

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA INTEGRADA

ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA LECTINA LIGADORA DE MANOSE
(MBL-2) NA PATOGÊNESE DO LÍQUEN PLANO ORAL**

Recife, 2008

ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA LECTINA LIGADORA DE MANOSE
(MBL-2) NA PATOGÊNESE DO LÍQUEN PLANO ORAL**

Dissertação apresentada ao Colegiado da Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Odontologia com área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Alessandra de Albuquerque T. Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza

Recife, 2008

Faria, Andreza Barkokebas Santos de
Avaliação do polimorfismo da lectina ligadora de
manose (MBL-2) na patogênese do líquen plano oral /
Andreza Barkokebas Santos de Faria. – Recife : O
Autor, 2008.

40 folhas : il., fig., tab., quadros.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Odontologia, 2008.

Inclui bibliografia, anexos e apêndices.

1. Líquen plano oral – Polimorfismo MBL-2. I.
Título.

616.31
616.31

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2009-031

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA INTEGRADA

COLEGIADO

Profa. Dra. Alessandra de Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Prof. Dr. Etenildo Dantas Cabral

Prof. Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Liriane Baratella

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profa. Dra. Silvana Maria Orestes Cardoso

SECRETARIA

Oziclere de Araújo Sena

Ata da 74ª Defesa de Dissertação do Curso de Mestrado em Odontologia com área de Concentração em Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 09 de dezembro de 2008.

Às 9:00(nove horas) do dia 09 (nove) do mês de dezembro do ano de dois mil e oito, reuniram-se no Auditório Ageu de Aquino Sales do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, os membros da Banca Examinadora, composta pelos professores: Profa. Dra. JUREMA FREIRE LISBOA DE CASTRO, atuando como presidente, Prof.Dr. FABIANO GONZAGA RODRIGUES, da Universidade Federal da Paraíba, atuando como primeiro examinador. Profa.Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO , atuando como segundo examinador, para julgar o trabalho intitulado “ **AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL-2) EM PACIENTES PORTADORES DE LÍQUEN PLANO ORAL** ” da CD. **ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA**, candidata ao Grau de Mestre em Odontologia, na Área de Concentração em CLINICA INTEGRADA, sob orientação do Professor Dr. JAIR CARNEIRO LEÃO, Co-orientação dos professores Drs. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO e PAULO ROBERTO ELEUTÉRIO DE SOUZA. Professor Dr. JAIR CARNEIRO LEAO, Coordenador do Programa de Pós Graduação em Odontologia abriu os trabalhos convidando os senhores membros para compor a Banca Examinadora, foram entregues aos presentes cópias do Regimento Interno do Curso de Mestrado em Odontologia, que trata dos critérios de avaliação para julgamento da Dissertação de Mestrado. A presidente da mesa após tomar posse conferiu os membros, seguindo convidou a mestranda. CD. **ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA** , para expor sobre o aludido tema, tendo sido concedido trinta minutos. A candidata expôs o trabalho e em seguida colocou-se a disposição dos Examinadores para arguição. Após o término da arguição os Examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram a candidata os seguintes conceitos: Prof.Dr. FABIANO GONZAGA RODRIGUES (**APROVADA**), Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO , (**APROVADA**), Profa. Dra. JUREMA FREIRE LISBOA DE CASTRO (**APROVADA**), a candidata recebeu três conceitos (**APROVADA**) é considerada (**APROVADA**), devendo a candidata acatar as sugestões da Banca Examinadora de acordo com o Regimento Interno do Curso, face a aprovação, fica a candidata, apta a receber o Grau de Mestre em Odontologia, cabendo a Universidade Federal de Pernambuco através de sua Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, a Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar eu, Oziclere Sena de Araújo , lavrei a presente Ata que vai por mim assinada , pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo recém formado mestre pela UFPE, . **ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA**.



Ass: J. Freire

Recife, 09 de dezembro de 2008.


Prof.ª Dra. JUREMA FREIRE LISBOA DE CASTRO -UFPE
Presidente


Prof. Dr. FABIANO GONZAGA RODRIGUES - UFPB
1º Examinador


Prof.ª Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO -UFPE
2º Examinador

Agradecimentos Especiais

A Deus, por sempre ter orientado meu caminho e iluminado a minha vida e a da minha família com saúde e proteção;

Ao meu marido, Roberto, pelo seu companheirismo, grande amor e dedicação sempre presentes;

Aos meus pais, Myrian e Newton (in memoriam) pelo grande amor e pela vida maravilhosa que sempre me proporcionaram e me incentivaram para que eu conquistasse mais essa etapa da minha vida, sem eles eu nada seria.

Agradecimentos

A todos os professores do curso de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) que contribuíram na minha formação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jair Carneiro Leão, pelo qual tenho grande admiração pelo profissionalismo, dedicação e principalmente pelos ensinamentos que me foram proporcionados para o meu crescimento profissional.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a Alessandra de Albuquerque Carvalho, pela qual tenho uma grande admiração e gratidão pelos ensinamentos.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza, agradeço todo estímulo, ensinamentos e dedicação durante toda pesquisa.

Ao Professor Ricardo Santiago Gomez da Universidade Federal de Minas Gerais pela grande contribuição nessa pesquisa.

À amiga Camila Beder pela sua contribuição, atenção e dedicação.

Aos meus colegas do mestrado: Fabrícia Barros, Ana Marly Maia, Juliana Souto Maior, Carolina Lima, Daniel Gomes, George Gusmão, Natália Costa, Águída Hemrique,, Daene Patrícia, Débora Fonseca, Darcyla Belo, Keila Marinho, Ana Paula Pires e Anderson Marciano pelos momentos vividos juntos, formação de grupos de trabalho e pelos prazerosos momentos de descontração e amizade.

Aos colegas do LIKA Rafael Guimarães, Lucas Brandão e Dayse Vasconcelos pela grande ajuda e disponibilidade durante a fase da pesquisa.

As funcionárias da Pós-Graduação de Odontologia da UFPE, pela ajuda prestada.

Aos amigos do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) que sempre me incentivaram e torceram por mim durante toda essa trajetória.

Por fim, a todos que direta ou indiretamente tenham contribuído para que possa ter chegado até aqui.

EPÍGRAFE

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estivermos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superar os obstáculos”.

Dalai Lama

SUMÁRIO

Lista de figuras	12
Lista de tabelas e quadros	13
Lista de abreviaturas	14
Artigo	15
Resumo	16
Abstract	17
Introdução	18
Materiais e Métodos	20
Resultados	24
Discussão	26
Conclusão	29
Conflito de interesse	30
Referências	31
Quadro 01	35
Tabela 01	36
Tabela 02	37
Tabela 03	38
Figura 01	39
Figura 02	40
Apêndices	
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	
Ficha Clínica	

Anexos

Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa da UFPE (CEP UFPE)

Carta de Anuência do LIKA

Normas do Journal of Oral Pathology & Medicine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Curva de Melting do grupo experimental obtida pelo Rotor Gene™ RG 3000
(Uniscience-Cobert Research)

Figura 2 Curva de Melting do grupo controle obtida pelo Rotor Gene™ RG 3000
(Uniscience-Cobert Research)

LISTA DE TABELAS E QUADRO

TABELAS

Tabela 1 Características clínicas das manifestações do líquen plano

Tabela 2 Distribuição da frequência genotípica da MBL-2 no grupo experimental e no grupo controle.

Tabela 3 Distribuição da frequência alélica da MBL-2 no grupo experimental e no grupo controle.

QUADRO

Quadro 1 Estudos sobre o polimorfismo MBL-2 em doenças imunologicamente mediadas.

LISTA DE ABREVIATURAS

LPO	Líquen Plano Oral
MBL	<i>Mannose-binding lectin</i> / Lectina ligadora de Manose
PCR	Reação da Cadeia em Polimerase
TNF- α	Fator alfa de Necrose Tumoral
SNPs	Polimorfismos em um único nucleotídeo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RPM	Rotações por minuto
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
NFW	Nuclease Free Water / Água livre de nuclease
NaI	Iodeto de Sódio
mL	Mililitro
μ L	Microlitro
IL-6	Interleucina 6
IL-1b	Interleucina 1b
DP	Desvio padrão
IC	Intervalo de confiança
p	Nível de significância estatística

ARTIGO

AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA LECTINA LIGADORA DE MANOSE (MBL-2) NA PATOGÊNESE DO LÍQUEN PLANO ORAL

Andreza Barkokebas Santos de Faria

Mestranda em Odontologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Alessandra de Albuquerque T. Carvalho

Professora Adjunto de Estomatologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Paulo Roberto Eleutério de Souza

Professor Adjunto de Biologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ricardo Santiago Gomez

Professor Adjunto de Estomatologia pela Universidade Federal de Minas Gerais.

Guilherme Machado Xavier

Mestre em Farmacologia pela Universidade Federal de Minas Gerais.

Camila Maria Beder Ribeiro

Mestre em Odontologia pela UFPE.

Jair Carneiro Leão

Professor Adjunto de Estomatologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Endereço para correspondência:

Prof. Jair Carneiro Leão, PhD

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Recife PE 50670-901

Fone/Fax: + 81 21268818

jleao@ufpe.br,

www.ufpe.br/estomatologia

www.propesq.ufpe.br/hp/pgodonto

Este artigo está formatado de acordo com as normas do Journal of Oral Pathology & Medicine.

RESUMO

Introdução: Evidências atuais sugerem que a etiopatogênese do líquen plano oral (LPO) seja um processo mediado pelas células T, possivelmente associado ao Fator alfa de Necrose Tumoral. A lectina ligadora de manose é uma proteína multimérica responsável pela ativação do sistema complemento. Foi sugerido que níveis reduzidos de MBL, possivelmente associados ao seu polimorfismo (MBL-2), aumentariam a produção, *in vitro*, do TNF- α . O objetivo do presente estudo foi avaliar o polimorfismo da MBL-2 na possível patogênese do LPO. A comprovação dessa associação proporcionará métodos terapêuticos na cura da doença.

Materiais e métodos: A amostra foi composta por 90 indivíduos distribuídos em um grupo experimental (n=45) e um grupo controle (n=45), (média de idade 43 anos; variando entre 18-67). Foram coletados esfregaços com auxílio de escovas ginecológicas do tipo Cytobrush. O gene MBL-2 foi amplificado através de um protocolo de PCR em tempo real, utilizando primers específicos. Para a análise estatística foram utilizados o Teste de Mann-Whitney, Teste Exato de Fisher e Likelihood Ratio.

Resultados: A frequência do genótipo A/A foi de 55,6% no grupo experimental e de 53,3% no controle. Para o genótipo heterozigoto A/O 42,2% eram do grupo experimental e 35,6% do controle. 2,2% e 11,1%, respectivamente, apresentaram o genótipo recessivo O/O. As frequências dos alelos "A" e "O" foram de 77% e 23% no grupo LPO e de 71,2% e 28,8% no controle, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa para frequência genotípica ($p=0,546$) nem para alélica ($p=0,497$).

Conclusão: Não houve associação estatisticamente significativa do polimorfismo do gene MBL-2 com a etiopatogenia do líquen plano oral nesse estudo.

Palavras-chave: líquen plano oral; polimorfismo; lectina ligadora de manose

ABSTRACT

Background: Current evidence suggests that the etiopathogenesis of oral lichen planus (OLP) is a T cells mediated process possibly associated with tumor necrosis factor alpha. Mannose-binding lectin is a multimer protein responsible for the activation of the complement system. It has been suggested that low levels of MBL, possibly associated with its polymorphism, may increase in vitro production of TNF- α . The aim of this study was to evaluate the MBL-2 polymorphisms in OLP pathogenesis.

Methods: The sample comprised individuals distributed into a group of individuals with OLP (n = 45) and a group of healthy volunteers (n = 45), (mean age 43 years; range 18-67). MBL-2 gene was amplified through a real-time PCR. For the statistical analysis Mann-Whitney, Fisher's exact test and Likelihood Ratio were used.

Results: Data showed that genotype frequencies A/A was 55.6% in OLP patients and 53.3% in healthy subjects. For the heterozygote genotype A/O 42.2% were carriers of OLP and 35.6% healthy subjects. 2.2% and 11.1%, respectively, showed the homozygous mutant O/O. The allele frequencies "A" and "O" were 77% and 23% in OLP group and 71.2% and 28.8% in the control, respectively. There was no statistically significant difference in genotype frequencies ($p = 0.546$) or for allelic ($p = 0.497$).

Conclusions: Our findings showed no significant association between MBL-2 gene polymorphisms in oral lichen planus etiopathogenesis.

Keywords: oral lichen planus; polymorphisms; mannose-binding lectin

INTRODUÇÃO

O líquen plano oral (LPO) é uma desordem mucocutânea que pode afetar a mucosa oral e acomete predominantemente pacientes do sexo feminino com idade média de 40 anos (1-3). A etiologia do LPO é incerta, entretanto evidências atuais sugerem que seja um processo crônico imunologicamente mediado pelas células T (4-6).

A patogênese do LPO está relacionada a mecanismos antígeno-específicos, através da apresentação de antígenos pela camada basal do epitélio seguida de dano citotóxico promovido por linfócitos T CD8+, e a mecanismos não-específicos, relacionados com a degranulação de mastócitos e ativação de metaloproteinases (7), que irão atrair linfócitos T adjacentes à lâmina própria e promover a degeneração da camada basal (CB). Após esse evento de desorganização, a CB não é reconhecida como própria, ativando assim, o sistema imunológico.

Sugere-se ainda que a perda da imunidade do epitélio normal parece ser um importante evento neste processo e também possivelmente ligado à etiologia de outras doenças auto-imunes (8). Outra hipótese para justificar a ativação do sistema imune poderia estar associada ao fato de que alguns complexos decorrentes do sistema complemento poderiam ser liberados, de forma alternativa e ligar-se a células das proximidades e estas sofrerem ataque à membrana, esse fenômeno de “lise” de células adjacentes não envolvidas no processo parece também contribuir para a injúria tecidual observada em diversas doenças causadas por complexos imunes (9).

Estudos recentes mostraram que polimorfismo do gene Fator alfa de Necrose Tumoral (TNF- α) induz a produção da citocina pró-inflamatória que está envolvida

em reações de células T, representando assim, um importante mecanismo na etiopatogênese do LPO (2,6,10) e em muitos transtornos inflamatórios crônicos (11) através do recrutamento dos linfócitos, células produtoras de TNF- α (12), das regiões microvasculares em infiltrado inflamatório sub-epitelial que migram subsequente para o epitélio oral (13).

O TNF- α além de estimular células endoteliais e macrófagos a secretar quimiocinas, induz a quimiotaxia dos leucócitos (14). Foi sugerido ainda que o gene da MBL (Mannose-Binding Lectin) codifica a proteína ligadora de manose pertencente à família das colectinas (15). Esta proteína tem um papel importante nas reações imunológicas inatas através de mecanismos moleculares de reconhecimento de uma ampla variedade de patógenos incluindo vírus, bactérias, protozoários e fungos (16); e da ativação da Via da Lectina do sistema complemento independente da presença de anticorpos específicos (17).

O polimorfismo do gene MBL-2 relacionado à secreção de citocinas pró e antiinflamatórias em pacientes portadores de doenças imunologicamente mediadas tem sido estudado, recentemente, e apresentado resultados conflitantes (18) (Quadro 01). Sabendo que o LPO é uma doença imunologicamente mediada e que o TNF- α pode estar relacionado com seu aparecimento (6,10) é possível que MBL-2, tenha um papel importante na etiopatogenia do LPO, uma vez que o polimorfismo deste gene é fortemente associado com a diminuição dos níveis séricos de MBL (17,19,20) e conseqüentemente com o aumento na produção de interleucinas, particularmente IL-6 e TNF- α (11).

Apesar de trabalhos recentes utilizando a PCR em tempo real possibilitarem a detecção de polimorfismos da região codificadora do gene MBL-2, a fim de associá-

los com a etiopatogênese de diversas doenças auto-imunes, a possível associação com o LPO ainda não foi estabelecida. Baseado nas informações descritas acima, este trabalho se propôs a avaliar o polimorfismo do gene da MBL-2 na patogênese do LPO.

MATERIAIS E MÉTODOS

Tratou-se de um estudo experimental aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob o protocolo nº 251/07. Os participantes da pesquisa assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1), foram examinados e seus dados preenchidos na ficha clínica (Apêndice 2). A amostra foi composta por um total de 90 indivíduos, distribuídos em um grupo experimental (n=45), composto por portadores de líquen plano oral (LPO) e um grupo controle (n=45), composto por pacientes saudáveis, pareados em gênero e idade.

Os pacientes portadores de LPO foram examinados na Clínica de Estomatologia da Universidade Federal de Minas Gerais e os critérios de inclusão foram: ausência de utilização de medicações sistêmicas ou de reação liquenóide associada a restaurações. Todos os casos de LPO foram confirmados histologicamente e todos os pacientes foram questionados quanto aos sintomas do líquen plano oral ou de alterações dermatológicas (10). Pacientes fazendo uso de medicação sistêmica ou acometidos por qualquer alteração foram excluídos do estudo.

Coleta das amostras

As amostras foram constituídas de esfregaços obtidos a partir da mucosa jugal bilateral com a utilização de escovas ginecológicas do tipo Cytobrush (Kolplast® Comercial Industrial do Brasil Ltda) (21). Foram acondicionadas em tubos de

ependorff contendo 500µL de solução fisiológica de cloreto de sódio a 0.9% (Laboratório Tayuyna Ltda.) e congeladas a -20°C para posterior extração de DNA.

Extração de DNA

As amostras foram identificadas e o DNA extraído com o kit de extração e purificação de DNA Geneclean® (GENECLEAN® Kit, BIO 101, La Jolla, CA) adaptado de acordo com o protocolo sugerido por Leão *et al.* (1999) (22). Nesta etapa, os materiais clínicos coletados foram centrifugados a 5.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento (*pellet*) foi ressuspendido em 400µL de NaI. Para a extração do DNA foram adicionados 10µL de *Glass Milk* e deixados à temperatura ambiente por 5 minutos agitando-se esporadicamente.

Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 1400 rpm por 5 minutos e o sobrenadante descartado. Foram adicionados 500µL de *New Wash* e posteriormente centrifugado a 1400 rpm por 5 minutos, esta etapa foi realizada duas vezes perfazendo um total de duas lavagens. Os sobrenadantes finais foram descartados e incubados a 55°C por 5 minutos no Cool Block (Calor Seco). Após esta etapa foi adicionada a água livre de nuclease (NFW) (Promega® Madison, WI, EUA) homogeneizando o precipitado. As amostras foram levadas à centrífuga a 1400 RPM por 5 minutos e o sobrenadante que continha o DNA extraído foi cuidadosamente pipetado e transferido para um novo ependorff devidamente identificado para ser estocado a -20°C, até ser utilizado na reação de amplificação.

PCR em tempo real e Genotipagem

A detecção dos polimorfismos do exon 1 do gene da MBL foi baseado na curva de “melting temperature assay” usando o Rotor Gene™ RG 3000 (Uniscience-Cobert Research) como plataforma, bem como *primers* específicos (iniciador *forward*

5'-AGGCATCAACGGCTTCCCA-3' e iniciador *reverse* 5'-AGAACAGCCCAACACGTACCT-3') (23,24). Os polimorfismos em um único nucleotídeo (SNPs) são considerados uma poderosa ferramenta na identificação de genes envolvidos na patogênese de diversas doenças (25,26). Os três SNPs (nas posições -52, -54 e -57 do exon 1 do gene da MBL) foram analisadas no mesmo produto da PCR em tempo real através da curva de dissociação e agrupadas no alelo "0" quando alguma mutação ocorrer nos códons (27).

A amplificação do exon 1 da MBL2 foi realizada para um volume final de 25µL com SyBR Green PCR Master Mix 1X (Applied Biosystems), 0,5 µl de cada *primer*, como descrito anteriormente, e cerca de 2µL do DNA genômico molde. A condição termal da reação iniciou com uma desnaturação a 95°C por 2 minutos seguida por 35 ciclos de uma desnaturação a 95°C por 15 segundos e um anelamento e extensão a 60°C por 1 min. Após a amplificação do exon 1, o produto resultante foi submetido ao protocolo da Curva de Melting (Rotor GeneTM RG 3000 - Uniscience-Cobert Research) (Figuras 1 e 2).

O protocolo iniciou com um lento aquecimento de 60°C a 95°C e os cálculos referentes à variação da emissão do fluoróforo automaticamente realizados pelo software do programa (Rotor GeneTM RG 3000 versão 6.0 (build 41) (Uniscience-Cobert Research) gerando as curvas de dissociação permitindo a detecção dos SNPs.

Análise dos dados

Na análise dos dados foram obtidas medidas estatísticas (técnicas de estatística descritiva) utilizando-se de tabelas para as variáveis qualitativas; para as variáveis quantitativas foram calculadas a medida de tendência central (Média) e variabilidade (desvio padrão). Para análise estatística inferencial das variáveis idade e sexo foi utilizado o teste de variáveis não-paramétricas Mann-Whitney.

Para o cálculo da frequência genotípica do MBL-2 foi utilizado o teste de Likelihood Ratio, e para análise da frequência alélica foi utilizado o Teste Exato de Fisher. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. Os dados foram digitados na planilha Excel e o software utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão

13.

RESULTADOS

A média de idade dos participantes foi 43 anos (DP:11,06) e as freqüências de manifestações clínicas podem ser observadas na Tabela 1. Na análise das médias de idades dos participantes da pesquisa, estratificada por sexo e grupos estudados, pôde-se observar que no grupo experimental, 32/45 (71,11%) eram do sexo feminino com idade média de 45,03 anos (DP:10,26), e 13/45 (28,88%) eram pacientes do sexo masculino, com idade média de 38,53 anos (DP:12,01), contudo, não foi observada diferença estatística com relação às médias de idade entre os sexos masculino e feminino ($p=0,081$).

Os resultados da amplificação do gene da MBL-2 através da PCR em Tempo Real demonstraram que, no grupo experimental, 25/45 (55,6%) apresentaram genótipo A/A (selvagem normal); 19/45 (42,2%) genótipo A/O (heterozigoto) e 1/45 (2,2%) indivíduo portador de genótipo O/O (homozigoto recessivo). Similarmente, no grupo controle foi possível observar a presença do genótipo selvagem, ou seja, homozigotos dominantes normais (A/A) em 24/45 (53,3%); 16/45 (35,6%) indivíduos apresentaram genótipo heterozigotos (A/O) e 5/45 (11,1%) homozigotos recessivos (O/O). Através do teste de Likelihood Ratio foi realizada uma comparação dos dados obtidos do grupo controle. Desta maneira, os resultados obtidos indicaram que a presença dos genótipos mutantes não foram fatores de risco para o desenvolvimento das formas de líquen plano ($p= 0,546$). O número de indivíduos com LPO, com seus respectivos genótipos para o gene da MBL-2, pode ser observado na Tabela 2.

Na análise da freqüência alélica foi possível observar que os dois grupos do estudo apresentaram freqüências semelhantes de ambos os alelos. A freqüência do alelo dominante “A” no grupo dos pacientes portadores de LPO foi 69/90 (77%) e no grupo de pacientes saudáveis foi possível observar a freqüência de 64/90 (71,2%).

Similarmente, a frequência do alelo recessivo “0” foi 21/90 (23%) no grupo dos casos e 26/90 (28,8%) no grupo dos controles. A presença de alelos mutantes não foram fatores contribuintes para o desenvolvimento do LPO ($p=0,497$) (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Estudos prévios mostraram evidências de um papel modulador da MBL em doenças autoimunes e acrescentaram que as investigações na Dinamarca e em Hong Kong sugeriram que os alelos mutantes da MBL poderiam estar associados com a severidade e o início precoce da artrite reumatóide (28-31). Garred et al. (32), assim como Turner (33), sugeriram um protocolo para detecção de polimorfismos neste gene, sendo assim, o alelo selvagem (normal) para o gene MBL é designado A e a designação usual para os alelos variantes é o 0.

Indivíduos que são homozigotos (0/0) para um alelo mutante produzem MBL em quantidades indetectáveis por ELISA, enquanto os heterozigotos (A/0) para a mutação possuem concentrações séricas significativamente reduzidas quando comparados com indivíduos homozigotos (A/A) para o alelo selvagem (31). Madsen et al. (34) e Werth et al. (35) acrescentaram que os genótipos 0/0 e A/0 estão associados com a baixa capacidade antigênica e baixos níveis funcionais de MBL (comparado com o genótipo A/A).

A frequência do alelo “0” para o grupo controle apresentou-se discretamente mais elevada do que a do grupo experimental, contudo essa diferença não foi estatisticamente significativa. Esses resultados mostraram que as semelhanças de frequências entre os alelos dominante e recessivo não foram fatores contribuintes para o desenvolvimento das manifestações clínicas do líquen plano oral, por outro lado nos estudos de Boniotto et al. (36) com indivíduos acometidos pela doença celíaca, a frequência do alelo mutante “0” foi mais alta quando comparada ao grupo controle, corroborando com os resultados de Villarreal et al. (37), Lee et al. (38) e Garred et al (32) que afirmaram que a frequência do alelo mutante “0” também

encontrava-se significativamente maior nos pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico do que nos pacientes saudáveis.

Em relação ao estudo genotípico para o LPO, obtido no presente trabalho, foi observada uma maior prevalência do genótipo selvagem A/A, seguida pelas frequências dos genótipos heterozigoto A/O e homozigoto recessivo O/O corroborando com os resultados do estudo de Boniotto et al. (39) em pacientes italianos com doença celíaca e com os achados de Tsusumi et al. (40) para o lúpus eritematoso sistêmico. No entanto, no presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre o polimorfismo do gene MBL-2 e o aparecimento do LPO.

Estudos semelhantes envolvendo outras doenças autoimunes, dentre eles os estudos de Mullighan et al. (26) com indivíduos portadores da Síndrome de Sjögren e o estudo recente realizado por Messias-Reason et al. (18) com pacientes diagnosticados com Pênfigo Foliáceo também não mostraram associação com o polimorfismo no gene MBL. A possível associação era esperada, uma vez que, o polimorfismo do gene MBL-2 parece estar envolvido em outros processos autoimunes (18,28,31,32,36-40). Jack et al.(11) sugerem que o polimorfismo de MBL-2 induz a uma diminuição dos níveis de concentração da proteína no soro e que concentrações diminuídas de MBL aumentam profundamente a produção de interleucinas IL-6, IL-1b e de TNF- α .

É sabido ainda que níveis significativamente elevados de TNF- α são encontrados na mucosa oral (41), no soro (42), e nos fluidos orais (43,6) de pacientes portadores de LPO; e que estudos recentes mostram associação significativa entre o polimorfismo do TNF- α e a etiologia do LPO (2,10,13). É possível que a ausência de uma relação de causalidade identificada nos resultados

deste estudo, se deva ao fato de que o gene MBL, assim como a Via da Lectina façam parte do sistema imune inato, diferentemente do LPO que é uma patologia mediada pelas células T, principalmente linfócitos T CD8+, que, por sua vez, está correlacionada com a imunidade adquirida.

Estudos adicionais, possivelmente com maior número de indivíduos avaliados, poderão elucidar melhor o papel deste gene na modulação da resposta inflamatória e sua possível influência na etiologia do LPO.

CONCLUSÃO

Resultados preliminares, obtidos nesse estudo, demonstraram que não houve associação estatisticamente significativa do polimorfismo do gene MBL-2 com a etiopatogenia do líquen plano oral.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não houve conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Chainani-Wu N, Silverman S Jr, Lozada-Nur F, Mayer P, Watson JJ. Oral lichen planus: patient profile, disease progression and treatment responses. *J Am Dent Assoc* 2001;132:901-909.
2. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(4):350-365.
3. Manolache L, Seceleanu-Petrescu D, Benea V. Lichen planus patients and stressful events. *JEADV* 2008; **22** :437–441.
4. Navas-Alfaro SE, Fonseca EC, Guzmán-Silva MA, Rochael MC. Análise histopatológica comparativa entre líquen plano oral e cutâneo. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2003;39:4.
5. Grossmann SMC, Aguiar MCF, Teixeira R, Vieira do Carmo MA. Líquen plano bucal e hepatite C. *Arquivos em odontologia* 2006; 42: 1-80.
6. Pezelj-Ribaric S, Prso IB, Abram M, Glazar I, Brumini G, Simunovic-Soskic M. Salivary levels of tumor necrosis factor- α in oral lichen planus. *Mediators of Inflammation* 2004;13(2): 131-133.
7. Ismail SB, Kumar SK, Zain RB. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. *J Oral Sci.* 2007 Jun;49(2):89-106. Review.
8. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: Report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;100:40-51.
9. Boehmer VH, Kisielow, P. How the immune system learns about self. *Sci. Am.* October 1991, p. 74-81.
10. Xavier GM, Sa´AR, Guimarães ALS, Silva TA, Gómez RS. Investigation of functional gene polymorphisms interleukin-1 β , interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor in individuals with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 476–81.
11. Jack DL, Klein NJ, et al. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. *Immunol Rev* 2001; 80:86-99.

12. Anaya JM. Descripción Molecular del TNF- α . *Reumatologia* 2003; 19 (2): 112-120.
13. Carrozzo M, Uboldi de Capei M ,Dametto E, et al. Tumor Necrosis Factor- α and Interferon- γ Polymorphisms Contribute to Susceptibility to Oral Lichen Planus. *J Invest Dermatol* 2004; 122:87–94.
14. Locksley, R. M., Killeen, N., Leonardo, M. J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001, 104: 487-501.
15. Worthley DL, Bardy PG, Gordon DL, Mullighan CG. Mannosebinding lectin and maladies of the bowel and liver. *World J Gastroenterol* 2006; 12(40): 6420-6428.
16. Dommett R M, Klein M, Turner M W. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Journal compilation* 2006; 68:193–209.
17. Ji X, Gewurz H, Spear GT. Mannose binding lectin (MBL) and HIV. *Mol Immunol* 2005; 42:(Feb):145-52.
18. Messias-Reason DG, Bosco RM, Nisihara LH, Jakobsen ML, Petzl-Erler, Jensenius JC. Circulating levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-associated serine protease 2 in endemic pemphigus foliaceus. *Clinical and Experimental Dermatology* 2008; 33: 495–497.
19. Madsen HO, Videm V, Svejgaard A, Svennevig J, Garred P. Association of mannose-binding-lectin deficiency with severe atherosclerosis. *Lancet* 1998;352(9132):959-60.
20. Lipscombe RJ, Sumiya M, Hill AVS, Lau YL, Levinsky RJ, Summerfield J.A, Turner MW. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Hum Mol Genet* 1992; 1(9):709-15.
21. Mendonca RMH, Levy CE, Silva RAM, Brandalise SR. Comparação das técnicas de bochecho e de swab na quantificação da microbiota oral. In: XIV Congresso Brasileiro de Estomatologia, Natal, RN. *Anais do XIV Congresso Brasileiro de Estomatologia* 2006; 279-279.
22. Leão JC, Hinrichsen SL, de Freitas BL, Porter SR. Human herpes virus 8 and Kaposi's sarcoma. *Rev Assoc Med Bras* 1999;45(1):55-62.
23. Arraes LC, Souza PRE, Bruneska D, Castelo Filho A, de Souza Cavada B, de Lima Filho JL, Crovella S. A cost-effective melting temperature assay for the

detection of single-nucleotide polymorphism in the MBL2 gene of HIV-1-infected children. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2006.

24. Hladnik U, Braida L, Boniotto M, Pirulli D, Gerin F, Amoroso A, Crovella S. Single-tube genotyping of MBL-2 polymorphisms using melting temperature analysis. *Clin Exp Med*. 2002; 2 (2): 105-8.

25. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Thiel S, Svejgaard A. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 1994; 40(1):37-44.

26. Mullighan CG, Heatley S, Bardy PG, Lester S, Rischmueller M, Gordon TP. Lack of association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2000; **43**: 2851-2852.

27. Garred P, Madsen HO, Balslev U, et al. Susceptibility to HIV infection and progression of AIDS in relation to variant alleles of mannose-binding lectin. *Lancet*. 1997; 349(9047): 236.

28. Ip WK, Lau Y-L, Chan SY, Mok CC, Chan D, Tong KK, Lau CS. Mannose-binding lectin and rheumatoid arthritis in southern Chinese. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1679–1687.

29. Garred P, Madsen HO, Marquart H, Hansen TM, Sorensen SF, Petersen J et al. Two edged role of mannose binding lectin in rheumatoid arthritis: a cross sectional study. *J. Rheumatol*. 2000; 27: 26–34.

30. Graudal NA, Homann C, Madsen HO, Svejgaard A, Jurik AG, Graudal HK, Garred P. Mannan binding lectin in rheumatoid arthritis. A longitudinal study. *J. Rheumatol*. 1998; 25, 629–635.

31. Jacobsen S, Madsen HO, Klarlund M, Jensen T, Skjødt H, Jensen KE, Svejgaard A, Garred P. The influence of mannose binding lectin polymorphisms on disease outcome in early polyarthritis. *J Rheumatol*. 2001; May ;28(5):935-42.

32. Garred P, Madsen HO, Halberg P, Petersen J, Kronborg G, Svejgaard A et al. Mannose-binding lectin polymorphisms and susceptibility to infection in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* Vol. 42, No. 10, October 1999, pp 2145–2152.

33. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Molecular Immunology* 2003; 40:423-429

34. Madsen HO, Garred P, Thiel S, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Svejgaard A. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannanbinding protein. *J Immunol* 1995; 155: 3013-3020
35. Werth VP, Berlin JA, Callen JP, Mick R, Sullivan KE. Mannose Binding Lectin (MBL) Polymorphisms Associated with Low MBL Production in Patients with Dermatomyositis. *The Journal of Investigative Dermatology* 2002; 119(4).
36. Boniotto M, Braida L, Spanò A, Pirulli D, Crovella S et al. Variant mannose-binding lectin alleles are associated with celiac disease. *Immunogenetics* 2002; 54:596–598.
37. Villarreal J, Crosdale D, Ollier W, Hajeer A, Thomson W, Ordi J, Balada E, Villardell M, Teh LS, Poulton K. Mannose binding lectin and FcγRIIa (CD32) polymorphism in Spanish systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxf)* 2001; 40:1009–1012.
38. Lee YH, Witte T, Momot T, Schmidt RE, Kaufman KM, Harley JB, Sestak AL. The Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms and Systemic Lupus Erythematosus: Two Case–Control Studies and a Meta-Analysis. *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52(12): 3966–3974.
39. Boniotto M, Braida L, Baldas V, Not T, Ventura A, Crovella S et al. Evidence of a correlation between mannose binding lectin and celiac disease: a model for other autoimmune diseases. *J Mol Med* 2005; 83: 308–315.
40. Tsutsumi A, Sasaki K, Wakamiya N, Ichikawa K, Atsumi T, Ohtani K, Suzuki Y, Koike T, Sumida T. Mannosebinding lectin gene: polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Sjogren's syndrome. *Genes Immunol* 2001; 2:99–104.
41. Fayyazi A, Schwyer S, Soruri A, Duong LQ, Radzun HJ, Peters J, Parwaresch R, Berger H. T lymphocyte and altered keratinocyte express interferon-gamma and interleukin 6 in lichen planus. *Arch Dermatol Res* 1999; 291:485–90.
42. Karagouni EE, Dotsika EN, Sklavounou A. Alteration in peripheral blood mononuclear cell function and serum cytokines in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 28–35.
43. Pociot F, Molvig J, Wogensen L, Worsaae H, Nerup J. A TaqI polymorphism in the human interleukin-1 beta (IL-1β) gene correlates with IL-1 beta secretion in vitro. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 396–402.

Quadro 1 Estudos sobre o polimorfismo MBL2 em doenças imunologicamente mediadas de 1999 a 2008.

Referência	Doenças do sistema imunológico	População estudada	Resultados
Garred <i>et al.</i> 1999	LES	91 pacientes (83 mulheres e 8 homens) 250 controles	A frequência do alelo mutante "0" foi significativa nos pacientes portadores de LES (p= 0,01).
Villarreal <i>et al.</i> 2001	LES	125 pacientes e 138 controles	A frequência do alelo mutante "0" foi maior do que nos controles (p= 0, 007).
Jacobsen <i>et al.</i> .2001	Artrite Reumatoide	68 pacientes e 250 controles	O alelo mutante da MBL aumentou o risco de desenvolvimento da Artrite reumatóide (p= 0,02).
Ip <i>et al.</i> 2000	Artrite Reumatoide	211 pacientes e 196 controles saudáveis	Pacientes com AR apresentaram alta frequência da mutação (p= 0,027), comparada aos controles.
Tsutsumi <i>et al.</i> 2001	Síndrome de Sjögren e LES	266 pacientes e 129 controles	Genótipos homozigotos mutantes 0/0 da MBL aumentaram o risco de desenvolver LES (p=0,0431) e SS (p=0,0479).
Boniotto <i>et al.</i> 2002	Doença celíaca	117 pacientes italianos 130 controles	A frequência de homozigoto mutante 0/0 foi significativamente maior (p= 0,04) em pacientes com DC.
Boniotto <i>et al.</i> 2005	Doença celíaca	120 pacientes (92 mulheres, 28 homens) e 147 controles	A frequência de homozigoto mutante 0/0 foi significativamente maior em pacientes com DC do que nos controles (p=0,014)
Lee <i>et al.</i> 2005	LES	96 europeus (90 mulheres, 6 homens)	O alelo mutante "0" foi fator de risco para o aparecimento do lúpus eritematoso sistêmico (p= 0,001)
Messias-Reason <i>et al.</i> 2008	Pênfigo foliáceo	114 pacientes e 100 controles	Deficiência de MBL não esteve correlacionada com o aparecimento de PF (p= 0,32).

Tabela 1 Frequências dos tipos de apresentações clínicas.

Características	Controles	LP
Reticular (n)	—	36
Eritematoso (n)	—	02
Erosivo (n)	—	05
Bolhoso (n)	—	01
Placa (n)	—	01
Manifestações dermatológicas		
Presentes (n)	—	05
Ausentes (n)	—	40

Fonte: Amostras da UFMG.

Tabela 2 Distribuição da frequência genotípica da MBL-2 no grupo experimental e no grupo controle.

Frequência Genotípica	Grupos		OR	P value
	LPO	Controles		
A/A	25 (55.6%)	24 (53.3%)	49	1.254 $p^{(1)} = 0.546$
A/O	19 (42.2%)	16 (35.5%)	35	
O/O	1 (2.2%)	5 (11.2%)	6	
Total	45	45	90	

Fonte: Laboratório de Estomatologia da UFPE e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA

Legenda:

(1): utilizando o teste de Likelihood Ratio

OLP: Líquen Plano Oral;

OR: Odds Ratio;

A/A: Homozigoto dominante;

A/O: Heterozigoto;

O/O: Homozigoto Recessivo.

Tabela 3 Distribuição da frequência alélica da MBL-2 no grupo experimental e no grupo controle

Frequência Alélica	Grupos		Total	OR	IC (95%)	P value
	LPO	Controles				
A	69 (77.0%)	64 (71.2%)	133			
0	21 (23.0%)	26 (28.8%)	47	1,33	0,81-1,66	p ⁽¹⁾ =0,497
Total	90	90	180			

Fonte: Laboratório de Estomatologia da UFPE e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA

Legenda:

(1): Utilizando Teste Exato de Fisher

OLP: Líquen plano oral ;

OR: Odds Ratio;

CI: Intervalo de Confiança;

A: Alelo dominante;

0: Alelo recessivo

Figura 1

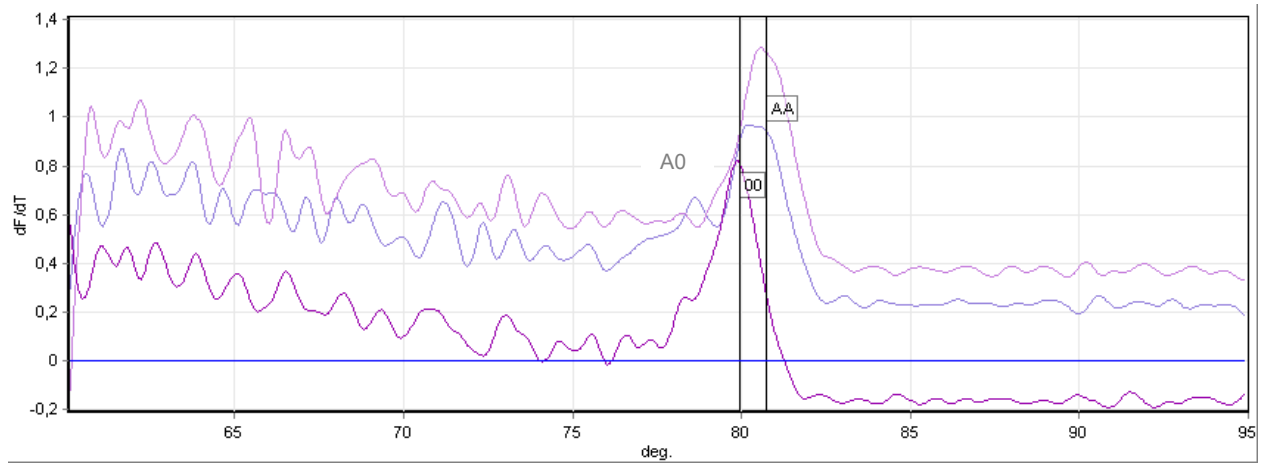


Figura 1 Curva de Melting do grupo experimental obtida pelo Rotor GeneTM RG 3000 (Uniscience-Cobert Research)

Legenda:

A/A: Homozigoto dominante; A/O: Heterozigoto; O/O: Homozigoto Recessivo

Figura 2

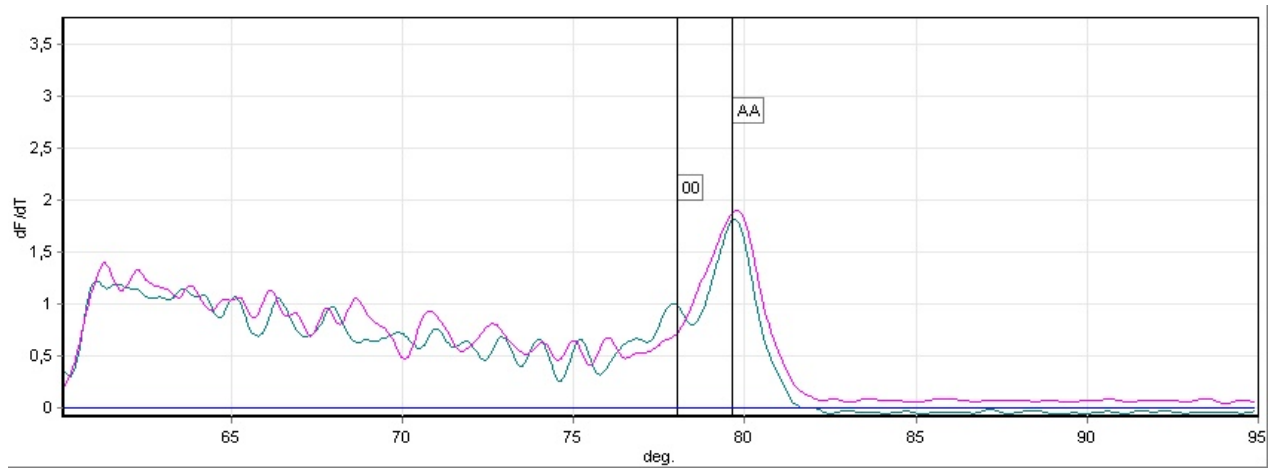


Figura 2 Curva de Melting do grupo controle obtida pelo Rotor GeneTM RG 3000 (Uniscience-Cobert Research)

Legenda:

A/A: Homozigoto dominante; 0/0: Homozigoto Recessivo

APÊNDICES



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DA PESQUISA: “Avaliação do polimorfismo da Lectina Ligadora de Manose (MBL-2) em pacientes portadores de líquen plano oral”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Andreza Barkokebas Santos de Faria

ORIENTADOR: Profº. Drº Jair Carneiro Leão.

OBJETIVO: Determinar o papel do polimorfismo MBL-2 na etiologia do líquen plano oral. A MBL trata-se de uma proteína envolvida na defesa do organismo humano e essa pesquisa está voltada para avaliar a associação desta com uma lesão da cavidade oral também envolvida com o sistema imunológico, o líquen plano oral.

METODOLOGIA: Pacientes serão questionados quanto à ocorrência e frequência de manifestações orais do líquen plano. Após os pacientes serem submetidos ao exame clínico, as amostras serão coletadas a partir da mucosa jugal bilateralmente com a utilização de escovas ginecológicas. O processamento do material coletado será realizado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

JUSTIFICATIVA: Através desse estudo poderemos ajudar a pesquisas futuras desenvolver novas terapêuticas com o uso da MBL, visando minimizar a susceptibilidade de pacientes a doenças imunologicamente mediadas.

BENEFÍCIOS: Os participantes receberão orientações de como diagnosticar e tratar manifestações orais LPO. Os pacientes serão submetidos a exame clínico minucioso, sendo avaliadas as condições de saúde bucal. Com o resultado destes exames será orientado de acordo com a necessidade de tratamento individual e encaminhado para as devidas clínicas especializadas.

RISCOS: O paciente submetido à pesquisa poderá correr o risco durante o exame clínico e sofrer constrangimentos durante a anamnese, porém a pesquisadora tentará minimizá-los.

Eu, _____, RG.Nº. _____

Abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo participar desta pesquisa, para o trabalho de mestrado citado acima a ser realizado na Pós-graduação da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, bem como autorizo toda a documentação necessária, a divulgação e a publicação da mesma, em periódicos científicos, na área de Odontologia.

Tendo ciência do exposto acima, desejo participar da pesquisa.

Recife, ____ de _____ de _____

Assinatura do paciente

Assinatura do Pesquisador

Assinatura da Testemunha 1

Assinatura da Testemunha 2

Contato para quaisquer esclarecimentos durante a pesquisa:

Profº. Jair Carneiro Leão

Av Prof. Moraes Rêgo nº 1235, Cidade Universitária. Programa de Pós-graduação em Odontologia
Departamento de Prótese da Universidade Federal de Pernambuco, 1º andar.

Tel: 21268817

Andreza Barkokebas

Rua Silvino Lopes nº 125, apt.1002, Casa Forte

Cel: 81-9149-2227

FICHA CLINICA

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Nome: _____

Gênero: () F () M Idade: _____ Data de Nasc.: ____/____/____ Naturalidade: _____

Nacionalidade: _____ Estado Civil: _____ Profissão: _____

Endereço: _____ Nº _____ Complemento: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Telefone: _____

HISTÓRIA PESSOAL

Está atualmente sob cuidados médicos? () sim () não Qual? _____

Faz uso de alguma medicação? () sim () não Qual? _____

HITÓRIA MÉDICA

Doença do coração, hipertensão, angina, febre reumática? () sim () não

Diabetes? () sim () não

Doença de pele? () sim () não

HÁBITOS

Faz uso de álcool?

É tabagista?

EXAME FÍSICO INTRA-ORAL

Lábios

língua

Mucosa jugal

Assoalho bucal

Palato

Gengiva

Recife, ____ de _____ de _____

Assinatura do paciente

ANEXOS





SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 275/2007 - CEP/CCS

Recife, 25 de Setembro de 2007

Registro do SISNEP FR - 149297

CAAE - 0250.1.172.000-07

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 251/07

Título: "Avaliação do polimorfismo da lectina ligadora de manose (MBL-2) em pacientes portadores de líquen plano oral"

Pesquisador Responsável: Andreza Barkokebas Santos de Faria

Senhora Pesquisadora:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 25 de Setembro de 2007.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório anual da pesquisa.

Atenciosamente

Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS/UFPE

José Angelo Rizzo
Vice - Coordenador do CEP/CCS/UFPE

A
Mestranda Andreza Barkokebas Santos de Faria
Mestrado em Clínica Integrada - CCS/UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami

CARTA DE ANUÊNCIA

Declaramos para os devidos fins, que concordamos em receber ANDREZA BARKOKEBAS SANTOS DE FARIA, mestranda de Odontologia-UFPE, facultando-lhe o uso das instalações dos setor de Virologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – (LIKA) – UFPE, a qual, sob orientação do Prof. Jair Carneiro Leão e co-orientação do Dr. Paulo Eleutério de Souza, desenvolverá o projeto de pesquisa intitulado “Avaliação do polimorfismo da lectina ligadora de manose (MBL-2) em pacientes portadores de líquen plano oral.” Ressaltamos que esta concordância está condicionada à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde.

Recife, 17 de julho de 2007.

Assinatura manuscrita em tinta azul do Prof. José Luiz de Lima Filho.

Prof. José Luiz de Lima Filho
Diretor do LIKA

Journal of Oral Pathology & Medicine

Official Publication of the International Association of Oral Pathologists, The American Academy of Oral & Maxillofacial Pathology, The British Society for Oral & Maxillofacial Pathology, the British Society for Oral Medicine and the Scandinavian Society of Oral Pathology & Oral Medicine

Edited by:

Erik Dabelsteen

Print ISSN: 0904-2512

Online ISSN: 1600-0714

Frequency: Ten times a year

Current Volume: 37 / 2008

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2007: 22/51 (Dentistry, Oral Surgery & Medicine); 36/66 (Pathology)

Impact Factor: 1.711

TopAuthor Guidelines

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

Relevant Documents: www.wiley.com/go/ctaaglobal

Useful Websites: [Submission Site](#), [Articles published in Journal of Oral Pathology & Medicine](#), [Author Services](#), [Blackwell Publishing's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

1. GENERAL

Journal of Oral Pathology & Medicine publishes manuscripts of high scientific quality representing original clinical, diagnostic or experimental work in oral pathology and oral medicine. Papers advancing the science or practice of these disciplines will be welcomed, especially those which bring new knowledge and observations from the application of techniques within the spheres of light and electron microscopy, tissue and organ culture, immunology, histochemistry, immunocytochemistry and molecular biology. Review papers on topical and relevant subjects will receive a high priority and articles requiring rapid publication because of their significance and timeliness will be included as brief reports not exceeding three printed pages. All submitted manuscripts falling within the overall scope of the Journal will be assessed by suitably qualified reviewers, but manuscripts in an incorrect format will be returned to the author without review.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Journal of Oral Pathology & Medicine*. Authors are encouraged to visit [Blackwell Publishing Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate.

2. ETHICAL GUIDELINES

Journal of Oral Pathology & Medicine adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work has not been published before, is not being considered for publication elsewhere and has been read and approved by all authors.

Journal of Oral Pathology & Medicine adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, and drafting the article or revising it critically for important intellectual content.

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

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

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

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

Journal of Oral Pathology & Medicine encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials-dev.iftma.org/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

2.4 Conflict of Interest

All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Please see Conflicts of Interest for generally accepted definitions on conflict of interest? Please enclose this information under the heading "Conflict of Interest Statement".

2.5 Appeal of Decision

Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by emailing the editor with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision.

2.6 Permissions

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

2.7 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Blackwell Publishing if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Authors will be required to sign a Copyright Transfer Agreement (CTA) for all papers accepted for publication. Signature of the CTA is a condition of publication and papers will not be passed for production unless a signed form has been received. Please note that signature of the Copyright Transfer Agreement does not affect ownership of copyright in the material. (Government employees need to complete the Author Warranty sections, although copyright in such cases does not need to be assigned). After submission authors will retain the right to publish their paper in various medium/circumstances (please see the form for further details). To assist authors, an appropriate form will be supplied by the editorial office. Alternatively, authors may like to download a copy of the form from www.wiley.com/go/ctaaglobal.

Authors must send the completed CTA upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the form at submission. Please post the completed form back to the Production Editor (contact details below).

TEO Chin Yin
Senior Production Editor

Journal Content Management Department
Wiley Services Singapore Pte Ltd
600 North Bridge Road, # 05-01
Parkview Square, Singapore 188778
t +65 6511 8242; f +65 6511 8288
email cyteo@wiley.com

For questions concerning copyright, please visit [Copyright FAQ](#).

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/jopm>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. For further instructions, please contact Editorial Assistant Anne-Marie Engel at ame@dadlnet.dk

3.1. Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/jopm>.
- Log-in or, if you are a new user, click on "register here".
- If you are registering as new user.
 - After clicking on "register here", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next."
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your areas of expertise. Click "Finish".
- If you are registered as user, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under "Password Help". The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select "Author Centre".

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your "Author Centre", submit your manuscript by clicking the submission link under "Author Resources".
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the "Next" button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the "Browse" button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the "Upload Files" button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the Journal. Click the "Submit" button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, acknowledgements and conflict of interest statement, tables, and figure legends, but *no* embedded figures. In the text, please reference figures as for instance "Figure 1", "Figure 2" etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Journal of Oral Pathology & Medicine* will be reviewed by two experts in the field. *Journal of Oral Pathology & Medicine* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer

Journal of Oral Pathology & Medicine attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, the name and current email address of a potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript is requested. Additionally, you may mention non-preferred reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

You can access Manuscript Central any time to check your "Author Centre" for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit a revised manuscript please locate your manuscript under "Manuscripts with Decisions" and click on "Submit a Revision". Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Research Articles: of high scientific quality representing original clinical, diagnostic or experimental work in oral pathology and oral medicine. Papers advancing the science or practice of these disciplines will be welcomed, especially those which bring new knowledge and observations from the application of techniques within the spheres of light and electron microscopy, tissue and organ culture, immunology, histochemistry, immunocytochemistry and molecular biology.

Review Papers: *Journal of Oral Pathology & Medicine* commissions review papers and also welcomes uninvited reviews. Reviews should be submitted via the online submission site: <http://mc.manuscriptcentral.com/jopm> and are subject to peer-review.

Case Reports: Please note that *Journal of Oral Pathology & Medicine* no longer accepts submission of case reports.

Brief Reports: Original research material requiring rapid publication because of their significance and timeliness will be included as Brief Reports. They should not exceed three pages.

Letters to the Editor: Letters, if of broad interest, are encouraged. Letters should not be confused with Brief Reports. Letters may deal with material in papers published in *Journal of Oral Pathology & Medicine* or they may raise new issues, but should have important implications.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 6 published pages (excluding figures and tables) are subject to a charge of USD163.00 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

5.2. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: Use only standard abbreviations (Vancouver System). All units will be metric. Use no roman numerals in the text. In decimals, a decimal point, and not a comma, will be used. Avoid abbreviations in the title. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text unless it is a standard unit of measurement. Useful is Baren DN, ed. Units, symbols, and abbreviations. A guide for biological and medical editors and authors. 4. ed. London: Royal Society of Medicine.

Font: When preparing your file, please use only standard fonts such as Times, Times New Roman or Arial for text, and Symbol font for Greek letters, to avoid inadvertent character substitutions. In particular, please do not use Japanese or other Asian fonts. Do not use automated or manual hyphenation.

5.3. Structure

All papers submitted to *Journal of Oral Pathology & Medicine* should include: title page, abstract, main text, references and

tables, figures, figure legends and conflict of interest statement where appropriate. Manuscripts must conform to the journal style. Manuscripts not complying with the journal format will be returned to the author(s).

Title Page: Should be part of the manuscript document uploaded for review and include: The title of the article, a running title of no more than 50 letters and spaces, 2-5 keywords, complete names and institution for each author, corresponding author's name, address, email address and fax number.

Abstract: is limited to 250 words in length and should contain no abbreviations. The abstract should be included in the manuscript document uploaded for review as well as inserted separately where specified in the submission process. The abstract should convey the essential purpose and message of the paper in an abbreviated form. For original articles the abstract should be structured with the following headings in accordance with Index Medicus (Medical Subject Headings): background, methods, results and conclusions. For other article types, please choose headings appropriate for the article.

Main Text of Original Articles: should be divided into introduction, material and methods, results and discussion.

Introduction: should clearly state the purpose of the article. Give only strictly pertinent references. Exhaustive literature reviews are inappropriate.

Materials and Methods: must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This may for example include antibodies etc. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

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

Journal of Oral Pathology & Medicine encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials-dev.ifpma.org/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper. .

(ii) Experimental subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

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

(iii) Suppliers: Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

Results: Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Do not repeat in the text all the data in the tables, illustrations, or both: emphasize or summarize only important observations.

Discussion: Emphasize the new and important aspects of the study and conclusions that follow from them. Do not repeat in detail data given in the Results section. Include in the Discussion the implications of the findings and their limitations and relate the observations to other relevant studies.

Main Text of Review Articles comprise an introduction and a running text structured in a suitable way according to the subject treated. A final section with conclusions may be added.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledge only persons who have made substantive contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions. See also above under Ethical Guidelines.

Conflict of Interest Statement: All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Please see Conflicts of Interest for generally accepted definitions on conflict of interest? See also above under Ethical Guidelines.

5.4. References

References should be kept to the pertinent minimum and numbered consecutively in the order in which they appear in the

text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals (in parentheses). References cited only in the tables or figure legends should be numbered in accordance with a sequence established by the first identification of that figure or table in the text. Use the style of the examples below, which are based on the formats used in Index Medicus. Try to avoid using abstracts as references. Include manuscripts accepted, but not published; designate the abbreviated title of the journal followed by (in press). Information from manuscripts not yet accepted, should be cited in the text as personal communication. The references must be verified by the author(s) against the original documents. Titles should be abbreviated in accordance with the style used in Index Medicus and the Vancouver System.

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

Examples of the Journal's reference style:

(1) Standard journal article

(List all authors when 6 or less; when 7 or more, list only the first 3 and add et al.)

BUCHNER A, SCIUBBA JJ. Peripheral epithelial odontogenic tumors: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1987; 63: 688-97.

HEINIC GS, GREENSPAN D, MACPHAIL LA, et al. Oral Histoplasma capsulatum infection in association with HIV infection: a case report. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 85-9.

(2) Corporate author

European Collaborative Study. Risk factors for mother-to-child transmission of HIV-1. *Lancet* 1992; 339: 1007-12.

(3) No author given

Anonymous. 'The importance of being early' [leader]. *Br Dent J* 1991; 170: 167.

(4) Journal supplement

MØLLER-PETERSEN J. Evaluation of diagnostic tests. Design and phases. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: suppl. (208): 35-50.

CROSS SS, SCHOLFIELD JH, KENNEDY A, COTTON DWK. Measuring the fractal dimension of tumour borders. *J Pathol* 1992; 168: 117A (abstr).

(5) Journal paginated by issue

HILLAM C. Dentistry in Europe in the 1790's. *Dent Historian* 1992; 22: (May): 31-4.

(6) Book

PINDBORG JJ. Atlas of diseases of the oral mucosa. Copenhagen: Munksgaard, 1992: 50-66.

(7) Chapter in a book

VAN DER WAAL I. Salivary gland neoplasms. In: PRABHU SR, WILSON DF, DAFTARY DK, JOHNSON NW, eds. *Oral diseases in the tropics*. Oxford: Oxford Medical, 1992; 478-86.

(8) Published proceedings paper

DRINNAN AJ. Review of the literature: educational aspects of oral medicine. In: MILLARD HD, MASON DK, eds. *World workshop on oral medicine*. Chicago: Year Book Medical, 1989; 5-11.

(9) Agency publication

MUIR C, WATERHOUSE J, MACK T, POWELL J, WHELAN S. Cancer incidence in five continents: Vol. 5. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1987; IARC Scientific Publications No. 88.

(10) Dissertation or thesis

CHUNG PANICH S. The diagnostic and prognostic potential of nucleolar organizer regions in oral epithelial dysplasia. MMedSci Thesis, University of Sheffield, 1989.

5.5. Tables, Figures and Figure Legends

Tables: should be numbered consecutively with Arabic numerals. Type each table on a separate sheet, with titles making them self-explanatory. Due regard should be given to the proportions of the printed page.

Figures: All figures should clarify the text and their number be kept to a minimum. Text on figures should be in CAPITALS. Line drawings should be professionally drawn; half-tones should exhibit high contrast.

All figures and artwork must be provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS) and bitmap files (e.g. half-tones) or clinical or in vitro pictures in Tagged Image Format (TIFF). Detailed information on our digital illustration standards can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected

Figures divided into parts should be labeled with a lower-case, boldface, roman letter, 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 the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and unit, and follow SI nomenclature common to a particular field. Unusual units and abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc).

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible).

For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures:
www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp.

Check your electronic artwork before submitting it: www.blackwellpublishing.com/bauthor/eachecklist.asp

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

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

5.6. Supporting Information

Supporting Information, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted.

It should be clearly stated at the time of submission that the Supporting Information is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the Supporting Information is such that it cannot be accommodated on the journal's Web site, the author agrees to make the Supporting Information available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's Web site. The author must advise Blackwell Publishing if the URL of the Web site where the Supporting Information is located changes. The content of the Supporting Information must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of Supporting Information should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed "Supporting Information" and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The Supporting Information is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

6. AFTER ACCEPTANCE

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

6.1 Proof Corrections

Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file. The e-mail server must be able to accept attachments up to 4 MB in size. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html.

This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs.

Proofs of the paper should be corrected, signed and returned without delay. Please ensure that you can be contacted during this time. As changes to proofs are costly, we ask you to only correct typesetting errors. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

6.2 Early Online Publication Prior to Print

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

6.3 Online Production Tracking

Online production tracking is available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit www.blackwellpublishing.com/bauthor for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: [Offprint Cosprinters](#) If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

6.6 Author Services

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Blackwell Publishing Author Services](#).