ^1H NMR and proton-decoupled ^{13}C NMR should be provided for all new compounds. Other NMR data should be reported (^{31}P NMR, ^{19}F NMR, etc.) when appropriate. For new materials, authors should also provide mass spectral data to support molecular weight identity. High-resolution mass spectral (HRMS) data are preferred. UV or IR spectral data may be reported for the identification of characteristic functional groups, when appropriate. Melting-point ranges should be provided for crystalline materials. Specific rotations may be reported for chiral compounds. Authors should provide references, rather than detailed procedures, for known compounds, unless their protocols represent a departure from or improvement on published methods.

2. Combinational compound libraries

Authors describing the preparation of combinatorial libraries should include standard characterization data for a diverse panel of library components.

3. Biomolecular identity

For new biopolymeric materials (oligosaccharides, peptides, nucleic acids, etc.), direct structural analysis by NMR spectroscopic methods may not be possible. In these cases, authors must provide evidence of identity based on sequence (when appropriate) and mass spectral characterization.

4. Biological constructs

Authors should provide sequencing or functional data that validates the identity of their biological constructs (plasmids, fusion proteins, site-directed mutants, etc.) either in the manuscript text or the Methods section, as appropriate.

5. Sample purity

Evidence of sample purity is requested for each new compound. Methods for purity analysis depend on the compound class. For most organic and organometallic

compounds, purity may be demonstrated by high-field ^1H NMR or ^{13}C NMR data, although elemental analysis ($\pm 0.4\%$) is encouraged for small molecules. Quantitative analytical methods including chromatographic (GC, HPLC, etc.) or electrophoretic analyses may be used to demonstrate purity for small molecules and polymeric materials.

6. Spectral data

Detailed spectral data for new compounds should be provided in list form (see below) in the Methods section. Figures containing spectra generally will not be published as a manuscript figure unless the data are directly relevant to the central conclusions of the paper. Authors are encouraged to include high-quality images of spectral data for key compounds in the Supplementary Information. Specific NMR assignments should be listed after integration values only if they were unambiguously determined by multidimensional NMR or decoupling experiments. Authors should provide information about how assignments were made in a general Methods section.

Example format for compound characterization data. mp: 100-102 °C (lit.^{ref} 99-101 °C); TLC (CHCl_3 :MeOH, 98:2 v/v): R_f = 0.23; $[\alpha]_D$ = -21.5 (0.1 M in n-hexane); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9.30 (s, 1H), 7.55-7.41 (m, 6H), 5.61 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.40 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.93 (m, 1H), 4.20 (q, J = 8.5 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.25 (t, J = 8.5 Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 165.4, 165.0, 140.5, 138.7, 131.5, 129.2, 118.6, 84.2, 75.8, 66.7, 37.9, 20.1; IR (Nujol): 1765 cm^{-1} ; UV/Vis: λ_{max} 267 nm; HRMS (m/z): $[\text{M}]^+$ calcd. for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5$, 420.0406; found, 420.0412; analysis (calcd., found for $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5$): C (57.16, 57.22), H (3.60, 3.61), Cl (16.87, 16.88), N (3.33, 3.33), O (19.04, 19.09).

7. Crystallographic data for small molecules

Manuscripts reporting new three-dimensional structures of small molecules from crystallographic analysis should include a .cif file and a structural figure with probability ellipsoids for publication as Supplementary Information. These must have been checked using the IUCR's [CheckCIF](#) routine, and a PDF copy of the output must be included with the submission, together with a justification for any alerts reported. Crystallographic data for small molecules should be submitted to the [Cambridge Structural Database](#) and the deposition number referenced appropriately in the manuscript. Full access must be provided on publication.

8. Macromolecular structural data

Manuscripts reporting new structures should contain a table summarizing structural and refinement statistics. Templates are available for such tables describing [NMR](#) and [X-ray crystallography](#) data. To facilitate assessment of the quality of the structural data, a stereo image of a portion of the electron density map (for crystallography papers) or of the superimposed lowest energy structures (≥ 10 ; for NMR papers) should be provided with the submitted manuscript.

ANEXO E - NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF DENTISTRY



- [Submit your paper](#)
- [Track your paper](#)

- [Order journal](#)
- [View articles](#)
- [Free sample](#)
- [Abstracting](#)
- [Editorial board](#)

- 1. [Browse journals](#)

- 2. [Journal of Dentistry](#)

- 3. [Guide for authors](#)

Guide for Authors



[Author information pack](#)

INTRODUCTION

- [Submissions](#)
- [Types of paper](#)
- [Authorship](#)
- [Submission checklist](#)

BEFORE YOU BEGIN

- [Ethics in publishing](#)
- [Human and animal rights](#)

• [Clinical trial results](#)

• [Copyright](#)

• [Role of the funding source](#)

• [Open access](#)

• [Submission](#)

PREPARATION

- [Peer review](#)
- [Essential title page information](#)

• [Tables](#)

• [References](#)

• [Video](#)

• [Supplementary material](#)

RESEARCH DATA

• [AudioSlides](#)

AFTER ACCEPTANCE

• [Declaration of interest](#)

• [Submission declaration and verification](#)

• [Changes to authorship](#)

• [Abstract](#)

• [Keywords](#)

• [Artwork](#)

• [Online proof correction](#)

• [Offprints](#)

AUTHOR INQUIRIES



Introduction

Editor-in-Chief

Christopher D. Lynch
School of Dentistry
Cardiff University
Heath Park, Cardiff,
CF14 4NQ, UK
Email: lynched@cardiff.ac.uk

Editorial Office

Elsevier Ltd
Stover Court
Bampfylde Street
Exeter
EX1 2AH, UK
Tel: +44 (0) 1392 285879
Fax: +44 (0) 1865 853132
E-mail: JOD@elsevier.com

The Journal of Dentistry is the leading international dental journal within the field of Restorative Dentistry. Placing an emphasis on publishing novel and high-quality research papers, the Journal aims to influence the practice of dentistry at clinician, research, industry and policy-maker level on an international basis.

Topics covered include the management of dental disease, periodontology, endodontology, operative dentistry, fixed and removable prosthodontics, and dental biomaterials science, long-term clinical trials including epidemiology and oral health, dental education, technology transfer of new scientific instrumentation or procedures, as well clinically relevant oral biology and translational research. Submissions are welcomed from other clinically relevant areas, however, the Journal places an emphasis on publishing high-quality and novel research.

Queries in relation to manuscript content should be directed to the Journal Editorial Office in the first instance.

Submissions

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for Journal of Dentistry. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the

editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/jjod>

Types of paper

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
- Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
- Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
- Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the Journal.

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to Journal of Dentistry and that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. Prospective authors should confirm that the submitted work, including images, are original. Authors are reminded that if included images (e.g. Tables and Figures) have been previously published may require copyright permission.

Please note the Journal of Dentistry does not accept Case Reports and these will be removed from the system if submitted.

Authorship

Only those persons who have made a significant contribution to the manuscript submitted should be listed as authors. The Editor-in-Chief expects that a manuscript should normally have no more than 6 authors, unless a case is made by the corresponding author within the article cover letter to include other authors. All of the named authors should have been involved in the work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).



Before You Begin

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association](#) (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; [Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals](#). Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) 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 then please state this: 'Conflicts of interest: none'. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [CrossCheck](#).

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Clinical trial results

In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (e.g., investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion,

and a detailed description of the randomization procedure. The [CONSORT checklist and template flow diagram](#) are available online.

Registration of clinical trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with [International Committee of Medical Journal Editors](#) recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information](#).

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. 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.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 2200**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their

manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jjod>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.



Preparation

Peer review

This journal operates a double blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the

scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Introduction

The introduction must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question, and the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue. In keeping with the house style of Journal of Dentistry, the final paragraph of the introduction should clearly state the aims and/or objective of the work being reported. Prospective authors may find the following form of words to be helpful: "The aim of this paper is to ..." Where appropriate, a hypothesis (e.g. null or a priori) should then be stated.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

The **title page** should contain the following information:

- Title of paper
- Short title
- Name(s), job titles and address(es) of author(s) (no academic degrees necessary)
- Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
- Up to 6 keywords

Spelling: International English.

Authors are urged to write as concisely as possible.

The house style of Journal of Dentistry requires that articles should be arranged in the following order: Title, Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Tables, Figures. A **cover letter** should accompany the new manuscript submission, within which the authors should indicate the significance of the work being submitted in a statement no more than 100 words. A signed **permission note** (details below) must also be included.

Abstract: should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions). A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

Introduction: must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question, and the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue. In keeping with the house style of Journal of Dentistry, the final paragraph of the introduction should clearly state the aims and/or objective of the work being reported. Prospective authors may find the following form of words to be helpful: "The aim of this paper is to ..." Where appropriate, a hypothesis (e.g. null or a priori) should then be stated.

Keywords: up to 6 keywords should be supplied.

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Units: SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.

The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

Statistics

Statistical methods should be described with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, findings should be quantified and appropriate measures of error or uncertainty (such as confidence intervals) given. Details about eligibility criteria for subjects, randomization and the number of observations should be included. The computer

software and the statistical method(s) used should be specified with references to standard works when possible (with pages specified). See http://www.icmje.org/manuscript_1prepare.html for more detailed guidelines.

Illustrations: should be submitted electronically using appropriate commercial software. Prospective authors should follow the relevant guidelines (available from: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>). In addition, it is noted that while authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, journals published by Elsevier apply the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Abstract

The Abstract should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives; Methods; Results; Conclusions. A 50 word 'Clinical Significance' statement should appear at the end of the abstract advising readers of the clinical importance and relevance of their work. These subheadings should appear in the text of the abstract. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

For Review Articles the abstract should be presented under the following subheadings: Objectives; Data; Sources; Study selection; Conclusions.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

Keywords

Provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and

line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Illustration services

[Elsevier's WebShop](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full.

Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most

popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#) and [Zotero](#), as well as [EndNote](#). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-dentistry>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given. Example: '..... as demonstrated [3,6]. Barnaby and Jones [8] obtained a different result'

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, *J. Sci. Commun.* 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

[2] W. Strunk Jr., E.B. White, *The Elements of Style*, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK, Cancer statistics reports for the UK.

<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (accessed 13.03.03).

Reference to a dataset:

[dataset] [5] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring

to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB in total. Any single file should not exceed 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

RESEARCH DATA

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1Go1020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to *Mendeley Data*. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.



After Acceptance

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. 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. It is important to ensure that all 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.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

The decision of the Editor-in-Chief is final in relation to all manuscript submissions.



Author Inquiries

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch. You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

CLOSE

- [Home](#)
- [About](#)
- [Careers](#)
- [Elsevier Connect](#)
- [Authors](#)
- [Editors](#)
- [Librarians](#)
- [Reviewers](#)
- [Books and Journals](#)
- [Author Webshop](#)
- [R&D Solutions](#)

- [Research Intelligence](#)
- [Clinical Solutions](#)
- [Education Solutions](#)
- [Research Platforms](#)
- [All Solutions](#)
- [Support Center](#)

- Solutions
 - [Scopus](#)
 - [ScienceDirect](#)
 - [Mendeley](#)
 - [Evolve](#)
 - [Knovel](#)
 - [Reaxys](#)
 - [ClinicalKey](#)
- Researchers
 - [Submit your paper](#)
 - [Find books & journals](#)
 - [Visit Author Hub](#)
 - [Visit Editor Hub](#)
 - [Visit Librarian Hub](#)
 - [Visit Reviewer Hub](#)
 - [Support center](#)
- Elsevier
 - [Our business](#)
 - [Careers](#)
 - [Newsroom](#)
 - [Contact](#)
 - [Events](#)
 - [Advertising](#)
 - [Publisher relations](#)
- Website
 - [Sitemap](#)
 - [Website feedback](#)

Follow Elsevier

ANEXO F -ARTIGO PUBLICADO 1

International Medical Society
<http://imedsociety.org>

INTERNATIONAL ARCHIVES OF MEDICINE
Section: Dental Medicine
ISSN: 1755-7682

2017
Vol. 10 No. 113
doi: 10.3823/2383

Removal of Artificial Dental Calculus by Use of Conventional and Diamond Ultrasound Tips

ORIGINAL

Roberto Carlos Mourão Pinho¹,
 Fernanda Benevides Viana de Amorim¹,
 Quitéria Maria Wanderley Albuquerque Tenório²,
 Thiago Amadei Pegoraro³,
 Luiz Alexandre Moura Penteado², Renata Cômães¹

¹ Federal University of Pernambuco-PPGODONTO-UFPE, Pernambuco, Brazil.
² University Center Cosmac- Alagoas, Brazil;
³ Sacred Heart University, Department of Health, Faculty of Dentistry, Bauru- São Paulo, Brazil.

Abstract

Introduction: Periodontal disease is considered a public health problem and may lead to serious complications for general health of patient. The main therapeutic procedure is scaling and root planing, which can be performed by a variety of techniques and instruments

Objective: The aim of the present study was to evaluate the removal of calculus, produced artificially, by using a conventional ultrasonic tip and a diamond – CVD tip.

Method: The calculus was produced with artificial sawdust and glue-based cyanoacrylate and distributed in twenty areas following standardization on two plates of acrylic resin (chemical activated), holding 10 samples per plate. Standards/samples were divided by lot into two simple groups, being A (treated with conventional tip) and B (treated with CVD tip).

Results: The treatment in Group A, promoted an average area of $20.48 \pm 4.20 \text{ mm}^2$ free of artificial calculus which is significantly higher ($p < 0.05$) than the area removed in Group B ($15.37 \pm 5.29 \text{ mm}^2$).

Conclusion: The results showed that the conventional tip presented higher results than CVD tip for efficacy in the removal of calculus.

Key words
 Periodontal; Disease; Root; Decontamination; Ultrasound.

Contact information:
Roberto Carlos Mourão Pinho.
Address: Rua Camilo Collier, 50 cordeiro Recife, PE, 50721-220, Brazil.
Tel: +558132785042.
 ✉ robertomouraspinho@yahoo.com.br

ANEXO G - ARTIGO PUBLICADO 2

International
Medical Society
<http://imedsociety.org>

INTERNATIONAL ARCHIVES OF MEDICINE
SECTION: DENTAL MEDICINE
ISSN: 1755-7682

2017
Vol. 10 No. 222
doi: 10.3823/2492

The Impact of Malocclusion on Quality of Life and Life Satisfaction

ORIGINAL

Antonio Franklin Cordeiro Neto¹, Roberto Carlos Mourão Pinho¹, Raulison Vieira de Sousa¹, Bruna de Carvalho Farias Vajgel¹, Renata Címões¹

¹ Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.

Contact Information:
Roberto Carlos Mourão Pinho.
Address: Av. Professor Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária, Recife, PE/Brasil. CEP: 50670-90.
Tel./Fax: +55 81 2126-8816
 ✉ robertomouracpinho@yahoo.com.br

Abstract

Introduction: The concept of quality of life is related to the individuals perception of their position in life in the context of the culture and value systems in which they live and in relation to their goals, expectations, standards and concerns

Objective: The aim of this study was to evaluate whether the type of malocclusion affects the perception of quality and satisfaction with people's lives. Three questionnaires were applied: the first one assessed the social and economic factors and the diagnosis of malocclusion through Angle's classification, the second was the OHIP-14, and the third was the Satisfaction With Life Scale (SWLS).

Results: This study involved 444 patients aged 18 to 72 years. According to the classification of malocclusion 48.65% was Class I, 22.75% was Class II division 1, 12.16% was Class II division 2 and Class III 16.44%. The malocclusion did not have negative impact on the level of satisfaction with life, but in all dimensions analyzed by OHIP-14, malocclusion had negative impact on quality of life and was statistically significant. The most severe malocclusions such as Class II and Class III represent a more negative impact when compared to Class I malocclusion. Moreover, for the dimensions assessed by the OHIP-14, physical pain and psychological discomfort were those who showed a greater negative impact on quality of life.

Conclusions: Malocclusions do not interfere with the judgment of the level of satisfaction with life, but they produce a negative impact on quality of life.

Keywords
Quality of Life; Malocclusion;
Well-Being.

ANEXO H - ARTIGO PUBLICADO 3

International
Medical Society
<http://imedicalsociety.org>

INTERNATIONAL ARCHIVES OF MEDICINE
Section: Dental Medicine
ISSN: 1755-7682

2017

Vol. 10 No. 187
doi: 10.3823/2457

Evaluation of Oral Hygiene in Patients with Visual Disabilities

ORIGINAL

Roberto Carlos Mourão Pinho¹,
Leogenes Mala Santiago²,
Renata de Almada²,
Bruna de Carvalho Farias
Vajgel¹,
Renata Cômões¹

¹ Federal University of Pernambuco,
Pernambuco, Brazil.

² Faculty of Dentistry of the Caruaruense
Association of Higher Education,
ASCES, Pernambuco, Brazil.

Contact Information:

Roberto Carlos Mourão Pinho.

Address: Rua Camilo Collier, 50 Cordeiro
Recife, PE, 50721-220, Brazil.
Tel: +5581999683145.

✉ robertomourazpinho@yahoo.com.br

Abstract

Introduction: Patients with visual impairment present greater difficulty in achieving adequate oral hygiene due to restricted eyesight. Therefore, oral hygiene motivation and instruction methods should be adapted to these patients to understand the importance of bacterial plaque control, both for the health of dental tissues and periodontal tissues.

Objective: The objective of the present study was to compare the plaque index (PI) of patients with and without visual impairment before and after the institution of oral hygiene instructions. Twenty patients with visual impairment (Group 1) from the Instituto dos Cegos and 20 without visual impairment (Group 2) from the ASCES Periodontia Clinic were selected. Data were collected through the PI of O'Leary and reevaluated every 21 days for four sessions.

Results: In both groups, the mean of PI decreased with the time of evaluation, with a significant difference between the evaluations ($p < 0.001$). Group 1 had a mean PI higher than group 2 only in the fourth evaluation, but there was no significant difference ($p > 0.05$). As for the mean of the PI assessments, group 2 presented a mean higher than group 1, but without significant difference ($p > 0.05$).

Conclusion: The study therefore suggests that there is no difference in PI in patients with or without visual impairment, and that the guidelines stimulate and motivate an improvement in oral hygiene conditions.

Keywords

Visually Impaired Persons;
Dental Plaque; Oral Hygiene.

Introduction

The process of infection and inflammation promotes the destruction of the protective tissues and support of the dental elements causing

ANEXO I - ARTIGO PUBLICADO 4

SAÚDE ORAL E QUALIDADE DE VIDA

ORAL HEALTH AND QUALITY OF LIFE

Romário Correia dos Santos¹, Marcela Sandy Valença de Barros², Roberto Carlos Mourão Pinho³, Renata Ordes³

1 - Acadêmicos do curso de graduação em odontologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

2 - Doutorando em ciência integrada - UFPE, Recife - PE, Brasil.

3 - Professora doutora efetiva do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-facial - UFPE, Recife - PE, Brasil.

Descrições:

Diabetes mellitus tipo 2, periodontite crônica, qualidade de vida, saúde bucal.

Resumo

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é um dos maiores problemas em saúde pública do mundo, tendo desfechos clínicos sistêmicos, nefropatia, retinopatia e cardiopatia, acarretando gastos socioeconômicos nos sistemas de saúde pela alta morbidade e mortalidade. A saúde oral é atingida diretamente e uma das consequências é a periodontite crônica, que a princípio está diretamente relacionada com a gravidade do DM2 tem reflexos significativos na perda da qualidade de vida, trazendo não apenas problemas estéticos ou metabólicos, mas também psicológicos, pela baixa autoestima relatada pelos pacientes atores de metodologias como o OHRP-14. Esta revisão de literatura versa sobre a qualidade de vida de pacientes com periodontite crônica sendo uma complicação do diabetes mellitus tipo 2.

Description:

Type 2 diabetes mellitus, chronic periodontitis, quality of life, oral health.

Abstract

The type 2 diabetes mellitus (T2DM) is a major public health problem in the world, and systemic clinical outcomes, nephropathy, retinopathy and heart disease, leading to each level spending on health systems for the high morbidity and mortality. Oral health is affected directly and one consequence is chronic periodontitis, which condition is being directly related to the severity of DM2 has significant outcomes in the loss of quality of life, bringing not only aesthetic or metabolic problems, but also mental, low self-esteem reported by patients through methodologies such as OHRP-14. This review literature review on the quality of life of patients with chronic periodontitis being a complication of type 2 diabetes mellitus.

15

Autora Correspondente:

Renata Ordes Jovino Silveira

Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Centro de Ciências da Saúde - CCS | Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-facial

Av Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária - Recife - PE | 50670-901

Telephone: (81) 21358817 | E-mail: renata.ordes@ufpe.br

INTRODUÇÃO

Indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) constituem 90% de todos os pacientes diabéticos^{1,2}. As complicações agudas e crônicas do diabetes causam alta morbimortalidade, acarretando altos custos para os sistemas de saúde. Gastos relacionados ao diabetes mundialmente, em 2010, foram estimados em 11,6% do total dos gastos com atenção em saúde, dados brasileiros sugerem valores semelhantes³.

A ocorrência de periodontite em DM2 comumente sugere que ambas as condições têm elementos comuns de patogênese como ambos têm, também, a inflamação como causalidade comum. Isto é apoiado pelo fato de que o diabetes do tipo 2 é um fator de risco significativo para o desenvolvimento da doença periodontal e aumenta a gravidade de infecções periodontais⁴. A periodontite é uma doença inflamatória na cavidade oral, induzida por bactérias, que destroem as estruturas de suporte dos dentes e pode

potencialmente produzir impactos sobre a qualidade de vida relacionados com a saúde bucal do indivíduo (QVRSB)⁵.

Um estudo de Meusel et al (2015) mostra que a gravidade da doença periodontal é inversamente associada com a qualidade de vida em adultos no Brasil. A periodontite severa tem significativo impacto sobre a limitação funcional, dor física, incapacidade física e psicológica⁶. Tendo impactos significativos sobre os aspectos da vida diária e qualidade de vida, como a redução da confiança e auto-estima, gerando assim impactos negativos sobre as interações sociais dos indivíduos⁷.

Existem diferenças significativas na qualidade de vida relacionada à saúde bucal (QVRSB) entre pacientes com periodontite crônica e os que não, sendo que os pacientes com experiência de periodontite, em particular, apresentam impactos físicos, psicológicos e sociais na sua QVRSB como um resultado da sua condição bucal⁸, portanto, pretende-se com este estudo realizar uma revisão de literatura sobre a qualidade de vida de pacientes com periodontite crônica sendo uma complicação do diabetes mellitus tipo 2.

ANEXO J - ARTIGO PUBLICADO 5

ANXIETY IN CAREGIVERS OF INDIVIDUALS WITH DISABILITIES

ARTICLE

ABSTRACT

Purpose: The aim of this study was to compare state anxiety, trait anxiety, and dental anxiety in caregivers of patients with special needs and caregivers of pediatric patients without special needs at dental clinics.

Materials and Methods: A quantitative, cross-sectional study was conducted. Data were collected using a semistructured questionnaire. All respondents were older than 18 years of age. Individuals with cognitive impairment and those taking anxiolytics, antidepressants, or sleep-inducing medication were excluded from the study. The sample consisted of 55 caregivers of patients with special needs and 55 caregivers of pediatric dental patients. A questionnaire was administered to determine the sociodemographic profile of the patients based on the 2015 Brazilian Economic Classification Criteria. Anxiety regarding dental treatment was measured using the dental anxiety scale. The state-trait anxiety inventory was used to identify state and trait anxiety levels.

Results: Caregivers of individuals with disabilities had a similar level of anxiety as caregivers of pediatric dental patients. Most caregivers of individuals with disabilities were mothers with an older age and a greater frequency of trait anxiety, especially when these mothers had health problems. State anxiety was associated with a lower education level.

Conclusions: Higher dental anxiety levels were found among caregivers with a higher level of trait anxiety, independently of the type of patient to which care was given.

KEY WORDS: fear, anxiety, developmentally disabled, psychology, behavior

State, trait, and dental anxiety in caregivers of individuals with disabilities

Roberto Carlos Mourão Pinho, PhD;^{1*} André Cavalcante da Silva Barbosa, PhD;² Arnaldo de França Caldas-Júnior, PostDoc;² Márcia Maria Vendiciano Barbosa Vasconcelos, PhD;² Renata Cimdês, PostDoc;² Maria Teresa Botti Rodrigues dos Santos, PostDoc⁴

¹Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil;

²Department of Clinic and Preventive Dentistry of the Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ³Department of Prosthodontics and Oral Surgery, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil; ⁴Postgraduate Program in Dentistry, Cruzeiro do Sul University, São Paulo, São Paulo, Brazil.

*Corresponding author e-mail: robertomourao@ufpe.br

Spec Care Dentist 37(4): 168-173, 2017

Introduction

The term anxiety is from the Greek *anxio* (ἀνξιο): "to squeeze, embrace, or throttle." The meaning evolved to "weighed down with grief, burdens, trouble" and concurrently to the Latin *anxietas*: "troubled in mind."¹ It is defined as an unpleasant state of humor manifested as apprehension, dread, anguish, and discomfort, distinguished from fear due to the fact that it often has no well-determined object, whereas the manifestation of fear is directed in a more objective manner at something, someone or some situation,² with substantial impairment and a strong risk of the development of complications and secondary mental disorders,³ such as bipolar disorder.⁴ Anxiety is also defined as a negative emotional state characterized by nervousness and worry and is associated with the activation or agitation of the body, with a component of thought, denominated cognitive anxiety, and a degree of perceived physical activation, defined as somatic anxiety.⁵

Anxiety is classified as state and trait.⁶ State anxiety varies in intensity, fluctuates in time, and regards acute situations that correspond to momentary episodes. It is a transitory emotional condition that consists of sensations of tension, apprehension, nervousness, worry, and an increase in the activity of the sympathetic autonomic nervous system. Trait anxiety regards relatively stable individual differences and behavioral responses—differences in the tendency to react to situations perceived as threatening with an increase in the state of anxiety. Trait anxiety character-

izes individuals who are particularly sensitive to stimuli and psychologically more reactive.⁷ Anxiety disorders are the most frequent types of mental disorders throughout life, with a prevalence rate of up to 30% among adolescents and young adults and twofold to threefold more frequent in the female gender.⁸

Another common type of anxiety is that which occurs before or during dental procedures. Dental anxiety is defined as abnormal apprehension provoked by the fear of going to the dentist, leading to anguished behavior caused mainly by the expectation of pain.^{9,10}

ANEXO L - ARTIGO PUBLICADO 6

Avaliação da via medicamentosa como importante fator para a sedação consciente – um relato de caso**Evaluation of the drug via as an important factor for conscious sedation - a case report**

André Cavalcante da Silva Barbosa – Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco e aluno do Curso de Especialização em Odontologia para Pacientes Especiais do COESP – PB. Email: andrecsb35@gmail.com

Roberto Carlos Mourão Pinho – Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco e aluno do Curso de Especialização em Odontologia para Pacientes Especiais do COESP – PB. Email: robertomouraopinho@yahoo.com.br

Márcia Maria Vendiciano Barbosa Vasconcelos – Professora Associada da Disciplina de Pacientes Especiais do Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva da Universidade Federal de Pernambuco. Email: marciavendiciano@yahoo.com.br

Arnaldo de França Caldas Junior – Professor Adjunto da Disciplina de Pacientes Especiais do Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva e do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco. Email: caldasjr@alideia.com.br

Autor para correspondência:

Prof. Dr. Arnaldo de França Caldas Junior - Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE - CEP: 50670-901. Telefone: (81) 21267509. Emails: caldas-jr@alideia.com.br / arnaldo.caldas@ufpe.br

ANEXO M - ARTIGO PUBLICADO 7

**RELAÇÃO CLÍNICA DA VITAMINA D, PERIODONTITE E DIABETES MELLITUS
TIPO 2****CLINICAL RELATIONSHIP OF VITAMIN D, PERIODONTITIS AND DIABETES
MELLITUS TYPE 2**

Romário Correia dos Santos¹, Marcela Sandy Valença de Barros¹, Roberto Carlos Mourão Pinho², Renata Cimões³

1 – Acadêmicos do curso de graduação em odontologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

2 – Doutorando em clínica integrada - UFPE, Recife – PE, Brasil.

3 – Professora doutora efetiva do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco facial – UFPE, Recife – PE, Brasil.

1 – Acadêmicos do curso de graduação em odontologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

2 – Doutorando em clínica integrada - UFPE, Recife – PE, Brasil.

3 – Professora doutora efetiva do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco facial – UFPE, Recife – PE, Brasil.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDENCIA:

Renata Cimões Jovino Silveira

Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE | Centro de Ciências da Saúde – CCS | Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial

Av Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária – Recife - PE | 50670-901

Telefone: (81) 21268817 | E-mail: renata.cimoes@globo.com

RESUMO

O diabetes mellitus é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas pela hiperglicemia crônica, decorrente da alteração na secreção e/ou ação da insulina. Diversos fatores contribuem para o seu início e desenvolvimento, tais como características hereditárias, dieta, estilo de vida, idade e obesidade

ANEXO N - ARTIGO SUBMETIDO 1

DEFB1 Polymorphisms and Susceptibility to Development of Chronic Periodontitis in Diabetes Mellitus Type 2 Individuals

Dias, Rayanne Soraia Aguiar de Melo^a; Pinho, Roberto Carlos Mourão^b; Almeida, Felipe Rodrigues de^c;Bandeira, Francisco^d; Celerino da Silva, Ronaldo^e; Crovella, Sergio^f; Vajgel, Bruna de Carvalho Farias^g; Cimões, Renata^{h*}

^a *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: rayanne_melo1@hotmail.com*

^b *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: robertomouraopinho@gmail.com*

^c *Doctorate student in Dentistry, Federal University of Pernambuco, Av. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. Email: almeidabiomed@gmail.com*

^d *Head of the Division of Diabetes and Endocrinology of the Agamenon Magalhães Hospital, Recife, Brazil, and Associate Professor and Professor of the Medical Sciences Faculty of the University of Pernambuco, Santo Amaro, Recife, PE, 50020-280, Brazil. Email: fbandeira@gmail.com*

^e *Researcher at the Laboratory of Immunopathology Keizo Asami (LIKA) at the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: ronaldocelerino@yahoo.com.br*

^f *Titular Professor of Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: crovelder@gmail.com*

^g *Adjunct Professor and permanent member of the Postgraduate in Dentistry of the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: bruna_farias@hotmail.com*

^{h*} *Associate Professor I and permanent member of the Postgraduate in Dentistry of the Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901, Brazil. E-mail: renata.cimoes@globo.com*

ANEXO O - ARTIGO SUBMETIDO 2

IMPACT OF DENTAL ANXIETY, DENTAL FEAR AND PERIODONTAL CONDITION IN THE QUALITY OF LIFE USERS OF DENTAL SERVICES

Luiz Alexandre Moura Penteado ¹Roberto Carlos Mourão Pinho²Natanael Barbosa dos Santos ¹Bruna de Carvalho Farias Vajgel ²Renata Cimões ²

1- Universidade Federal de Alagoas.

2- Universidade Federal de Pernambuco

Abstract

Introduction: Dental fear (DF) and dental anxiety (DA) are complications for the patient and dental care provider. These feelings of anguish raise patients' evasiveness. Delays in demand for care tend to promote a worse oral condition with a potential influence on the quality of life. **Objective:** to investigate the level of DF and DA of individuals attended at two undergraduate courses in Dentistry and determine the impact on the oral condition and quality of life. **Methodology:** observational study with census sample, with adult individuals, of both genders. The levels of DF and DA for and their impact on the perception of quality of life were determined using questionnaires (socioeconomic, MDAS, Gatchel and OHIP-14), and dental data were recorded. **Results:** Of the 287 subjects, 71.4% were female. 7.3% were very anxious and 16% anxious. The gender ($p = 0.001$) had statistically significant differences with respect to anxiety, the anxious in females represent 20%. Moderate and extreme fear had a frequency of 42.9% and no statistically significant correlation with gender ($p = 0.071$). The oral condition with negative impact on quality of life, on the OHIP-14 scale, was prevalent in 38.3% and the income variable presented statistically significant differences ($p = 0.000$). **Conclusion:** The level of dental anxiety and dental fear was prominent among those investigated, being women with lower educational level more susceptible to anxiety. These feelings were not associated with differences in periodontal condition and impact on quality of life.

Key-words: Dental Anxiety; Dental Fear; Quality of Life, Oral Health

ANEXO P - ARTIGO SUBMETIDO 3

MARCADORES SALIVARES PARA A PERIODONTITE CRÔNICA NO DIABÉTICO

TIPO 2

SALIVAR MARKERS FOR CHRONIC PERIODONTITIS IN DIABETIC TYPE 2

Romário Correia dos Santos¹, Roberto Carlos Mourão Pinho², Renata Cimões³

1 – Acadêmico do curso de graduação em odontologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

2 – Doutorando em clínica integrada - UFPE, Recife – PE, Brasil.

3 – Professora doutora efetiva do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco facial – UFPE, Recife – PE, Brasil.

Autor Correspondente:

Roberto Carlos Mourão Pinho

Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Centro de Ciências da Saúde – CCS | Departamento de Prótese e Cirurgia Buco Facial. Av Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária – Recife - PE | 50670-901

Telefone: (81) 21268817 | E-mail: robertomouraopinho@yahoo.com.br

ANEXO Q - ARTIGO SUBMETIDO 4

OSSIFYING FIBROMA IN A DOG

Roberto Carlos Mourao Pinho^{1, 3}, Andre Cavalcante da Silva Barbosa¹; Arnaldo de Franca

Caldas Junior ¹; Renata Cimo^{es1}, Fernando Leandro dos Santos²

1- Federal University of Pernambuco;

2- Rural Federal University of Pernambuco;

3- Military Police of Pernambuco.

ABSTRACT

Epulis refers to any tumor or similar growth on the gingival tissue and is considered the most frequent of benign oral masses in dogs. Epulis is classified into four types based on histological characteristics: fibromatous, ossifying, acanthomatous and giant cell. The aim of the present study was to present knowledge on benign oral tumors and epulides as well as report a clinical case of ossifying epulis in a male dog (Labrador) aged 25 months. The integrated treatment plan initiated with a diagnostic investigations through hematological, biochemical and serological exams for the study of antibodies for ehrlichiosis, anaplasmosis, dirofilariasis and Lyme disease as well as electrocardiogram and intraoral and thoracic x-rays, followed by the removal of the suspected tumor mass through excisional biopsy. The sample was sent for histopathological analysis for the definitive diagnosis, which confirmed ossifying epulis. In conclusion, surgery was the treatment of choice and only a histopathological analysis can confirm the type of oral neoplasm and prognosis.

Keywords: Oncology, gingival tissue, dog, fibroma, ossifying.

ANEXO R - ARTIGO SUBMETIDO 5

1

Single nucleotide polymorphism (rs4804803) in the *DC-SIGN* promoter region and its implications regarding the susceptibility to chronic periodontitis in individuals with type 2 diabetes mellitus

Pinho^{1*}, Roberto Carlos Mourão; Dias¹, Rayanne Soraia Aguiar de Melo; Rodrigues², Jessyca Kalynne Farias; dos Santos³, Erinaldo Ubirajara Damasceno; Bandeira^{4,5}, Francisco; Celerino da Silva², Ronaldo; Crovella^{2,6}, Sergio; Cimões¹, Renata

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brazil.

²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brazil.

³Programa de Biologia Celular e Molecular Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade de Pernambuco (UPE), Recife PE, Brazil.

⁴Divisão de Diabetes e Endocrinologia, Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife-PE, Brazil.

ANEXO S - ARTIGO ACEITO AGUARDANDO PUBLICAÇÃO 1

Below is a list of the files that were uploaded as well as a summary / cover page. Click on a file name to view the proof of that file. Files are listed in the order specified by the author.

Files Uploaded

Doc27234368-500308462

Other

Cover & Metadata

[Close Window](#)

LEVELS OF SERUM SCLEROSTIN, METABOLIC PARAMETERS AND PERIODONTITIS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH DIABETES

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease defined by hyperglycemia, which is associated with periodontal disease and exerts an effect on bone metabolism. The aim of the present study was to determine serum levels of sclerostin in postmenopausal women with diabetes and determine a possible association with periodontal disease. Sixty-one postmenopausal women (32 with diabetes and 29 without diabetes) were evaluated. Blood was collected for biochemical analysis and the determination of serum sclerostin. The participants were also submitted to a clinical examination for the evaluation of periodontal status. A total of 75.4% of the volunteers had periodontal disease and levels serum sclerostin were altered in 48.7% of the patients with diabetes. In the diabetic population, mean levels of LDL ($p = 0.035$) and urea ($p = 0.032$) were higher in the patients without periodontal disease and the plaque index was higher in those with periodontal disease ($p = 0.039$). The prevalence of periodontal disease and levels serum sclerostin were high in the postmenopausal women analyzed, but the data do not allow the determination of whether periodontal disease is related to high levels of this peptide.

Key words

Periodontitis, diabetes, sclerostin, vitamin D.

1. INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease defined by hyperglycemia^{1,2} that affects more than 382 million individuals throughout the world, 90% of whom are diagnosed with type 2 (DM2)³⁻⁵. DM affects bone metabolism and alters the quality of bone⁶⁻⁸. It is therefore important to establish a better definition of the cell mechanisms responsible for bone quality that are compromised in diabetes^{9,10}. There are multiple paths by which DM2 affects bone quality, such as

ANEXO T – ARTIGO A SER SUBMETIDO 1.

IMPACTO DA PERIODONTITE CRÔNICA NA QUALIDADE DE VIDA EM INDIVÍDUOS DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS. ESTUDO CASO- CONTROLE.

Roberto Carlos Mourão Pinho^{1*}, Rayanne Soraia Aguiar de Melo Dias¹, Francisco Bandeira²³, Ronaldo Celerino da Silva⁴, Sérgio Crovela^{4,5}, Renata Cimões¹

¹Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, Brasil.

²Divisão de Diabetes e Endocrinologia, Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife-PE, Brasil

³Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade de Pernambuco (UPE), Recife - PE, Brasil.

⁴Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), , Recife - PE, Brasil.

⁵Departamento de Genética, Centro de Biociências (CB), Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.

*Autor correspondente.

RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória infecciosa que afeta o periodonto. Evidências epidemiológicas apontam haver uma relação bidirecional entre o diabetes mellitus e a Periodontite crônica, e o controle da periodontite também poder contribuir para a melhoria do controle glicêmico, pois os tecidos orais mais comumente afetados na diabetes são os tecidos periodontais. Uma série de estudos observaram que periodontal as doenças têm efeitos negativos sobre a Qualidade de vida dos indivíduos afetados. Estes efeitos negativos foram relatados por serem maiores entre os pacientes com periodontite grave. Alguns estudos mostraram que a periodontite pode afetar não só a capacidade de comer, falar e socializar, mas também as relações interpessoais e atividades diárias. Curiosamente, ele pode até afetar o padrão sorridente dos pacientes e a qualidade de vida relacionadas ao sorriso. Os objetivos deste trabalho foram de avaliar a ocorrência de periodontite crônica entre indivíduos diabéticos e não diabéticos e o impacto da qualidade de vida desta população. Foi realizado um estudo do tipo caso-controle, realizado no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM) e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A população de estudo foi constituída por 116 indivíduos diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 e periodontite crônica (DM2+PC), 95 indivíduos diagnosticados com apenas periodontite crônica (PC) (grupos de casos), e 69 indivíduos saudáveis para essas duas condições (grupo controle). Foram registrados dados sobre a idade, sexo, renda e escolaridade, conforme ficha clínica, e aplicação da entrevista do impacto da qualidade de vida-OHIP -14. Para cada indivíduo foi realizado o exame clínico, e preenchido um periograma, no qual constaram dados sobre: presença de placa visível (PPV), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), perda de inserção clínica (ou nível de inserção clínica – NIC). A média do índice de placa do grupo de diabéticos apresentou diferenças estatisticamente significantes ($p=0,023$). No presente trabalho, o gênero feminino foi o que apresentou maior impacto na qualidade de vida, bem como nos indivíduos com um índice de placa visível maior e com um menor número de dentes

Palavras Chave: periodontite crônica, OHIP, qualidade de vida, diabetes mellitus tipo 2

INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória infecciosa que afeta o periodonto(1), causada por uma resposta imune prejudicada contra bactérias orais(2)(3), ela é considerada como uma das mais comuns doenças inflamatórias, com distribuição mundial na população (4), que causa danos tanto no tecido conectivo, quanto no tecido ósseo(5). As duas principais formas de periodontite são a periodontite agressiva e a periodontite crônica (PC)(6), esta última ocorre quando há uma exposição longa aos patógenos periodontais(7) (8) (9), e resultante do acúmulo de biofilme dental, com consequente dano lento e progressivo às estruturas de suporte dos dentes(10). Entretanto, outros fatores de risco como o tabagismo, diabetes, estresse, medicamentos e nutrição estão envolvidos no início da inflamação gengival (11).

O diabetes também é uma doença crônica, considerada mundialmente importante pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (12), ela é um distúrbio metabólico de múltiplas etiologias caracterizada por hiperglicemia crônica (13). Evidências epidemiológicas apontam haver uma relação bidirecional entre as duas doenças(14), e o controle da periodontite também poder contribuir para a melhoria do controle glicêmico, pois os tecidos orais mais comumente afetados na diabetes são os tecidos periodontais (15).

No passado, a qualidade de vida referia-se a "ter uma boa Vida "e derivando ainda como " satisfação da vida ". Hoje, ao contrário, a qualidade de vida é definida como um índice estatístico com base em múltiplos parâmetros, sejam eles econômicos, relacionados à saúde, ao ambiente e relacionado ao indivíduo ou condições de vida de um grupo (16).

Os relatos iniciais nesta área chamavam os resultados de auto-avaliação como "estado de saúde". A avaliação poderia ser realizada tanto em pacientes como na população em geral. Quando dirigido principalmente para a avaliação do paciente passou a ser conhecido como "Qualidade de vida relacionada à saúde" (QVRS), e distingue-a da qualidade de vida da População geral, uma vez que o último depende, em parte, em fatores que não estão relacionados à saúde e a QVRS refere-se a avaliações multidimensionais que incluem pelo menos o físico, emocional (Ou psicológico) e domínios sociais, e pode também incluir outros domínios, como funcionamento cognitivo, sexualidade e espiritualidade(17), e que pode apresentar diferenças quanto a grupos étnicos.(18).

Uma série de estudos observaram que periodontal as doenças têm efeitos negativos sobre a Qualidade de vida dos indivíduos afetados. Estes efeitos negativos foram relatados por serem maiores entre os pacientes com periodontite grave. Alguns estudos mostraram que a periodontite pode afetar não só a capacidade de comer, falar e socializar, mas também as relações interpessoais e atividades diárias. Curiosamente, ele pode até afetar o padrão sorridente dos pacientes e Qualidade de vida relacionadas ao sorriso(19).

As consequências psicossociais das condições bucais receberam pouca atenção, pois raramente são ameaçadoras. Além disso, a cavidade oral tem sido historicamente dissociada do resto do corpo. No entanto, pesquisas recentes destacou que os transtornos bucais trazem consequências emocionais e psicossociais tão graves quanto outros distúrbios(20), e o perfil de impacto em saúde bucal (OHIP) está entre as ferramentas comumente usadas como medida de qualidade vida.(21).

O OHIP-14 é derivado do questionário original do OHIP de 49 itens. Avalia sete dimensões do impacto, incluindo limitações funcionais, dor, desconforto psicológico, deficiência física, deficiência psicológica, deficiência social e desvantagem (22), e alterada para odontologia por Locker (1988) (23), este instrumento foca quase que exclusivamente os impactos negativos da doença oral (24).

O OHIP é uma medida de 49 itens, com declarações divididas em sete domínios teóricos, ou sete dimensões, nomeadas de: limitação funcional, dor física, desconforto psicológico, incapacidade física, incapacidade psicológica, incapacidade social e deficiência. O exemplo de uma declaração do OHIP é "Você teve que interromper Refeições devido a problemas com os dentes, a boca ou Dentaduras ". Um formato de resposta (0 = nunca, 1 = dificilmente Sempre, 2 = ocasionalmente, 3 = bastante frequentemente, 4 = muito frequentemente) é usada. A frequência dos impactos é calculada pela soma dos impactos negativos relatados (ou seja, bastante frequentemente ou muito frequentemente) através das 49 declarações. Isso aumenta a possibilidade de medir e "explorar" as consequências sociais de distúrbios bucais considerados importantes pelos pacientes, e é considerado para ser a medida mais sofisticada de saúde bucal (25).

Os escores do OHIP-14 em indivíduos com gengivite e periodontite podem ser maiores do que em indivíduos periodontalmente saudáveis. Embora as pontuações totais de OHIP-14 em indivíduos com periodontite tenham sido superiores às dos pacientes com gengivite (26).

O diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) é considerado uma doença pandêmica. A origem causal desse desenvolvimento acelerado está relacionado a vários fatores interagindo, tais como o estilo de vida sedentário, peso corporal excessivo, estresse e maus hábitos de alimentação (27), a prevalência de periodontite dentro da população diabética é de 60%, enquanto varia de 20% a 50% na população em geral (28). Estudos epidemiológicos e meta-análises de estudos em várias populações diabéticas demonstraram que o diabetes aumenta o risco de desenvolver periodontite aproximadamente 3 vezes quando comparado com indivíduos não-diabéticos (29) (30).

A avaliação do impacto das doenças na vida diária e a qualidade de vida é um componente importante da modernidade. A saúde e resultados centrados no paciente provavelmente serão mais relevantes para os pacientes do que as medidas clínicas tradicionais da doença (30). Portanto, os objetivos deste trabalho foram de avaliar a ocorrência de periodontite crônica entre indivíduos diabéticos e não diabéticos e o impacto da qualidade de vida na população estudada.

MÉTODOS

Entrevista

Após explicação dos objetivos da pesquisa e aceite do indivíduo em participar, foi solicitado que o mesmo assinasse o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Antes de iniciar o exame clínico, foram registrados dados sobre a idade, sexo, renda e escolaridade, conforme ficha clínica, e aplicação da entrevista do impacto da qualidade de vida- OHIP -14.

Tipo de estudo, população alvo e desenho do estudo

Foi realizado um estudo do tipo caso-controle, realizado no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital Agamenon Magalhães (HAM) e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

A população de estudo foi constituída por 116 indivíduos diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 e periodontite crônica (DM2+PC), 95 indivíduos diagnosticados com apenas periodontite crônica (PC) (grupos de casos), e 69 indivíduos saudáveis para essas duas condições (grupo controle), recrutados no Ambulatório de Endocrinologia do HAM e na Clínica da Pós-Graduação em Odontologia da UFPE, no período de novembro de 2015 a novembro de 2016.

Todos os indivíduos envolvidos foram provenientes do Estado de Pernambuco e recrutados baseados em critérios de inclusão/exclusão previamente estabelecidos:

- ✓ **Critérios de inclusão:** Foram incluídos no estudo, de forma geral, indivíduos com idade mínima de 35 anos e com no mínimo 8 dentes naturais (excluindo os com indicação de exodontia). Os indivíduos incluídos no grupo de indivíduos DM2+PC, deveriam ser portadores de DM2 e ter diagnóstico clínico de PC. Já o grupo de indivíduos com apenas PC, deveriam ter diagnóstico clínico de PC. Os indivíduos não portadores de DM2 e não diagnosticado para PC, foram incluídos no grupo de controles saudáveis.
- ✓ **Critérios de exclusão:** Foram excluídos no estudo, indivíduos que tenham usado antibióticos nos últimos 6 meses; que fazem uso de anti-inflamatórios de forma crônica; que apresentam condições que comprometam a imunidade sistêmica; estar grávida ou lactante; ter se submetido a tratamento periodontal nos últimos 6 meses; ser fumante e usar aparelho ortodôntico.

Aspectos Clínicos

A PC foi caracterizada pela presença de inflamação (sangramento à sondagem), aumento da profundidade de sondagem e perda de inserção clínica, segundo a Associação Americana de Periodontia. O diagnóstico, baseia-se em vários parâmetros clínicos e radiográficos, onde nem sempre todos estarão presentes; e com base nestes parâmetros, a PC pode ser classificada em leve, moderada ou severa (quanto à severidade) e em localizada ou generalizada (quanto à extensão).

Para cada indivíduo foi preenchido um periograma, no qual constaram dados sobre: presença de placa visível (PPV), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS), perda de inserção clínica (ou nível de inserção clínica – NIC), mobilidade e presença de envolvimento de furca. Para cada dente foram sondados seis sítios: mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, médio-lingual e disto-lingual. O exame foi realizado com luz artificial e usando odontoscópio e sonda periodontal milimetrada tipo Carolina do Norte (Trinity®), além dos equipamentos de proteção individual. Durante todo o processo, três examinadores e anotador calibrados fizeram os exames clínicos e o registro nas fichas dos indivíduos (valores de concordância Kappa >0,40).

Considerações éticas

Todos os procedimentos e condutas utilizadas no presente estudo foram referenciadas e aprovadas pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE) (nº 1310208) e do Hospital Agamenon Magalhães (HAM) (nº1368830).

Análises Estatísticas

Os dados foram expressos em média ($\pm$ Desvio-padrão) e distribuições de frequência. Os dados de Profundidade de sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), sangramento à sondagem e índice de placa foram categorizados e aplicados ao teste de independência da Razão de Verossimilhança para verificar associações com o genótipo, pois não foi possível aplicar o teste Qui-quadrado de Pearson. As associações entre severidade/extensão da periodontite nos diabéticos e genótipos com variáveis contínuas: tempo de diabetes, renda e idade através do teste não paramétricos Mann-Whitney, pois os dados contínuos não seguiam uma distribuição normal; já para as variáveis discretas: sexo, hábito de fumar, escolaridade, SNPs (alelos e genótipos) usou-se o teste da razão de verossimilhança.

A análise multivariada foi composta pela regressão logística binária. Pelo teste de Omnibus, os modelos foram testados para se encontrar um bom ajustamento, e, com base no R² de Nagelkerke calculou-se o coeficiente de determinação do modelo. O teste de Hosmer-Lemeshow comparou os valores observados com os valores esperados. Também foi calculado o Odd Ratio (OR). O nível de significância adotado para cada variável independente entrar no modelo foi de 0,20

O nível de significância adotado foi de 5%, ou seja, p-valor<0,05. O software utilizado foi o SPSS 20.0 e os dados foram digitados no Microsoft Excel.

RESULTADOS

Duzentos e oitenta (280) pacientes participaram do estudo, dos quais 116 (41,5%) foram diabéticos tipo 2 com periodontite crônica, com média de idade de $58,2 \pm 9,7$ anos (variando de 20 a 80 anos), 95(33,9%) apenas com periodontite, com média de idade de $51,1 \pm 9,6$ anos (variando de 35 a 76 anos) e 69 (24,6%) pacientes saudáveis com idade média de $49,6 \pm 10,7$ (variando de 35 a 77) e essa diferença foi estatisticamente significante $p=0,000$ (Teste de não paramétrico de Kruskal Wallis).

O sexo feminino foi maioria nos dois grupos com 74,1% no grupo dos diabéticos, 80,0% no grupo de periodontite e 91,3% no grupo controle, com diferença estatisticamente significativa ($p=0,018$) essa diferença é apenas no grupo controle saudáveis (Tabela 01).

O estado civil, a renda, a escolaridade e hábito de fumar apresentaram proporções estatisticamente diferentes em relação aos três grupos. No grupo de diabéticos a maioria eram casados (64,7%), com renda até 2 salários mínimos (89,6%) e com escolaridade mais baixa (50,9%) com escolaridade até 1º grau incompleto) quando comparados aos pacientes do grupo saudável. Além disso, 61,2% dos diabéticos nunca fumaram contra 85,5% do grupo saudável (Tabela 01).

A duração média do tempo da diabetes foi de $16,6 \pm 24,1$ anos e o valor médio da renda nos diabéticos foi de $1,6 \pm 1,2$ salários mínimos (variando de 0 a 10 salários). Quanto ao estado de saúde periodontal desse mesmo grupo; a Profundidade de Sondagem (PC) apresentou média $2,4 \pm 0,7$ mm com 82,8% das medidas menores que 3mm; Nível de Inserção Clínica (NIC) com média $3,9 \pm 1,7$ mm, onde em 42,6% dos pacientes o NIC estava entre 3,0 a 4,9mm e 22,6% com NIC acima de 5,0 mm. O Sangramento à sondagem apresentou média de $11,6 \pm 14,3$ % e 78,4% dos pacientes com presença de sangramento. O índice de placa com média de $26,0 \pm 25,4$ % e 84,5% com presença de placa. Todas essas variáveis apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo controle saudáveis (Tabela 02).

Analizando a Tabela 03, em relação aos pacientes diabéticos com periodontite crônica, as severidades moderada e severa apresentaram o mesmo percentual de pacientes (40,5%). Quanto a extensão da periodontite foi generalizada em 80,2% deles. Ao associar-se a severidade e extensão da periodontite crônica; 34,5% enquadraram-se como periodontite moderada generalizada e 39,7% como severa generalizada, sendo esses os maiores percentuais e esses resultados não difere estatisticamente entre os grupos de diabéticos e periodontite. (Tabela 03).

Na tabela 04 observa-se associação significativa ($p=0,037$) entre a Classificação da Periodontite e o sexo, onde a maior proporção de Periodontite Severa Generalizada foi diagnosticada nos pacientes diabéticos masculinos (56,7%). As variáveis renda, hábito de fumar e tempo de diabetes não apresentaram associações significativas com a Classificação da Periodontite Crônica ($p>0,05$) (Tabela 04).

Houve associação significativa ($p=0,007$) entre a Classificação da Periodontite e o sexo dos pacientes com periodontite, onde a maior proporção de Periodontite Severa

Generalizada foi diagnosticada nos pacientes diabéticos masculinos (78,9%). As variáveis renda, hábito de fumar do grupo de periodontite não apresentaram associações significativas com a Classificação da Periodontite Crônica ($p>0,05$) (Tabela 05).

A tabela 06 apresenta sobre o impacto na qualidade de vida no grupo de diabéticos e apenas o gênero apresentou diferenças significativas ($p=0,033$) o sexo feminino teve 52,3% de impacto contra 30,0 dos homens e nas demais variáveis não apresentou nenhuma significância estatística.

A tabela 07 mostra que as variáveis não apresentam nenhuma significância estatística no grupo de periodontite em relação ao impacto na qualidade de vida.

A tabela 08 mostra que nenhuma das variáveis apresentou significância estatística no grupo de controle saudáveis em relação ao impacto na qualidade de vida.

De acordo com a tabela 09, A média do índice de placa do grupo de diabéticos apresentou diferenças estatisticamente significantes ($p=0,023$) entre os pacientes sem impacto na qualidade de vida ($32,00 \pm 29,60$) com os pacientes com impacto na qualidade de vida ($19,21 \pm 17,40$), já nos grupos periodontite e saudáveis não apresentaram significância estatística. Em relação ao número de dentes os grupos diabéticos ($p=0,005$) e periodontite ($p=0,010$) apresentaram diferenças significantes e a média de dentes foi maior nos pacientes sem impacto na qualidade de vida.

DISCUSSÃO

O diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) é considerado uma doença pandêmica. A origem causal desse desenvolvimento acelerado está relacionado a vários fatores interagindo, tais como o estilo de vida sedentário, peso corporal excessivo, estresse e maus hábitos de alimentação.(27), a prevalência de periodontite dentro da população diabética é de 60%, enquanto varia de 20% a 50% na população em geral(28). Estudos epidemiológicos e meta-análises de estudos em várias populações diabéticas demonstraram que a diabetes aumenta o risco de desenvolver periodontite aproximadamente 3 vezes quando comparado com indivíduos não-diabéticos (29) (30).

A periodontite crônica causa perda dentária no estágio final da doença, e é considerada como uma doença silenciosa, de evolução lenta (31), no entanto, recentemente, sua ocorrência

foi demonstrada por ter um componente sócio comportamental substancial e, portanto, considerada não apenas como uma ameaça à dentição, mas também para afetar a qualidade de vida relacionada à saúde bucal (32), (32), que pode ser definida como uma compilação multidimensional que reflete o conforto das pessoas ao comer, dormir e se envolver em relações sociais; sua auto-estima; e contentamento com respeito à saúde bucal (33).

Embora não haja um consenso a respeito do conceito de qualidade de vida, três aspectos fundamentais referentes ao construto qualidade de vida foram obtidos através de um grupo de experts de diferentes culturas: (1) subjetividade; (2) multidimensionalidade (3) presença de dimensões positivas (p.ex. mobilidade) e negativas (p.ex. dor). O desenvolvimento destes elementos conduziu a definição de qualidade de vida como "a percepção do indivíduo de sua posição na vida no contexto da cultura e sistema de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações" (34).

Numa tentativa de avaliar como as desordens orais afetam a qualidade de vida, um grande número de índices tem sido desenvolvido. Um dos índices mais descritos e utilizados para avaliar o impacto da saúde bucal na qualidade de vida é o Oral Health Impact Profile (OHIP), que foi desenvolvido para obter informações sobre a natureza e extensão do impacto funcional, social e psicológico em pesquisas odontológicas, procedimentos e avaliações clínicas do paciente. Os sub-índices do OHIP são: limitação funcional, dor física, desconforto psicológico, limitação física, limitação psicológica, limitação social e incapacidade (23) (35) (36) (37) (38) (39).

O OHIP é um dos questionários mais utilizados e com confiabilidade confirmada. Foi criado e desenvolvido na Austrália (40), traduzido e adaptado para várias línguas e culturas (41). Posteriormente o questionário foi reduzido de 49 para 14 questões que se mostraram efetivas e úteis para avaliar o impacto das doenças bucais na qualidade de vida (36).

A literatura relata que pessoas com problemas periodontais sofrem impactos negativos na qualidade de vida (42) (43) (44), porém não há documentação a respeito dessa percepção em pacientes diabéticos.

Cada indivíduo traz consigo a capacidade de percepção quanto a sua saúde, e que poderá causar alterações no seu cotidiano (35). A percepção sobre a saúde oral, particularmente na periodontite crônica em indivíduos diabéticos, que por se tratar de uma enfermidade crônica com complicações diversas, inclusive por modificações emocionais dos indivíduos. Neste

trabalho, o gênero feminino foi maioria, presumivelmente pelo fato de uma quantidade maior de mulheres procurarem os serviços de saúde e o impacto na qualidade de vida em indivíduos deste gênero foi relevante.

É necessário desenvolver programas específicos com estratégias que minimizem os efeitos negativos da Periodontite Crônica. Uma abordagem filosófica diferente, com a co-participação do paciente no processo terapêutico, pode ser a melhor maneira de aumentar a consciência de responsabilidade para obter cura, bem como desenvolver a necessidade percebida de mudar a perspectiva do paciente sobre a saúde em todos os domínios (física, social / familiar, emocional e funcional) (44), em nosso trabalho verificou-se que o índice de placa visível foi relevante nos indivíduos com impacto na qualidade de vida, e que a quantidade de dentes em indivíduos com impacto na qualidade de vida foi menor, em indivíduos diabéticos.

CONCLUSÃO

Indivíduos com periodontite crônica sofrem impacto negativo na qualidade de vida, e no presente trabalho, o gênero feminino foi o que apresentou maior impacto na qualidade de vida, bem como nos indivíduos com um índice de placa visível maior e com um menor número de dentes.

REFERÊNCIAS

1. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal Disease: Linking the Primary Inflammation to Bone Loss. Clin Dev Immunol [Internet]. Hindawi Publishing Corporation; 2013 [cited 2017 May 14];503754(7). Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/503754>
2. Agrali OB, Kuru BE. Periodontal treatment in a generalized severe chronic periodontitis patient: A case report with 7-year follow-up. Eur J Dent [Internet]. Dental Investigations Society; 2015 [cited 2017 May 18];9(2):288–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26038666>
3. Zupin L, Navarra CO, Robino A, Bevilacqua L, Di Lenarda R, Gasparini P, et al. NLRC5 polymorphism is associated with susceptibility to chronic periodontitis. Immunobiology [Internet]. 2017 May [cited 2017 May 15];222(5):704–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28122660>
4. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. Periodontol 2000 [Internet]. Munksgaard International Publishers; 2002 Jun [cited 2017 May 5];29(1):7–10. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-0757.2002.290101.x>
5. Chen D, Zhang T-L, Wang X. Association between Polymorphisms in Interleukins 4 and 13 Genes and Chronic Periodontitis in a Han Chinese Population. Biomed Res Int [Internet]. Hindawi Publishing Corporation; 2016 [cited 2017 May 5];2016:8389020. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27195298>
6. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and

- Conditions. *Ann Periodontol* [Internet]. American Academy of Periodontology 737 N. Michigan Avenue, Suite 800 Chicago, IL 60611-2690 USA ; 1999 Dec [cited 2017 May 3];4(1):1–6. Available from: <http://www.joponline.org/doi/10.1902/annals.1999.4.1.1>
7. Alnaeeli M, Penninger JM, Teng Y-TA. Immune interactions with CD4+ T cells promote the development of functional osteoclasts from murine CD11c+ dendritic cells. *J Immunol* [Internet]. 2006 Sep 1 [cited 2017 May 25];177(5):3314–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16920972>
 8. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol 2000* [Internet]. 2012 Feb [cited 2017 May 3];58(1):37–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22133366>
 9. Laine ML, Loos BG, Crielaard W. Gene polymorphisms in chronic periodontitis. *Int J Dent* [Internet]. 2010;2010:324719. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2844543&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 10. Elangovan S, Hertzman-Miller R, Karimbux N, Giddon D. A framework for physician-dentist collaboration in diabetes and periodontitis. *Clin Diabetes* [Internet]. American Diabetes Association; 2014 Oct [cited 2017 May 6];32(4):188–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25646947>
 11. Van Dyke TE, Sheilesh D. Risk factors for periodontitis. *J Int Acad Periodontol* [Internet]. 2005 Jan [cited 2017 May 13];7(1):3–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15736889>
 12. Smyth S, Heron A. Diabetes and obesity: the twin epidemics. *Nat Med* [Internet]. Nature Publishing Group; 2006 Jan [cited 2017 May 5];12(1):75–80. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nm0106-75>
 13. Negrato C, Tarzia O. Buccal alterations in diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr* [Internet]. 2010 Jan 15 [cited 2017 May 18];2(1):3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180965>
 14. Paraschiv C, Covalea C, Miron E, Ghiuru R, Esanu I, Manea P, et al. CLINICAL FORMS OF PERIODONTAL DISEASE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS. *Rom J Oral Rehabil* [Internet]. [cited 2017 May 18];6(1). Available from: <http://rjor.ro/uploads/revista/2014/no1/CLINICAL-FORMS-OF-PERIODONTAL-DISEASE-IN-PATIENTS.pdf>
 15. Gandara BK, Morton TH. Non-Periodontal Oral Manifestations of Diabetes: A Framework for Medical Care Providers. *Diabetes Spectr* [Internet]. 2011 [cited 2017 May 6];24(4). Available from: <http://spectrum.diabetesjournals.org/content/diaspect/24/4/199.full.pdf>
 16. Sosnowski R, Kulpa M, Ziętałewicz U, Wolski JK, Nowakowski R, Bakula R, et al. Basic issues concerning health-related quality of life. *Cent Eur J Urol* 206 *Cent Eur J Urol* [Internet]. 2017 [cited 2017 Jul 25];70:206–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5510334/pdf/CEJU-70-00923.pdf>
 17. Osoba D. Health-related quality of life and cancer clinical trials. [cited 2017 Jul 25]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3126042/pdf/10.1177_1758834010395342.pdf
 18. Abdelrahim R, Delgado-Angulo EK, Gallagher JE, Bernabé E. Ethnic Disparities in Oral Health Related Quality of Life among Adults in London, England. *Community Dent Health* [Internet]. 2017 Jun [cited 2017 Jul 24];34(2):122–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28573845>
 19. Al Habashneh R, Khader YS, Salameh S. Use of the Arabic version of Oral Health Impact

- Profile-14 to evaluate the impact of periodontal disease on oral health-related quality of life among Jordanian adults. *J Oral Sci* [Internet]. 2012 Mar [cited 2017 Jul 25];54(1):113–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22466895>
20. Finbarr Allen P. Assessment of oral health related quality of life. [cited 2017 Jul 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201012/pdf/1477-7525-1-40.pdf>
 21. Lu H-X, Xu W, Wong MCM, Wei T-Y, Feng X-P. Impact of periodontal conditions on the quality of life of pregnant women: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes* [Internet]. BioMed Central; 2015 May 28 [cited 2017 Jul 25];13:67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26018650>
 22. Hongxing L, List T, Nilsson I-M, Johansson A, Astrøm AN. Validity and reliability of OIDP and OHIP-14: a survey of Chinese high school students. [cited 2017 Jul 25]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4289589/pdf/12903_2014_Article_484.pdf
 23. Locker D. Measuring oral health: a conceptual framework. *Community Dent Health* [Internet]. 1988 Mar [cited 2017 Jul 25];5(1):3–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3285972>
 24. Niesten D, Van Mourik K, Van Der Sanden W. The impact of having natural teeth on the QoL of frail dentulous older people. A qualitative study. 2012 [cited 2017 Jul 25]; Available from: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.810.909&rep=rep1&type=pdf>
 25. Locker D. Issues in measuring change in self-perceived oral health status. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 1998 Feb [cited 2017 Jul 25];26(1):41–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9511841>
 26. Eltas A, Uslu MO, Eltas SD. Association of Oral Health-related Quality of Life with Periodontal Status and Treatment Needs. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2016 [cited 2017 Jul 25];14(4):339–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26870844>
 27. Kolb H, Eizirik DL. Resistance to type 2 diabetes mellitus: a matter of hormesis? *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2011 Oct 25 [cited 2017 Jul 25];8(3):183–92. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrendo.2011.158>
 28. D'Aiuto F, Sabbah W, Netuveli G, Donos N, Hingorani AD, Deanfield J, et al. Association of the Metabolic Syndrome with Severe Periodontitis in a Large U.S. Population-Based Survey. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. Data File, 1988–1994. [1.22a]. NCHS CD-ROM Series 11, No 1. Ref Type; 2008 Oct 1 [cited 2017 Jul 25];93(10):3989–94. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-2522>
 29. Mealey BL, Ocampo GL. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 2007 Jun [cited 2017 May 6];44(1):127–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0757.2006.00193.x>
 30. Irani FC, Wassall RR, Preshaw PM. Impact of periodontal status on oral health-related quality of life in patients with and without type 2 diabetes. *J Dent* [Internet]. 2015 May [cited 2017 Jul 25];43(5):506–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25769264>
 31. Buset SL, Walter C, Friedmann A, Weiger R, Borgnakke WS, Zitzmann NU. Are periodontal diseases really silent? A systematic review of their effect on quality of life. *J Clin Periodontol* [Internet]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2016 Apr 1 [cited 2017 Sep 10];43(4):333–44. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/jcpe.12517>
 32. Thomson WM, Sheiham A, Spencer AJ. Sociobehavioral aspects of periodontal disease. *Periodontol 2000* [Internet]. 2012 Oct [cited 2017 Sep 10];60(1):54–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22909106>
 33. National Institute, of Dental and Craniofacial Research NI of, Health. US Department of

- Health and Human Services, Oral Health in America: A Report of the Surgeon General—Executive Summary, US Department of Health and Human Services [Internet]. Rockville, Md, USA.; 2000 [cited 2017 Sep 10]. Available from: <https://www.nidcr.nih.gov/DataStatistics/SurgeonGeneral/Documents/hck1ocv.@www.surgeon.n.fullrpt.pdf>
34. Bellini M, Maltoni O, Gatto MR, Pelliccioni G, Checchi V, Checchi L. Dental phobia in dentistry patients. *Minerva Stomatol* [Internet]. 2008 Oct [cited 2017 Sep 11];57(10):485–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19078890>
 35. Locker D, Slade G. Oral health and the quality of life among older adults: the oral health impact profile. *J Can Dent Assoc* [Internet]. 1993 Oct [cited 2017 Sep 11];59(10):830–3, 837–8, 844. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8221283>
 36. Slade GD. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 1997 Aug [cited 2017 Jul 26];25(4):284–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9332805>
 37. Locker D, Jokovic A. Using subjective oral health status indicators to screen for dental care needs in older adults. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 1996 Dec [cited 2017 Sep 11];24(6):398–402. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9007357>
 38. Allen PF, McMillan AS, Walshaw D, Locker D. A comparison of the validity of generic- and disease-specific measures in the assessment of oral health-related quality of life. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 1999 Oct [cited 2017 Sep 11];27(5):344–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10503795>
 39. Allen PF, McMillan AS, Locker D. An assessment of sensitivity to change of the Oral Health Impact Profile in a clinical trial. *Community Dent Oral Epidemiol* [Internet]. 2001 Jun [cited 2017 Sep 11];29(3):175–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11409676>
 40. Slade GD, Spencer AJ. Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Health* [Internet]. 1994 Mar [cited 2017 Sep 11];11(1):3–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8193981>
 41. Locker D. Oral health and quality of life. *Oral Health Prev Dent* [Internet]. 2004 [cited 2017 Sep 11];2 Suppl 1:247–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15646581>
 42. Araújo AC da S, Gusmão ES, Batista JEM, Cimdões R. Impact of periodontal disease on quality of life. *Quintessence Int* [Internet]. 2010 Jun [cited 2017 Sep 11];41(6):e111-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20490384>
 43. Manuela Wanderley Ferreira Lopes (1) ESG (2), R de VA (2), RC. The Impact of Chronic Periodontitis on Quality of Life in Brazilian Subjects. *Acta stomatologica Croatica*; 2009 [cited 2017 Sep 11]; Available from: <http://www.ascro.hr/index.php?id=482>
 44. Mourão LC, Cataldo D de M, Moutinho H, Canabarro A. Impact of chronic periodontitis on quality-of-life and on the level of blood metabolic markers. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 11];19(2):155–8. Available from: <http://www.jisponline.com/text.asp?2015/19/2/155/149935>

Tabela 01 – Descrição dos dados da amostra das variáveis categóricas

Variáveis	Grupo						Total		p-valor
	Diabéticos		Periodontite		Controles saudáveis				
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Sexo									
Masculino	30	25,9	19	20,0	6	8,7	55	19,6	0,018 ¹
Feminino	86	74,1	76	80,0	63	91,3	225	80,4	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Estado civil									
Casado	75	64,7	46	48,4	31	44,9	152	54,3	0,017 ¹
Solteiro	23	19,8	31	32,6	19	27,5	73	26,1	
Divorciado	7	6,0	8	8,4	14	20,3	29	10,4	
Viúvo	10	8,6	10	10,5	4	5,8	24	8,6	
Sem resposta	1	0,9	0	0,0	1	1,4	2	0,7	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Renda									
Até 2 SM	95	89,6	67	75,3	38	66,7	200	79,4	0,003 ²
De 2 a 4 SM	7	6,6	19	21,3	15	26,3	41	16,3	
De 4 a 10 SM	4	3,8	3	3,4	4	7,0	11	4,4	
Total	106	100,0	89	100,0	57	100,0	252	100,0	
Hábito de fumar									
Nunca Fumou	71	61,2	63	66,3	59	85,5	193	68,9	0,002 ¹
Ex-fumante	45	38,8	32	33,7	10	14,5	87	31,1	
Total	116	100,0	95	100,0	69	100,0	280	100,0	
Escolaridade									
Não sabe ler ou escrever	10	8,8	1	1,1	1	1,4	12	4,3	0,000 ²
1º grau incompleto	29	25,4	16	16,8	5	7,2	50	18,0	
1º grau completo	18	15,8	12	12,6	5	7,2	35	12,6	
2º grau incompleto	9	7,9	6	6,3	8	11,6	23	8,3	
2º grau completo	37	32,5	40	42,1	26	37,7	103	37,1	
Superior incompleto	2	1,8	5	5,3	3	4,3	10	3,6	
Universidade completa	6	5,3	7	7,4	11	15,9	24	8,6	
Não sei	2	1,8	7	7,4	10	14,5	19	6,8	
Não respondeu	1	0,9	1	1,1	0	0,0	2	0,7	
Total	114	100,0	95	100,0	69	100,0	278	100,0	

1- Teste qui-quadrado de Pearson; 2- Teste da Razão de Verossimilhança, *Estatisticamente significativa (p<0,05)

Tabela 02 – Medidas descritivas de algumas variáveis quantitativas

Variável	N		Média ± DP	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade						
Diabéticos	116	A	58,2 ± 9,7	20,0	80,0	0,000
Periodontite	95	A	53,0 ± 9,6	35,0	76,0	
Controles saudáveis	69	B	49,6 ± 10,7	35,0	77,0	
Total	280		54,3 ± 10,5	20,0	80,0	
Renda (salários)						
Diabéticos	106	A	1,6 ± 1,2	0,0	10,0	0,004
Periodontite	89	A	1,6 ± 1,3	0,0	7,0	
Controles saudáveis	57	B	2,2 ± 1,5	1,0	7,0	
Total	252		1,7 ± 1,3	0,0	10,0	
Número de dentes						
Diabéticos	116	A	15,8 ± 5,6	8,0	28,0	0,000
Periodontite	95	A	17,7 ± 5,6	8,0	29,0	
Controles saudáveis	69	B	20,2 ± 5,8	8,0	28,0	
Total	280		17,5 ± 5,9	8,0	29,0	
Média de Profundidade de Sondagem						
Diabéticos	116	A	2,4 ± 0,7	1,3	5,2	0,000
Periodontite	95	A	2,3 ± 0,6	1,3	4,4	
Controles saudáveis	69	B	1,9 ± 0,3	1,2	2,8	
Total	280		2,3 ± 0,6	1,2	5,2	
Média Nível de Inserção Clínica						
Diabéticos	116	A	3,9 ± 1,7	1,6	10,2	0,000
Periodontite	95	A	3,5 ± 1,7	1,6	11,9	
Controles saudáveis	69	B	2,1 ± 0,4	1,3	3,8	
Total	280		3,3 ± 1,6	1,3	11,9	
Índice de sangramento (%)						
Diabéticos	116	A	11,6 ± 14,3	0,0	100,0	0,000
Periodontite	95	A	15,4 ± 14,0	0,0	50,0	
Controles saudáveis	69	B	5,1 ± 6,7	0,0	36,4	
Total	280		11,3 ± 13,3	0,0	100,0	
Índice de placa (%)						
Diabéticos	116	A	26,0 ± 25,4	0,0	100,0	0,003
Periodontite	95	A	25,0 ± 22,9	0,0	100,0	
Controles saudáveis	69	B	16,4 ± 19,8	0,0	100,0	

Total **280** **23,3 ± 23,5** **0,0** **100,0**

1-Teste não paramétrico de Kruskal Wallis, * Estatisticamente significante (p<0,05)

Tabela 03 – Distribuição de periodontite segundo os grupos de diabéticos e de periodontite

Periodontite Crônica	Grupo				Total		p-valor
	Diabéticos		Periodontite				
	n	%	N	%	N	%	
Severidade							
Leve	22	19,0	16	16,8	38	18,0	0,197
Moderada	47	40,5	29	30,5	76	36,0	
Severa	47	40,5	50	52,6	97	46,0	
Total	116	100,0	95	100,0	211	100,0	
Extensão							
Localizada	23	19,8	24	25,3	47	22,3	0,345
Generalizada	93	80,2	71	74,7	164	77,7	
Total	116	100,0	95	100,0	211	100,0	
Classificação da PC							
Leve Localizada	15	12,9	12	12,6	27	12,8	0,153
Leve Generalizada	7	6,0	5	5,3	12	5,7	
Moderada Localizada	7	6,0	8	8,4	15	7,1	
Moderada Generalizada	40	34,5	20	21,1	60	28,4	
Severa Localizada	1	0,9	5	5,3	6	2,8	
Severa Generalizada	46	39,7	45	47,4	91	43,1	
Total	116	100,0	95	100,0	211	100,0	

1- Teste da razão de verossimilhança;, *Estatisticamente significante (p<0,05)

Tabela 04 – Distribuição da Classificação da Periodontite Crônica segundo as variáveis sexo, hábito de fumar, renda e tempo de diabetes no grupo de diabéticos

Variáveis	Classificação da Periodontite Crônica												Total		p-valor ¹
	Leve Localizada		Leve Generalizada		Moderada Localizada		Moderada Generalizada		Severa Localizada		Severa Generalizada				
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo															
Masculino	2	6,7	0	0,0	2	6,7	8	26,7	1	3,3	17	56,7	30	100	0,037
Feminino	13	15,1	7	8,1	5	5,8	32	37,2	0	0,0	29	33,7	86	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Renda															
Até 2 SM	14	14,7	7	7,4	7	7,4	36	37,9	0	0,0	31	32,6	95	100	0,201
De 2 a 4 SM	1	14,3	0	0,0	0	0,0	1	14,3	1	14,3	4	57,1	7	100	
De 4 a 10 SM	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	25,0	0	0,0	3	75,0	4	100	
Total	15	14,2	7	6,6	7	6,6	38	35,8	1	0,9	38	35,8	106	100	
Hábito de fumar															
Nunca Fumou	9	12,7	5	7,0	7	9,9	25	35,2	0	0,0	25	35,2	71	100	0,075
Ex-fumante	6	13,3	2	4,4	0	0,0	15	33,3	1	2,2	21	46,7	45	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Tempo de Diabetes															
≤ 5 anos	6	14,3	1	2,4	3	7,1	13	31,0	1	2,4	18	42,9	42	100	0,608
> 5 e ≤ 10 anos	2	7,4	3	11,1	1	3,7	13	48,1	0	0,0	8	29,6	27	100	
> 10 anos	7	14,9	3	6,4	3	6,4	14	29,8	0	0,0	20	42,6	47	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	
Uso de Insulina															
Sim	6	15,4	1	2,6	1	2,6	11	28,2	0	0,0	20	51,3	39	100	0,268
Não	9	11,7	6	7,8	6	7,8	29	37,7	1	1,3	26	33,8	77	100	
Total	15	12,9	7	6,0	7	6,0	40	34,5	1	0,9	46	39,7	116	100	

1- Teste da Razão de Verossimilhança, * Estatisticamente significante (p<0,05)

Tabela 05 – Distribuição da Classificação da Periodontite Crônica segundo as variáveis sexo, hábito de fumar, renda e tempo de diabetes no grupo de periodontite

Variáveis	Classificação da Periodontite Crônica												Total		p-valor ¹
	Leve Localizada		Leve Generalizada		Moderada Localizada		Moderada Generalizada		Severa Localizada		Severa Generalizada				
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Sexo															
Masculino	0	0,0	0	0,0	0	0,0	3	15,8	1	5,3	15	78,9	19	100	0,007
Feminino	12	15,8	5	6,6	8	10,5	17	22,4	4	5,3	30	39,5	76	100	
Total	12	12,6	5	5,3	8	8,4	20	21,1	5	5,3	45	47,4	95	100	
Renda															
Até 2 SM	10	14,9	5	7,5	6	9,0	14	20,9	3	4,5	29	43,3	67	100	0,335
De 2 a 4 SM	0	0,0	0	0,0	2	10,5	4	21,1	2	10,5	11	57,9	19	100	
De 4 a 10 SM	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	33,3	0	0,0	2	66,7	3	100	
Total	10	11,2	5	5,6	8	9,0	19	21,3	5	5,6	42	47,2	89	100	
Hábito de fumar															
Nunca Fumou	8	12,7	3	4,8	6	9,5	15	23,8	1	1,6	30	47,6	63	100	0,346
Ex-fumante	4	12,5	2	6,3	2	6,3	5	15,6	4	12,5	15	46,9	32	100	
Total	12	12,6	5	5,3	8	8,4	20	21,1	5	5,3	45	47,4	95	100	

1- Teste da Razão de Verossimilhança, * Estatisticamente significante (p<0,05)

Tabela 06 - Distribuição de algumas variáveis segundo o impacto OHIP no grupo de diabéticos.

Variáveis	OHIP				Total		p-valor ¹
	Sem Impacto		Com Impacto				
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							
Masculino	21	70,0	9	30,0	30	100,0	0,033*
Feminino	41	47,7	45	52,3	86	100,0	
Total	62	53,4	54	46,6	116	100,0	
Estado civil							
Casado	39	52,0	36	48,0	75	100,0	0,382
Solteiro	10	43,5	13	56,5	23	100,0	
Divorciado	5	71,4	2	28,6	7	100,0	
Viúvo	7	70,0	3	30,0	10	100,0	
Total	61	53,0	54	47,0	115	100,0	
Renda							
Até 2 SM	50	52,6	45	47,4	95	100,0	0,654
De 2 a 4 SM	4	57,1	3	42,9	7	100,0	
De 4 a 10 SM	3	75,0	1	25,0	4	100,0	
Total	57	53,8	49	46,2	106	100,0	
Hábito de fumar							
Nunca Fumou	42	59,2	29	40,8	71	100,0	0,121
Ex-fumante	20	44,4	25	55,6	45	100,0	
Total	62	53,4	54	46,6	116	100,0	

1- Teste da razão de verossimilhança,, *Estatisticamente significativa (p<0,05)

Tabela 07 - Distribuição de algumas variáveis segundo o impacto OHIP no grupo de periodontite.

Variáveis	OHIP				Total		p-valor ¹
	Sem Impacto		Com Impacto				
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							
Masculino	9	47,4	10	52,6	19	100,0	1,000
Feminino	36	47,4	40	52,6	76	100,0	
Total	45	47,4	50	52,6	95	100,0	
Estado civil							
Casado	23	50,0	23	50,0	46	100,0	0,909
Solteiro	13	41,9	18	58,1	31	100,0	
Divorciado	4	50,0	4	50,0	8	100,0	
Víúvo	5	50,0	5	50,0	10	100,0	
Total	45	47,4	50	52,6	95	100,0	
Renda							
Até 2 SM	28	41,8	39	58,2	67	100,0	0,201
De 2 a 4 SM	12	63,2	7	36,8	19	100,0	
De 4 a 10 SM	2	66,7	1	33,3	3	100,0	
Total	42	47,2	47	52,8	89	100,0	
Hábito de fumar							
Nunca Fumou	32	50,8	31	49,2	63	100,0	0,347
Ex-fumante	13	40,6	19	59,4	32	100,0	
Total	45	47,4	50	52,6	95	100,0	

1- Teste da razão de verossimilhança;; *Estatisticamente significativa (p<0,05)

Tabela 08 - Distribuição de algumas variáveis segundo o impacto OHIP no grupo de controle saudáveis.

Variáveis	OHIP				Total		p-valor ¹
	Sem Impacto		Com Impacto				
	n	%	n	%	n	%	
Sexo							
Masculino	4	66,7	2	33,3	6	100,0	0,369
Feminino	30	47,6	33	52,4	63	100,0	
Total	34	49,3	35	50,7	69	100,0	
Estado civil							
Casado	17	54,8	14	45,2	31	100,0	0,803
Solteiro	8	42,1	11	57,9	19	100,0	
Divorciado	6	42,9	8	57,1	14	100,0	
Viúvo	2	50,0	2	50,0	4	100,0	
Total	33	48,5	35	51,5	68	100,0	
Renda							
Até 2 SM	15	39,5	23	60,5	38	100,0	0,378
De 2 a 4 SM	7	46,7	8	53,3	15	100,0	
De 4 a 10 SM	3	75,0	1	25,0	4	100,0	
Total	25	43,9	32	56,1	57	100,0	
Hábito de fumar							
Nunca Fumou	31	52,5	28	47,5	59	100,0	0,182
Ex-fumante	3	30,0	7	70,0	10	100,0	
Total	34	49,3	35	50,7	69	100,0	

1- Teste da razão de verossimilhança;, *Estatisticamente significativa (p<0,05)

Tabela 09 - Medidas descritivas de algumas variáveis segundo o impacto OHIP em cada grupo

Variáveis	Diabéticos			Periodontite			Controles saudáveis		
	N	Média ± DP	p-valor ¹	N	Média ± DP	p-valor ¹	N	Média ± DP	p-valor ¹
Média de Profundidade de Sondagem									
Sem Impacto	62	2,43 ± 0,66	0,778	45	2,29 ± 0,52	0,958	34	1,89 ± 0,34	0,316
Com Impacto	54	2,46 ± 0,68		50	2,30 ± 0,61		35	1,84 ± 0,27	
Média Nivel de Inserção Clínica									
Sem Impacto	62	3,74 ± 1,61	0,389	45	3,18 ± 0,96	0,495	34	2,16 ± 0,45	0,540
Com Impacto	54	4,06 ± 1,74		50	3,83 ± 2,12		35	2,12 ± 0,44	
Índice de sangramento (%)									
Sem Impacto	62	13,25 ± 16,47	0,310	45	14,81 ± 12,54	0,985	34	4,70 ± 5,81	0,955
Com Impacto	54	9,71 ± 11,26		50	15,94 ± 15,39		35	5,48 ± 7,58	
Índice de placa (%)									
Sem Impacto	62	32,00 ± 29,60	0,023	45	22,50 ± 20,24	0,416	34	15,38 ± 19,79	0,642
Com Impacto	54	19,21 ± 17,40		50	27,24 ± 25,02		35	17,32 ± 20,08	
Número de dentes									
Sem Impacto	62	17,19 ± 5,88	0,005	45	19,20 ± 5,60	0,010	34	21,03 ± 5,42	0,330
Com Impacto	54	14,13 ± 4,84		50	16,38 ± 5,38		35	19,37 ± 6,13	

1- Teste da razão de verossimilhança; *, *Estatisticamente significante (p<0,05)

ANEXO U - RELATÓRIO

CO- ORIENTAÇÃO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE GRADUAÇÃO.

ROMÁRIO CORREIA DOS SANTOS
MARCELA SANDY VALENÇA
CAROLINA SERRA
CÂNDIDA PRISCILA

CO- ORIENTAÇÃO PIBIC GRADUAÇÃO

ROMÁRIO CORREIA DOS SANTOS

CO- ORIENTAÇÃO TRABALHOS APRENTADOS POR ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM CONGRESSOS

GUILHERME RICARDO
THAIS XIMENES

TRABALHOS APRESENTAÇÃO ORAL SNNPqO

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO SISTEMA MASTIGATÓRIO EM CRIANÇAS COM PARALISIA CEREBRAL TIPO TETRAPARESIA ESPÁSTICA
IMPACTO DO TRATAMENTO PERIODONTAL EM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO II, ATRAVÉS DE PARÂMETROS CLÍNICOS, INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO - ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO.

TRABALHOS APRESENTAÇÃO ORAL SBPqO

PINHO, R. C. M.; VASCONCELOS, M. M. V. B.; BARBOSA, A. C. S.; CALDAS JUNIOR, A. F.; CIMOES, R.; SANTOS, M. T. B. R. Níveis de ansiedade traço, ansiedade estado e ansiedade odontológica em cuidadores de Pacientes com Necessidades Especiais In: 33a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2016, 2016, Campinas - SP. Brazilian Oral Research Proceedings of the 33nd SBPqO Annual Meeting. São Paulo - SP: Faculdade de Odontologia de São Paulo -USP, 2016. v.30. p.58 - 58

COLABORADOR PROJETO DE EXTENSÃO UFPE

ATENÇÃO ODONTOLÓGICA AO PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2
ARTE E SAÚDE

PREMIAÇÃO TRABALHO APRESENTADO EM CONGRESSO

1º LUGAR FÓRUM CIENTÍFICO PROFISSIONAL COM O TRABALHO APRESENTAÇÃO ORAL: PROTEÍNA DA MATRIZ DE ESMALTE NO TRATAMENTO DE DEFEITOS INTRA ÓSSEOS EM PACIENTES DIABÉTICOS: ENSAIO CLÍNICO, 23 COPEO- CONGRESSO PERNAMBUCANO DE ODONTOLOGIA – 2016
--