



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**GRISIELLE MARY FERREIRA DE SÁ CAVALCANTE**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE FENÓTIPOS DE FRÊNULOS ORAIS, CONTRATURAS  
CONGÊNITAS E DISFAGIA EM CRIANÇAS COM SÍNDROME CONGÊNITA DO  
ZIKA VÍRUS**

**FORTALEZA**

**2022**

GRISIELLE MARY FERREIRA DE SÁ CAVALCANTE

ASSOCIAÇÃO ENTRE FENÓTIPOS DE FRÊNULOS ORAIS, CONTRATURAS  
CONGÊNITAS E DISFAGIA EM CRIANÇAS COM SÍNDROME CONGÊNITA DO ZIKA  
VÍRUS

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- C364a Cavalcante, Grisielle.  
Associação entre fenótipos de frênuos orais, contraturas congênitas e disfagia em crianças com síndrome congênita do Zika vírus / Grisielle Cavalcante. – 2022.  
61 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles.
1. Freio Lingual. 2. Freio Labial. 3. Infecção por Zika vírus. 4. Contraturas. 5. Transtornos de Deglutição. I. Título.

CDD 617.6

---

GRISIELLE MARY FERREIRA DE SÁ CAVALCANTE

ASSOCIAÇÃO ENTRE FENÓTIPOS DE FRÊNULOS ORAIS, CONTRATURAS  
CONGÊNITAS E DISFAGIA EM CRIANÇAS COM SÍNDROME CONGÊNITA DO ZIKA  
VÍRUS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: 31/05/2022

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup> Dra. Erlane Marques Ribeiro  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)/ Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS)

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, ao meu esposo e aos meus filhos, pessoas que tanto amo. Dedico também à minha orientadora, sem a qual não teria conseguido concluir esta árdua tarefa.

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus por ter me revelado que a vida é uma verdadeira graça adquirida, inspirando-me e estando ao meu lado em todos os momentos.

A esta instituição e ao corpo docente, que dividiram comigo seus preciosos conhecimentos.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

Aos estimados professores, que aceitaram participar da banca examinadora e corrigir este trabalho.

Aos meus colegas de equipe, pelos quatro anos de dificuldades, inseguranças, erros, acertos, vitórias e alegrias.

Às minhas amigas queridas, Dra. Bianca Palhano Toscano Leite, Dra. Renata Torreão Viana de Melo Costa e Dra. Gabriela Almeida Figueredo, pois quem tem um amigo fiel encontra um tesouro.

Aos amigos Pedro Henrique Moreira Lima, Mateus Ramos Plutarco Lima e Prof. Dr. Ricardo de Sousa Martins, que fizeram parte de tão valorosa equipe, estando sempre disponíveis e solícitos.

Ao amigo Francisco César Monteiro Chaves Filho que dividiu grande parte da execução deste trabalho comigo, sendo fundamental para a concretização e conquista deste título.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles, que possibilitou a realização desse trabalho, potencializando minhas qualidades e compreendendo as minhas limitações. Sempre me espelharei no seu empenho e jamais esquecerei das lições que me ensinou durante toda a pós-graduação.

Aos meus avós José Dete (*in memorian*), Maria José (*in memorian*), Francisco Ibiapino (*in memorian*) e Francisca Edite (*in memorian*) que, por mais que não tenham acompanhado esta jornada de perto, contribuíram de maneira insubstituível para a pessoa que eu sou e, desta maneira, trouxeram-me até aqui.

Aos meus queridos pais Odécio e Marylene, pelo amor e apoio incondicional, por terem regado minha vida com tanto apoio, carinho, proteção, amor e cuidado para que eu pudesse florescer e encarar o mundo. Sem dúvidas, é uma longa jornada de esforços mútuos, muita superação, obstáculos e vitórias.

Aos meus estimados sogros Sá Júnior e Lúcia Isabel, que sempre se alegraram com minhas conquistas.

Aos meus queridos irmãos William e Thiago, que sempre torceram por mim e se alegraram com as minhas alegrias.

Ao meu amado esposo Daniel, por compreender minhas ausências e incentivar essa trajetória, buscando sempre fazer eu enxergar as potencialidades que existem em mim.

À minha amada primogênita Sarah, que sempre acreditou em mim, torcendo e vibrando desde o processo de seleção até a obtenção do título, fazendo com que eu me sentisse alguém capaz de ultrapassar todas as barreiras.

Aos meus amados filhos João, Amanda e Rafael, que não têm noção do que significa o título de mestre, mas que, sem saberem, com seus abraços, deram-me forças para ir até o fim.

A todos os pacientes que atendi na Clínica de Odontopediatria da UFC, por toda a confiança depositada em mim.

Aos pacientes com síndrome congênita do Zika vírus, nunca duvidem que vocês possuem a força necessária para ultrapassar qualquer dificuldade.

A todos que fazem parte direta ou indiretamente da minha vida profissional, meus mais sinceros sentimentos de gratidão, e que enormes sejam as bênçãos do Senhor Deus em suas vidas.

“Tudo passa, só Deus não muda; quem a Deus tem, nada lhe falta: só Deus basta.” (Santa Tereza D’Ávila)

## RESUMO

Em meados de 2015, a infecção pelo vírus Zika durante o período pré-natal foi associada a desfechos desfavoráveis, como microcefalia e outras anomalias cerebrais graves. A infecção por esse vírus se tornou preocupante, ganhando atenção internacional, devido a um aparente aumento de 20 vezes na incidência de microcefalia durante o surto dessa doença no Brasil. Estudos posteriores concluíram que o fenótipo apresentado envolvia não apenas a microcefalia, mas constituía um novo padrão de defeitos congênitos chamado síndrome congênita do Zika (SCZ). Previamente, estudo transversal demonstrou que indivíduos afetados pela SCZ apresentam uma maior prevalência de frênulo lingual posicionado posteriormente ou submucoso. Entretanto, a presente dissertação objetivou avaliar frênuos orais de crianças portadoras de SCZ e possíveis associações existentes entre alterações neurológicas e os fenótipos de frênuos orais observados nessa população. O presente trabalho dispõe de um delineamento longitudinal, fazendo parte de um projeto de coorte multidisciplinar mais amplo. A amostra final do estudo foi composta por 63 crianças com diagnóstico de SCZ, na faixa etária de 1 a 20 meses, de ambos os sexos. A coleta de dados foi realizada em quatro momentos distintos, distribuídos em um período de 30 meses. Trinta e uma crianças saudáveis, na mesma faixa etária e de ambos os sexos, compuseram o grupo controle. Os bebês passaram por avaliações clínicas e neurológicas completas feitas por uma equipe multidisciplinar. Em seguida, a coleta de dados incluiu avaliações anatômicas intraorais, realizadas por um odontopediatra. O frênulo lingual foi avaliado observando-se os seguintes aspectos: visibilidade, espessura e nível de fixação. Os frênuos labiais foram examinados através do afastamento dos lábios superior e inferior, seguido de pressão bidigital. Foram utilizados os protocolos de Coryllos et al. (2004) e Kotlow (2013) para a classificação dos frênuos lingual e labiais respectivamente. As associações entre variáveis categóricas, como disfagia (presença/ausência), contraturas congênitas (presença/ausência), tipo de frênulo lingual, tipo de frênulo labial superior e tipo de frênulo labial inferior, foram testadas pelos testes do quadrado e exato de Fisher. O nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ . Uma quantidade significativa de crianças com SCZ possui o frênulo labial superior inserido na região da papila, estendendo-se até a região do palato ( $p = 0,0008$ ), e há uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a ausência de contraturas congênitas ( $p = 0,0435$ ). Crianças com SCZ apresentaram frênuos labiais inferiores frequentemente inseridos em V ( $p = 0,001$ ), tendo sido observada uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a presença de disfagia ( $p = 0,0278$ ). O presente estudo ampliou a compreensão acerca dos fenótipos mais prevalentes de frênuos orais em crianças afetadas pela SCZ e demonstra a existência de associação entre padrão fenotípico de frênuos orais e alterações neurológicas observadas na referida síndrome. Esses achados poderão auxiliar na previsão das manifestações neurológicas da SCZ e indicam a necessidade de avaliação de um maior número de pacientes afetados para que se possa estabelecer protocolos e previsão de risco do surgimento de tais alterações neurológicas com base nos frênuos orais.

**Palavras-chaves:** Freio Lingual; Freio Labial; Infecção por Zika vírus; Contraturas; Transtornos de Deglutição.

## ABSTRACT

Around 2015, Zika virus infection during the prenatal period was associated with poor outcomes such as microcephaly and other serious brain abnormalities. Infection by this virus has become a concern, gaining international attention, due to an apparent 20-fold increase in the incidence of microcephaly during an outbreak of this disease in Brazil. Later studies concluded that the phenotype presented not only involved microcephaly, but constituted a new pattern of birth defects, called congenital Zika syndrome (CZS). Previously, a cross-sectional study showed that individuals affected by CZS have a higher prevalence of posteriorly positioned or submucosal lingual frenulum. However, the present dissertation aimed to evaluate the oral frenulum of children with CZS and to evaluate possible associations between neurological alterations and the oral frenulum phenotypes observed in this population. The present work has a longitudinal design, as part of a broader multidisciplinary cohort project. The final study sample consisted of 63 children diagnosed with CZS, aged between 1 and 20 months of both sexes. Data collection was carried out at four different times, spread over a period of 30 months. Thirty-one healthy children, in the same age group, of both sexes made up the control group. The babies underwent thorough clinical and neurological evaluations by a multidisciplinary team. Then, data collection included intraoral anatomical assessments performed by a pediatric dentist. The lingual frenulum was evaluated observing the following aspects: visibility, thickness, and level of fixation. The labial frenulum was examined by moving the upper and lower lips apart, followed by bidigital pressure. The protocols of Coryllos et al. (2004) and Kotlow (2013) for the classification of lingual and labial frenulum respectively. The association between categorical variables such as dysphagia (presence/absence), congenital contractures (presence/absence), type of lingual frenulum, type of upper labial frenulum, type of lower labial frenulum were tested by chi-square and Fisher's exact tests. The significance level was set at  $p < 0.05$ . A significant number of children with CZS have the superior labial frenulum inserted into the papilla region extending to the palate region ( $p = 0.0008$ ) and a significant association between this type of frenulum and the absence of congenital contracture ( $p = 0.0435$ ). Children with CZS had lower labial frenulum frequently inserted in a V ( $p = 0.001$ ), and a significant association was observed between this type of frenulum and the presence of dysphagia ( $p = 0.0278$ ). The present study expanded the understanding of the most prevalent phenotypes of oral frenulum in children affected by CZS and demonstrates the existence of an association between the phenotypic pattern of oral frenulum and neurological alterations observed in that syndrome. These findings may help to predict the neurological manifestations of CZS and indicate the need to evaluate a greater number of affected patients to establish protocols and predict the risk of the emergence of such neurological alterations based on the oral frenulum.

**Key words:** Lingual Frenum; Labial Frenum; Zika Virus Infection; Contractures; Deglutition Disorders.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>08</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>09</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Frênulos orais .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2 Classificação dos frênulos orais .....</b>	<b>11</b>
<b>1.3 Frênulos labiais .....</b>	<b>14</b>
<b>1.4 Frênulo lingual .....</b>	<b>15</b>
<b>1.5 Síndrome congênita do Zika vírus .....</b>	<b>17</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Objetivo geral .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>22</b>
<b>3 CAPÍTULOS .....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Capítulo 1 .....</b>	<b>24</b>
<i>Associação entre fenótipos de frênulos orais, contraturas congênicas e disfagia em crianças com síndrome congênita do Zika vírus .....</i>	<i>24</i>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>39</b>
<b>ANEXO 1 – DECLARAÇÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>ANEXO 2 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXO 3 – INSTRUÇÕES PARA AUTORES DO PERIÓDICO INTERNATIONAL JOURNAL OF PAEDIATRIC DENTISTRY .....</b>	<b>48</b>

## **1 INTRODUÇÃO GERAL**

### **1.1 Frênulos orais**

Frênulos orais são, no sentido amplo da palavra, tecidos que conectam diferentes estruturas anatômicas orais. Apesar da simplicidade anatômica e do tamanho frequentemente reduzido dessas estruturas, do ponto de vista funcional, conferem estabilidade e limitação de movimento das estruturas conectadas. Portanto, alterações anatômicas que venham a proporcionar uma limitação exacerbada ou deficiente de movimento podem potencialmente interferir em funções como sucção, deglutição e fala, podendo ainda interferirem no processo de crescimento e desenvolvimento na infância, impactando na qualidade de vida. Alterações fenotípicas dos frênulos orais em pacientes portadores de anomalias craniofaciais têm sido pouco descritas na literatura, embora saiba-se da associação entre alterações de tais estruturas e dificuldade de amamentação, dificuldade de ganho de peso na infância, possibilidade de alterações na fala, alterações de erupção dentária e alterações de crescimento dos arcos em bebês e crianças saudáveis (DASGUPTA et al., 2017; KOTLOW, 2013; MARTINELLI, MARCHESAN & BERRETIN-FELIX, 2012).

### **1.2 Classificação dos frênulos orais**

A classificação dos frênulos orais, como qualquer classificação biológica, tem por objetivo principal prever o tipo e extensão das alterações anatômicas com o intuito de auxiliar na decisão terapêutica, evitar diagnóstico incorreto e erros de planejamento do tratamento. A fim de buscar sanar controvérsias, estudos foram realizados com propostas de avaliação dos frênulos orais, diferindo em suas metodologias, porém nenhum é universalmente utilizado.

Para o frênulo lingual, podemos citar como exemplo a ferramenta de avaliação de Hazelbaker, desenvolvida para fornecer uma avaliação quantitativa da anquiloglossia, incluindo cinco itens de aparência, como comprimento, local de fixação e elasticidade, além de sete itens funcionais, como extensão, extensão, escavação e peristaltismo da língua (HAZELBAKER, 2010), no entanto, esta ferramenta não é amplamente utilizada, pois o processo de pontuação é longo e complexo (PRADHAN; YASMIN & SHAH, 2013).

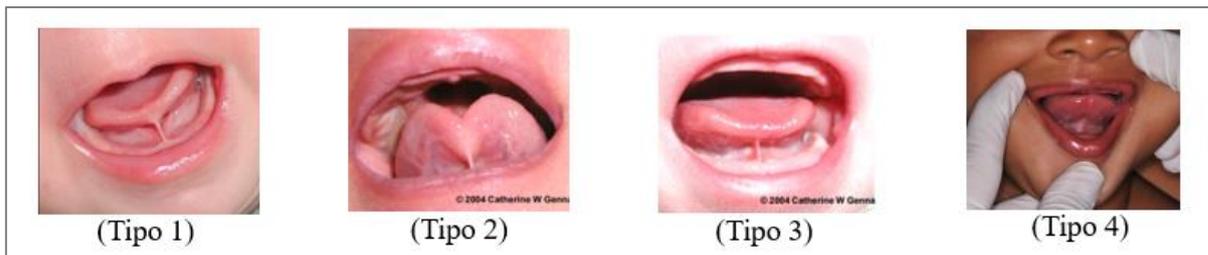
Em 2012, Martinelli et al. propuseram um protocolo baseado na revisão de literatura considerando as variações anatômicas do frênulo lingual, bem como as funções de sucção e

deglutição, cujos resultados trouxeram grandes avanços para o diagnóstico da interferência do frênulo nos movimentos da língua durante a amamentação. Um desses avanços foi a implantação da lei nº 13.002 de 20 de junho de 2014, que obriga a realização do “teste da linguinha” durante a triagem neonatal. O protocolo de Martinelli et. al é frequentemente citado e utilizado nos estudos, principalmente no Brasil, porém o próprio grupo que criou este sistema classificatório admite que este se mostrou muito complexo e longo, indicando necessidade de adequações para se tornar um instrumento rápido e de fácil aplicação (MARTINELLI et al., 2012; MARTINELLI et al., 2015).

Desde 2018 (nota técnica no 35/2018), o Ministério da Saúde orienta que os profissionais que integram a rede de assistência à saúde e de unidades de saúde das universidades devem ser qualificados na avaliação do frênulo lingual utilizando o Protocolo BTAT (Bristol Tongue Assessment Tool), proposto por Ingram et al. (2015), uma vez que esse protocolo abrange praticidade de aplicação, validação envolvendo profissionais não especialistas em disfunções orofaciais e capacidade de predição de problemas na amamentação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). O protocolo de Ingram et al. (2015) foi comparado com outro instrumento que não foi totalmente validado, não podendo ser considerado padrão ouro (MARTINELLI et al., 2012; MARTINELLI et al., 2015).

A classificação de Coryllos correlaciona a função com a aparência e classifica o frênulo lingual em quatro diferentes tipos, com base na proximidade da borda superior do frênulo (porção do frênulo aderido ao ventre lingual), da ponta da língua. Desta forma, os autores descrevem como tipo 1: frênulo preso superiormente à ponta da língua e inferiormente adiante da crista alveolar; tipo 2: frênulo superiormente de dois a quatro mm atrás da ponta da língua, e inferiormente se prende sobre ou logo atrás da crista alveolar; tipo 3: o frênulo se prende superiormente na porção média do ventre da língua, prendendo-se inferiormente ao assoalho da boca, frequentemente apresentando-se mais denso e menos elástico; tipo 4: frênulo encontra-se posicionado superiormente de encontro à base da língua, com aparência espessa, brilhante e inelástica. Os tipos 3 e 4 são menos comumente observados e, como são mais difíceis de visualizar, são os mais propensos a não serem tratados. O tipo 4 é o mais provável de causar dificuldade com o manuseio e a deglutição do bolo alimentar (CORYLLOS, GENNA & SALLOUM, 2004). A Figura 1 ilustra os quatro tipos da classificação proposta por Coryllos:

Figura 1 – Classificação de Coryllos

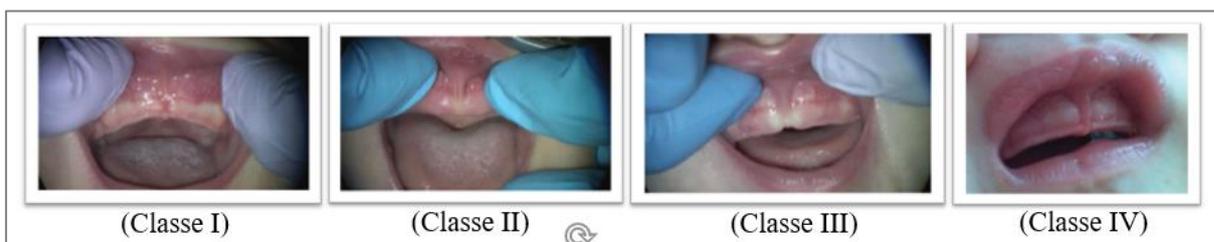


Fonte: MEHANNA, K. 2022; GENNA, C., 2004; acervo da Dra. Cristiane Fonteles.

Para a classificação dos frênuos labiais, pode-se citar a tipologia de Sewerin que descreve oito diferentes tipos de variações do frênulo maxilar: simples, tectolabial persistente, simples com apêndice, simples com nódulo, freio duplo, freio com nicho, frênulo bífido e frênulo com duas ou mais variações de cada vez (SEWERIN, 1971). Há também a classificação de Mirko et al., que classifica os frênuos labiais com base na inserção, dividindo-os em quatro tipos: mucoso, gengival, papilar e papilar penetrante (MIRKO et al., 1974). Os sistemas classificatórios de Sewerin e Mirko complementam-se, uma vez que o primeiro fica restrito apenas à aparência e o segundo ao nível de inserção.

Mais recentemente, Kotlow (2013) definiu e identificou as restrições de mobilidade do frênulo labial, discutindo os prejuízos que poderiam trazer à amamentação, estabelecendo quatro classes de frênuos labiais, tendo como base os pontos de inserção do frênulo no lábio e no tecido gengival. O frênulo labial classe I encontra-se preso à margem gengival; classe II diz respeito ao frênulo preso à junção entre a gengiva marginal livre e inserida; classe III refere-se ao frênulo preso à papila e, por fim, entende-se por classe IV o frênulo preso à papila, estendendo-se até o palato duro (FIGURA 2).

Figura 2 – Classificação de Kotlow



Fonte: Kotlow, 2013.

### 1.3 Frênulos labiais

Frênulos labiais podem ser definidos como uma faixa fibrosa de tecido preso ao osso da mandíbula ou maxilas, sendo anatomicamente compostos por fibras musculares originadas a partir do músculo *orbicularis oris*, revestidas por membrana mucosa, e frequentemente visualizadas como discretas pregas teciduais que conectam os lábios superior ou inferior ao periósteo subjacente (DASGUPTA et al., 2017; PRIYANKA et al., 2013). No bebê edêntulo, o frênulo labial superior muitas vezes estende-se sobre o processo alveolar, alcançando a papila palatina. O processo de crescimento dos tecidos orais e posterior erupção dentária gera o reposicionamento aparente do frênulo para uma posição mais superior, secundária ao crescimento do processo alveolar por meio de aposição óssea (HUANG & CREATH, 1995). A avaliação intraoral permite sua visualização a partir da face interna dos lábios que se conecta ao vestibulo da boca e arcos dentais, possuindo revestimento mucoso, acompanhando o formato do fundo de saco, onde nota-se uma prega mucosa mediana que constitui o frênulo labial propriamente dito (ORÍÁ & BRITO, 2016).

O frênulo labial inicia seu período formativo durante a vida embrionária, por volta da décima semana de gestação, e no terceiro mês de vida intrauterina o freio labial do feto já é morfológicamente semelhante ao da vida pós-natal, estendendo-se como uma faixa contínua de tecido do tubérculo (protuberância) no lado interno do lábio, sobre e através da crista alveolar para ser inserido na papila palatina, podendo exibir variações e anomalias, assim como todas as outras partes do corpo (HUANG & CREATH, 1995; DASGUPTA et al., 2017).

Frênulos labiais alterados podem desencadear diversos problemas orais. Os mais conhecidos relacionam-se a alterações dos frênulos labiais superiores, causando problemas como restrição dos movimentos dos lábios, estética desfavorável, alterações da fala, complicações na terapia ortodôntica, retenção inadequada de próteses, perda de papila, recessão gengival e distensão do sulco gengival, tornando-se um sítio de acúmulo de biofilme, podendo gerar problemas periodontais (EWEN, 1968; GOLDMAN & COHEN, 1983; DASGUPTA et al., 2017) e dificuldades na amamentação, uma vez que o frênulo labial superior alterado impede o lábio de se dobrar adequadamente para cima durante a amamentação, impedindo o bebê de manter uma pega e uma vedação eficazes na mama, podendo desenvolver mamilos doloridos, dutos bloqueados e sinais de baixo suprimento de leite (KOTLOW, 2013). As alterações observadas nos frênulos labiais inferiores são pouco descritas na literatura, mas podem ser

atribuídas, direta ou indiretamente, à retração gengival na região dos incisivos inferiores (GOLDMAN & COHEN, 1983).

Embora não exista na literatura um sistema classificatório perfeito, aqueles que correlacionam a forma com a função parecem atingir melhor o objetivo principal, dado que propiciam uma condução mais completa diante da situação clínica. Diante disso, a escala de classificação de Kotlow, que propõe que quanto maior o escore, maior a severidade da restrição do frênulo e, conseqüentemente, maior a associação com problemas de função, pode ser considerada uma ferramenta adequada na classificação de frênulos labiais (KOTLOW, 2013).

#### **1.4 Frênulo lingual**

O frênulo lingual é comumente descrito como uma discreta prega de tecido conjuntivo. No entanto, essa compreensão simplificada da estrutura do frênulo lingual foi recentemente descreditada, quando dois estudos usando microdissecção de cadáveres de tecido fresco demonstraram que o frênulo lingual é formado também por uma camada de fáscia que se estende por todo o assoalho da boca (MILLS et al., 2019; MILLS et al., 2019).

Durante o desenvolvimento embrionário, por volta do 28º dia após a fertilização, um conjunto de células específicas, chamadas células da crista neural, delaminam e migram para regiões diferentes no embrião, sendo capazes de se diferenciar em outros tecidos, como em tecido cartilaginoso, ósseo e conjuntivo. Subseqüentemente, entre a quarta e a sétima semana de desenvolvimento embrionário, a cavidade oral se desenvolve, iniciando o período formativo dos primórdios embrionários do que se tornará a língua (GROSS & HANKEN, 2008; YOUMANS & WINN, 2011; SMITH & SCHOENWOLF, 1997; HUANG & SAINT-JEANNET, 2004). Tal como acontece com muitos processos no desenvolvimento embriológico, a separação ocorre por uma combinação de crescimento do tecido e morte celular morfológica programada, chamada apoptose, fazendo com que a língua se separe do assoalho, permanecendo presa apenas pelo frênulo, que lhe confere mobilidade necessária e fixação adequada, de acordo com a programação genética individualizada de cada embrião, justificando a grande variação anatômica encontrada nas alterações de frênulo lingual (KNOX, 2010). Ghaheri et al. (2017) afirmaram que o frênulo lingual pode ser caracterizado como normal, alterado ou ausente, dependendo dos critérios de avaliação utilizados pelo avaliador. Porém, três anos antes, Haham et al. (2014) relataram apenas um frênulo lingual ausente entre 200

bebês saudáveis, mostrando que um frênulo lingual verdadeiramente ausente é um achado muito raro.

O frênulo lingual curto, ou sua ausência, caracteriza a anquiloglossia, que seria a fusão completa ou parcial da língua com o assoalho da boca, sendo também caracterizada por movimentos linguais limitados, podendo levar a uma variedade de problemas, tais como dificuldades na alimentação, impedimentos da fala, problemas de desenvolvimento oral, má higiene oral, constrangimentos sociais e problemas na amamentação (CORYLLOS, GENNA & SALLOUM, 2004; ARAÚJO et al., 2020; SINGH & KENT, 2000). O aleitamento materno requer peristaltismo bem definido da frente para a parte de trás da língua, bem como da sincronização língua-palato e uma trava adequada para que a transferência de leite seja eficaz, do contrário, podem ser observados sinais de coordenação imperfeita (sons ao deglutir, aumento do congestionamento nasal, diminuição da taxa de respiração durante a sucção), podendo trazer problemas como fadiga e irritabilidade no bebê, dor e erosão da pele do mamilo da mãe, contribuindo para uma amamentação ineficiente e, conseqüentemente, trazendo dificuldades de ganho de peso ao bebê (CORYLLOS, GENNA & SALLOUM, 2004).

Embora o frênulo lingual tenha relevância clínica significativa devido ao seu potencial de restringir a mobilidade da língua, sua estrutura ainda é pouco compreendida. Contudo, apesar de consenso no que tange a descrição anatômica dessas alterações, há controvérsia considerável entre os profissionais de saúde quanto ao melhor sistema classificatório a ser adotado, impactando na classificação dessas estruturas e indicação ou não de correção cirúrgica, trazendo insegurança aos pacientes e pais ao ouvirem de diferentes profissionais de saúde opiniões variadas (MARCHESAN, 2005; HALL & RENFREW, 2006; SANDERS & MU, 2013). Diante disso, a classificação de Coryllos (CORYLLOS, GENNA & SALLOUM, 2004) foi desenvolvida para mostrar que os frênuos restritivos não se estendem necessariamente à ponta da língua, visto que a aparência deve sempre ser correlacionada com a função para ser significativa, sendo frequentemente usada nos estudos (BAEZA et al, 2017).

Uma ampla variação anatômica do frênulo lingual foi relatada em crianças saudáveis e síndromicas, tais como síndrome de Ehlers-Danlos, síndrome de Ellis-Van Creveld, estenose pilórica hipertrófica infantil, síndrome orofaciodigital, holoprosencefalia e síndrome de Moebius (LIMA; DINIZ & SANTOS-PINTO, 2009; MINTZ, SIEGEL & SEIDER, 2005; GHADERI et al., 2017). Mais recentemente, frênuos linguais alterados foram encontrados em indivíduos acometidos pela síndrome congênita do Zika vírus (DEL CAMPO et al., 2017; CARVALHO et al., 2019; FONTELES et al., 2018).

### 1.5 Síndrome congênita do Zika vírus

O vírus Zika foi isolado pela primeira vez em 1947 na floresta de Zika, em Uganda. Desde então, permaneceu principalmente na África, com surtos pequenos e esporádicos na Ásia. Em maio de 2015, as autoridades de saúde pública do Brasil confirmaram a transmissão do vírus Zika no Nordeste do país e, desde outubro daquele ano, outros países e territórios das Américas relataram a presença do vírus, que é transmitido principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti*, causando geralmente sintomas leves como febre, erupção cutânea, conjuntivite, dores musculares e articulares, mal-estar ou dor de cabeça (TALERO-GUTIERREZ et al., 2018; PLOURDE & BLOCH, 2016; MUSSO & GUBLER, 2016). Além da transmissão pelo mosquito, outras formas não vetoriais de transmissão do vírus Zika incluem da mãe para feto durante a gravidez (transmissão vertical), transmissão interpessoal durante o contato sexual e transmissão por transfusão de sangue. O vírus Zika já foi detectado na saliva, urina e leite materno, entretanto a transmissão por meio desses fluidos corporais ainda não foi evidenciada. Atualmente, não há vacinas ou terapias específicas viáveis disponíveis, portanto, o controle do vetor é o principal método para a prevenção e controle da doença, seja pelo manejo integrado de vetores, pela eliminação dos criadouros, ou pela medidas de proteção individual para evitar picadas de mosquitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A infecção pelo vírus Zika está associada a complicações da gravidez, incluindo parto prematuro e aborto espontâneo, podendo fazer com que bebês nasçam com microcefalia e outras malformações congênitas, conhecidas como síndrome congênita do Zika vírus (SCZ) (FIGURA 3). Um risco aumentado de complicações neurológicas está associado à infecção pelo vírus Zika em adultos e crianças, incluindo a síndrome de Guillain-Barré, neuropatia e mielite.

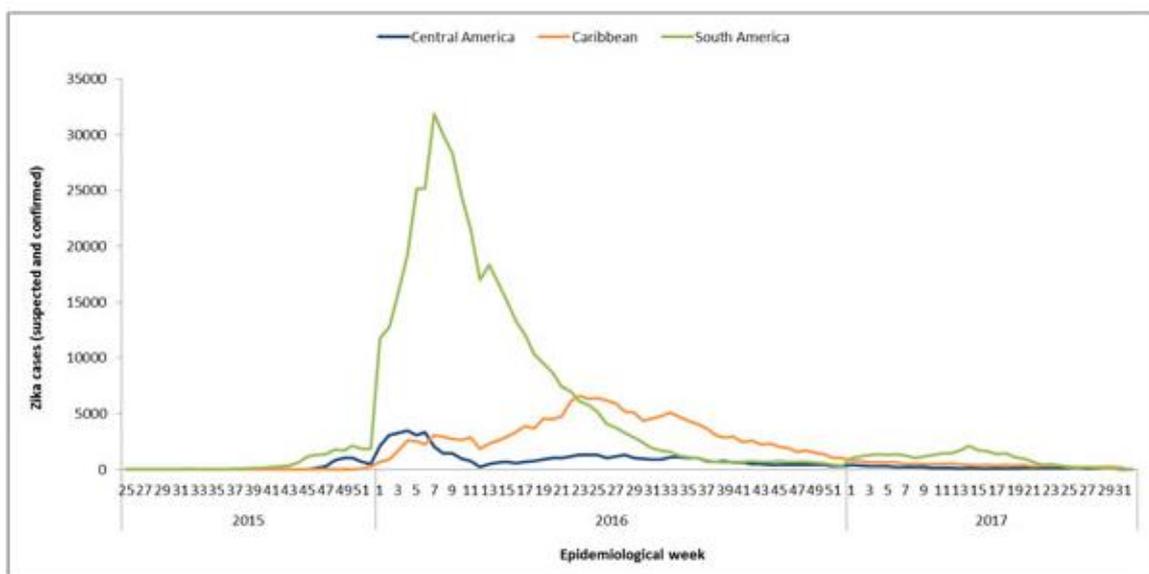
Figura 3 – Criança com síndrome congênita do Zika vírus em sessão de fisioterapia



Fonte: Diário do Nordeste (foto de Fabiane de Paula, publicada em 28 agosto de 2021)

Desde outubro de 2015, um total de 27 países e territórios nas Américas relataram casos confirmados de síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika (PAHO / WHO, 2022). A transmissão do vírus Zika aos fetos ocorre em aproximadamente 26% das mães infectadas e pode ocorrer em todos os três trimestres da gestação, independentemente da presença ou ausência de sintomas na mãe, porém o risco de desenvolver defeitos congênitos é maior entre as mulheres infectadas durante o primeiro trimestre (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Conforme dispõe a Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, a doença causada pelo vírus Zika é de notificação compulsória, ou seja, todo caso suspeito ou confirmado deve ser obrigatoriamente notificado ao Serviço de Vigilância Epidemiológica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Em maio de 2017, o Ministério da Saúde declarou o fim da Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN), após avaliação de risco concluir que o Brasil não preenchia mais os critérios para definição de emergência. O último boletim epidemiológico divulgado no país registra 954 casos confirmados de SCZ em 2015; 1.927 em 2016; 360 em 2017; 178 em 2018 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). A Figura 4 mostra uma tendência decrescente de casos suspeitos e confirmados de infecção pelo vírus Zika observada em toda América do Sul a partir de 2017 (OPAS/OMS, 2022).

Figura 4 - Distribuição dos casos suspeitos e confirmados de Zika na região das Américas, entre 2015 e 2017.



Fonte: Dados fornecidos por países e territórios das Américas e reproduzidos pela OPAS/OMS.

No Ceará, não há registros de SCZ desde 2018 (CEARÁ, 2021), mas em 2016, as notificações da síndrome congênita associada ao vírus Zika totalizaram 417 casos notificados, com 107 confirmados (SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO CEARÁ, 2017), conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição dos casos notificados e confirmados de SCZ no Ceará, segundo o ano de ocorrência.

Variável	Notificados		Confirmados	
	N	%	N	%
Ano de ocorrência				
2015	227	33,7	56	34,4
2016	417	62,0	107	65,6
2017	29	4,3	0	0
Total	673	100,0	163	100,0

Fonte: RESP/NUVEP/COPROM- (Ceará 2015 – 2017\*)

\*Dados atualizados em 02/05/2017 (sujeitos a revisão)

Ainda que a SCZ seja considerada uma doença rara e mesmo com a estabilização no número de casos registrados, o Ministério da Saúde continua investindo nas ações de prevenção, atenção à saúde e pesquisa, diante disso, quando são identificados sinais e sintomas compatíveis com a SCZ ou confirmado diagnóstico, a criança é encaminhada para a estimulação neurosensorial, ajudando-a a lidar com problemas de mobilidade motora, fala, postura, entre outros. O diagnóstico do Zika vírus é clínico, podendo ser confirmado por meio de exames laboratoriais de sorologia e biologia molecular, a fim de descartar outras arboviroses tais como dengue e *Chikungunya*. Os recém-nascidos com suspeita de comprometimento neurológico necessitam de exames mais específicos de imagem e acompanhamento multiprofissional (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Moore et al. (2017) reconheceram que, embora crianças com infecção congênita pelo Zika expressas em características comuns a outras infecções congênitas, cinco características específicas distinguiram essa nova síndrome como uma entidade única: microcefalia grave com crânio parcialmente colapsado, redução de córtices cerebrais com padrão específico de lesão cerebral e calcificações subcorticais associadas, achados oculares posteriores, incluindo cicatrizes maculares e manchas focais da retina pigmentar; contraturas

congênitas envolvendo uma ou múltiplas articulações (artrogripose ou pé torto) e hipertonia acentuada logo após o nascimento, com sintomas extrapiramidais.

Em um estudo conduzido por Schuler-Faccini et al. (2016), os autores observaram que onze por cento das crianças com SCZ apresentavam artrogripose, sendo justificado pelo fato de que o vírus Zika age através do neurotropismo, afetando as células progenitoras corticais do sistema nervoso central quando atravessa a barreira placentária, induzindo assim e lesões funcionais e morte celular, ademais há também o desencadeamento de uma cascata inflamatória, com liberação de citocinas como resposta ao dano viral, levando a alterações na embriogênese. Van der Linden et al. (2016) realizaram estudos com base em imagens radiológicas e em eletroneuromiografia em indivíduos com SCZ e artrogripose e viram que as articulações dos pacientes avaliados nesse estudo apresentaram alterações neurogênicas, com acometimento do sistema central e periférico.

Fonteles et al. (2021), em um estudo multidisciplinar, definiram as características faciais dismórficas na SCZ, concluindo que crianças acometidas pela síndrome tinham faces largas e curtas, distância intercantal diminuída, comprimento nasal posterior curto, raiz nasal proeminente, asas nasais largas e orelhas inseridas altas e longas. Outras condições importantes observadas é que as crianças afetadas pela SCZ podem ter um frênulo lingual posicionado posteriormente ou escondido atrás de uma cortina mucosa, bem como podem apresentar diferentes níveis de disfagia, tendo uma associação significativa com a presença do frênulo lingual posicionado posteriormente (FONTELES et al., 2018).

A disfagia associada à SCZ pode ser causada por anomalias da anatomia orofacial, sensibilidade oral e do trato respiratório superior e alterações na função motora do tubo digestivo superior causada principalmente ou secundariamente pela ação direta do vírus, bem como pode ser causada por alterações a nível do sistema nervoso central e/ou periférico. Sabe-se que o processo de deglutição tem três fases (oral, faríngea e esofágica) e a disfagia pode resultar de problemas em qualquer uma dessas fases. A fase oral e o início da fase faríngea estão sob controle neural voluntário, enquanto a conclusão da fase faríngea e toda a fase esofágica estão sob controle neural involuntário, diante disso, a deglutição é um complexo processo sensório-motor (LEAL et al., 2017).

Um estudo *in vitro* de Bayless et al. (2016) mostrou que o vírus Zika infecta células da crista neural craniana, sugerindo que, uma vez que os desenvolvimentos neurológico e facial possuem uma gênese em comum, a interferência nessas células pode contribuir para as

embriopatias associadas à SCZ. Fonteles et al. (2018) explicaram que o conhecimento prévio de que o tecido conjuntivo da língua e a vasculatura derivam de células da crista neural craniana leva a propor que a infecção dessas células pode explicar a maior frequência de frênulos linguais alterados.

Ainda não está descrito na literatura se alterações de frênulos labiais se manifestam em indivíduos acometidos pela SCZ, nem se alterações de frênulos orais são coincidentes com outros achados da referida síndrome. O objetivo do presente trabalho é avaliar frênulos orais de crianças portadoras de SCZ e buscar possíveis associações existentes entre alterações neurológicas, tais como disfagia e contraturas congênitas, e os fenótipos de frênulos orais observados nessa população.

## **2 PROPOSIÇÃO**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar frênulos orais de crianças portadoras de SCZ e buscar possíveis associações existentes entre alterações neurológicas e os fenótipos de frênulos orais observados nessa população.

### **2.2 Objetivos específicos**

Os objetivos específicos selecionados para este estudo foram:

- a) descrever como as possíveis alterações de frênulos orais se manifestam em indivíduos acometidos pela SCZ;
- b) investigar se existe relação entre alterações de frênulos orais e a presença de transtornos de deglutição;
- c) averiguar se existe relação entre alterações de frênulos orais e a presença de contraturas congênitas.

### 3 CAPÍTULOS

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (Anexo 1). Por se tratar de pesquisa envolvendo seres humanos, ou partes deles, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado (Anexo 2). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo submetido para publicar em revistas científicas em fase de redação, conforme descrito a seguir:

“Associação entre fenótipos de frênulos orais, contraturas congênicas e disfagia em crianças com síndrome congênita do Zika vírus.” Cavalcante GMFS, Filho FCM, Marinho RBV, Marçal FF, Ribeiro TR, Cidrão GP, Monteiro AJ, Pessoa ALS, Ribeiro EM, Fonteles CSR. Será submetido à publicação no *International Journal of Paediatric Dentistry*, conforme as orientações para autores estabelecidas pela revista (Anexo 3).

### 3.1 Capítulo 1

#### **Association between oral frenulum phenotypes, congenital contractures, and dysphagia in children with congenital Zika syndrome**

Grisielle Mary Ferreira de Sá Cavalcante<sup>1</sup>, Francisco César Monteiro Filho<sup>1</sup>, Rebeca Bastos Vasconcelos Marinho<sup>2</sup>, Felipe Franco Marçal<sup>2</sup>, Thyciana Rodrigues Ribeiro<sup>1</sup>, Gabriella Paiva Cidrão Silveira<sup>3</sup>, André Jalles Monteiro<sup>4</sup>, André Luiz Santos Pessoa<sup>5</sup>, Erlane Marques Ribeiro<sup>5</sup>, Cristiane Sá Roriz Fonteles<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy Dentistry and Nursing, Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil*

*<sup>2</sup>School of Medicine, Christus University Center, Fortaleza, Brazil*

*<sup>3</sup>Department of Clinical Dentistry, Faculty of Pharmacy Dentistry and Nursing, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil*

*<sup>4</sup>Department of Statistics and Applied Mathematics, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil*

*<sup>5</sup>Albert Sabin Children's Hospital, Fortaleza, Brazil*

#### **Correspondence**

Cristiane Sá Roriz Fonteles, Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Rua Monsenhor Furtado, 1273. Rodolfo Teófilo CEP 60430-355, Fortaleza, Ceará, Brazil. E-mail: [cfontele@ufc.br](mailto:cfontele@ufc.br)

#### **Author contributions**

Cristiane Sá Roriz Fonteles, André Luiz Santos Pessoa and Erlane Marques Ribeiro conceived the ideas; Francisco César Monteiro Filho, Rebeca Bastos Vasconcelos Marinho, Felipe Franco Marçal, Thyciana Rodrigues Ribeiro and Gabriella Paiva Cidrão Silveira collected the data; Grisiel Mary Ferreira de Sá Cavalcante, Cristiane Sá Roriz Fonteles and André Jalles Monteiro analysed the data and led the writing.

### **Editorial policies and ethical considerations**

Institutional review board approval was granted by the Committee of Ethics in Research of the Federal University of Ceara (CEP/UFC/ PROPESQ, protocol approval # 2.041.089), following norms and regulations of the National Council of Health, and by the Ethics Committee in Research of the Albert Sabin Children's Hospital (CAAE: 57109816.7.0000.5042), through protocol #1.743.023. Parents or legal guardians of all children signed informed consent forms prior to child's enrollment in the study.

### **Funding information**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico; SUS/PPSUS-CE FUNCAP-SESA-Decit/SCTIE/MS-CNPq, Grant/Award Number: #PP3-0118-00142.01.00/1.

### **Acknowledgments**

This study was supported by grant SUS/PPSUS-CE FUNCAP-SESA-Decit/SCTIE/MS-CNPq from 01/2017 (#PP3-0118-00142.01.00/17).

### **Word count**

3.382 words

### **Resumo**

*Histórico:* Crianças acometidas pela síndrome congênita do Zika vírus (SCZ) possuem características craniofaciais e orais específicas. *Hipótese ou objetivo:* Sabendo que as estruturas craniofaciais possuem íntima ligação, este trabalho buscou ter uma melhor compreensão dos frênulos orais, bem como a sua relação com contraturas congênitas e disfagia em crianças com SCZ. *Desenho:* A amostra final do estudo foi composta por 63 crianças com a faixa etária de 1 a 20 meses e, como controle, foram selecionadas 31 crianças saudáveis. Uma equipe multidisciplinar avaliou os indivíduos. Os dados neurológicos foram categorizados e

subdivididos. Durante a avaliação dos frênulos orais, investigou-se principalmente os aspectos anatômicos e nível de inserção. *Resultados:* Uma quantidade significativa de crianças com SCZ possui o frênulo labial superior inserido na região da papila, estendendo-se até a região do palato ( $p = 0,0008$ ), e existe uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a ausência de contratura congênitas ( $p = 0,0435$ ). Crianças com SCZ apresentaram frênulos labiais inferiores frequentemente inseridos em V ( $p = 0,001$ ) e há uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a presença de disfagia ( $p = 0,0278$ ). *Conclusões:* O presente estudo alargou a compreensão acerca da íntima ligação das estruturas craniofaciais, auxiliando no diagnóstico dessa síndrome, podendo estender esse conhecimento até mesmo a outras síndromes.

### **Palavras-chaves**

Anormalidades congênitas, síndrome, infecção pelo vírus Zika, freio lingual, freio labial.

### **Introdução**

Em meados de 2015, a infecção pelo vírus Zika durante o período pré-natal foi associada a desfechos desfavoráveis, como microcefalia e outras anomalias cerebrais graves<sup>1</sup>. A infecção por esse vírus se tornou preocupante, ganhando atenção internacional desde 2015, devido a um aparente aumento de 20 vezes na incidência de microcefalia, após um surto dessa doença no Brasil<sup>2,3,4</sup>, sendo declarada pela Organização Mundial da Saúde como uma Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional<sup>5</sup>. Estudos posteriores concluíram que o fenótipo apresentado envolvia não apenas a microcefalia, mas constituía um novo padrão de defeitos congênitos, chamado síndrome congênita do Zika (SCZ)<sup>6,7,8</sup>. Em 2021, Fonteles et al. avaliaram os aspectos faciais de crianças com diagnóstico de SCZ, observando que essas tinham as faces largas e curtas, a distância intercantal diminuída, o comprimento nasal posterior curto, a raiz nasal proeminente, as asas nasais largas e as orelhas inseridas altas e longas<sup>9</sup>, mas antes, em um outro estudo conduzido pelo mesmo grupo, já havia sido revelado que indivíduos afetados pela SCZ apresentaram o frênulo lingual posicionado posteriormente ou submucoso<sup>10</sup>. Ainda é necessário ampliar na literatura como alterações de frênulos orais se manifestam em indivíduos acometidos pela SCZ, bem como se as alterações de frênulos labiais e lingual são coincidentes nesses indivíduos. O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos morfofuncionais dos frênulos de crianças com síndrome congênita do Zika, buscando uma

melhor compreensão dessas estruturas orais, bem como os desfechos associados, especialmente no que se refere a manifestações neurológicas, a fim de alargar a compreensão acerca da íntima ligação das estruturas craniofaciais, auxiliando no diagnóstico desta ou até mesmo de outras síndromes.

## **Material e métodos**

### *Aspectos éticos*

Este estudo faz parte de um projeto de pesquisa multidisciplinar mais amplo, submetido e aprovado através do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (CAAE: 62991316.3.0000.5054), sob número de parecer 2.041.089. A segurança e a privacidade dos participantes foram garantidas e os responsáveis legais por cada criança participante do estudo assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, no qual foram explicados os objetivos, metodologia, bem como riscos e benefícios relacionados.

### *Desenho, população e localização do estudo*

O presente trabalho dispõe de um desenho de estudo longitudinal, fazendo parte de um projeto de coorte multidisciplinar mais amplo. Crianças com diagnóstico suspeito de SCZ, tratadas por centros de referência do Nordeste do Brasil, foram encaminhadas para participar do estudo. A coleta de dados foi realizada na cidade de Fortaleza (Brasil), no Centro de Aperfeiçoamento Visual Ver a Esperança Renascer – CAVIVER.

### *Amostra do estudo e critérios de inclusão*

Foram selecionadas 67 crianças com possível diagnóstico de síndrome congênita do Zika vírus, com faixa etária de 1 a 20 meses, de ambos os sexos, com ou sem disfagia, com ou sem contraturas congênitas. Os critérios de inclusão definidos exigiam que o diagnóstico de SCZ fosse confirmado pela presença de evidência sorológica de infecção pelo vírus Zika ou pelos critérios estabelecidos por Moore et al<sup>11</sup>. Quatro crianças foram excluídas do estudo devido ao diagnóstico não confirmado de SCZ. Todas as crianças incluídas no estudo nasceram de mães com possível ou confirmada exposição ao Zika vírus. A amostra final do estudo foi composta por 63 crianças (34 do sexo feminino e 29 do sexo masculino). Como controle, foram

selecionadas 31 crianças saudáveis (14 do sexo feminino e 17 do sexo masculino), na mesma faixa etária, de ambos os sexos, sem disfagia, sem contraturas congênitas, acompanhadas na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal do Ceará. Duas crianças foram retiradas do grupo controle por motivo de desistência (n = 2).

### *Coleta de dados*

Os bebês passaram por avaliações completas, através de uma equipe multidisciplinar composta por pediatra, neurologista, geneticista, oftalmologista, fonoaudióloga e cirurgião-dentista. Para o presente estudo, foram considerados os dados quanto às alterações de frênulos orais, quanto à presença de disfagia e quanto à presença de contraturas congênitas. Caso a presença de falha na deglutição fosse identificada, o nível de disfagia era registrado no prontuário do paciente como leve, moderado ou grave. Os dados neurológicos também foram categorizados e subdivididos. No presente estudo, a disfagia e as contraturas congênitas foram categorizadas como presente ou ausente. Em seguida, a coleta de dados incluiu avaliações anatômicas intraorais, realizadas por um odontopediatra experiente. Foram obtidas fotografias intraorais para auxiliar na coleta de dados e registrar o crescimento e o desenvolvimento de todos os bebês. As imagens foram analisadas por outro odontopediatra para confirmar a avaliação clínica. Ficou estabelecido que em caso de divergência entre o exame clínico e fotográfico, a criança seria novamente examinada e fotografada. Cada bebê foi examinado em quatro momentos distintos, distribuídos em um período de 30 meses (dezembro / 2016; julho / 2017; janeiro / 2018; agosto / 2018).

### *Exame intraoral*

Os bebês desdentados foram examinados nos braços do responsável. Contudo, na presença de dentes, os bebês e as crianças foram examinados no colo do responsável, de frente para o profissional, utilizando a técnica joelho a joelho. O exame foi realizado sob luz artificial, abrangendo os dentes e tecidos moles, com ênfase na avaliação dos frênulos labiais e lingual, investigando-se principalmente os aspectos anatômicos e nível de inserção. A região intraoral de todos os pacientes foi fotografada, de modo que os frênulos pudessem ser reavaliados em um segundo momento, para fins de confirmação do exame clínico.

### *Avaliação do frênulo lingual*

O frênulo lingual foi avaliado observando-se os seguintes aspectos: visibilidade, espessura e nível de fixação. Uma primeira observação era feita durante a manobra de elevação da língua (manobra simples), porém, quando o frênulo não era visível, a língua era mais uma vez elevada e retraída (manobra específica) como uma tentativa final de visualizar o frênulo lingual. Caso a visibilidade não fosse possível após as duas manobras, o frênulo lingual era considerado ausente. Na presença de um frênulo lingual visível, este foi classificado quanto à sua espessura (delgado ou espesso), seguido pelo nível de fixação, conforme o protocolo sugerido por Coryllos et al. (2004), que estabelece que existem quatro tipos de frênulos linguais, no qual o tipo 1 é considerado quando o frênulo está unido à ponta da língua e se prende geralmente à crista alveolar no sulco labial inferior; o tipo 2 é aquele que está posicionado a uma distância de dois a quatro milímetros atrás da ponta da língua e se prende logo atrás da crista alveolar; o tipo 3 acontece quando o frênulo se prende na região média da língua até a metade do assoalho da boca, tendo um aspecto menos elástico e, por fim, o tipo 4, que é essencialmente fixado à base da língua, é espesso, brilhante e muito inelástico<sup>12</sup>.

### *Avaliação dos frênulos labiais*

Os frênulos labiais foram examinados através do afastamento dos lábios superior e inferior, seguido de pressão bidigital, respectivamente. Na presença de um frênulo labial visível, este foi classificado quanto à sua espessura (delgado ou espesso), quanto ao tipo de inserção (inserido ou não em V), seguido pelo nível de fixação de acordo com o protocolo sugerido por Kotlow (2013), que se baseia tanto na aparência clínica do lábio quanto na sua fixação ao arco dental. Os frênulos labiais foram então divididos em quatro classes, no qual a classe I se referiu aos frênulos firmados na região de mucosa alveolar, a classe II se referiu a uma fixação na junção da gengiva livre e inserida, a classe III foi definida quando o frênulo estava junto à papila gengival e a classe IV, quando o frênulo estava fixado à papila gengival, estendendo-se até o palato duro<sup>13</sup>.

### *Análise estatística*

As associações entre variáveis categóricas, como disfagia (presença/ausência), contraturas congênitas (presença/ausência), tipo de frênulo lingual, tipo de frênulo labial superior e tipo de frênulo labial inferior, foram testadas pelos testes do qui-quadrado e exato de Fisher. O nível de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ .

## Resultados

### *Frênulos labiais*

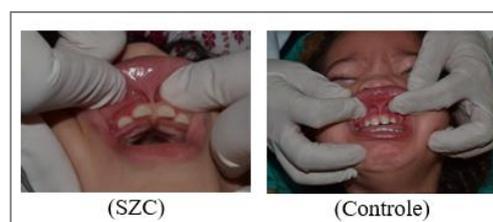
No presente trabalho, os resultados demonstraram que 23 crianças com SCZ apresentaram o frênulo superior inserido na região da papila, estendendo-se até a região do palato (classificação de Kotlow classe IV) ( $p < 0,001$ ), enquanto apenas 8 crianças do grupo controle apresentaram esse tipo de frênulo labial. Dez crianças do grupo controle apresentaram frênulos labiais inseridos na junção entre gengiva livre e inserida (classificação de Kotlow classe II) ( $p < 0,001$ ), enquanto apenas uma criança do grupo Zika apresentou esse tipo de frênulo (TABELA 1; FIGURA 1).

Tabela 1 – Frênulo labial superior: classificação por grupo

Especificação	Classificação	Zika	Controle	p-valor
Classificação de Kotlow	Classe II	1	10	0,0008
	Classe III	11	11	
	Classe IV	23	8	
Espessura	Não espesso	4	6	0,3097
	Espesso	11	23	
Inserção em V	Não inserido em V	--	2	0,1145
	Inserido em V	35	27	

Fonte: elaborada pelos autores.

Figura 1 – Criança com SCZ com frênulo labial superior classe IV de Kotlow e criança saudável com frênulo labial superior classe II de Kotlow



Fonte: acervo de Dra. Cristiane Fonteles

Tanto para crianças com SCZ (n = 32) quanto para crianças controle (n = 26), o frênulo labial inferior frequentemente apresentou-se inserido na junção entre gengiva livre e inserida (classificação classe II de Kotlow), porém houve uma associação significativa entre as classificações de espessura e de inserção dos frênuos labiais inferiores e as crianças com SCZ, cujos frênuos apresentaram-se frequentemente espessos (n = 23; p = 0,0507), bem como inseridos em V (n = 16; p = 0,001) (TABELA 2; FIGURA 2).

Tabela 2 – Frênulo labial inferior: classificação por grupo

Especificação	Classificação	Zika	Controle	p-valor
Classificação de Kotlow	Classe I	3	1	0,4392
	Classe II	32	26	
Espessura	Não espesso	22	13	0,0507
	Espesso	23	4	
Inserção em V	Não inserido em V	19	27	0,0000
	Inserido em V	16	--	

Fonte: elaborada pelos autores.

Figura 2 – Frênulo labial inferior espesso e inserido em V característico de criança com SCZ



Fonte: acervo de Dra. Cristiane Fonteles

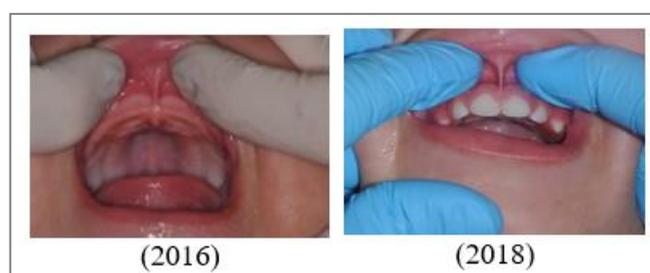
Não foram observadas mudanças significativas ao longo do tempo nos frênuos orais das crianças que participaram do estudo, das quais apenas seis crianças com SCZ evoluíram de um frênulo labial superior classe IV para classe III de Kotlow, sete evoluíram de classe IV para classe II e uma criança evoluiu de classe III para classe II (TABELA 3; FIGURA 3).

Tabela 3 – Evolução da classificação do frênulo labial superior em crianças com SCZ.

Evolução	n
Evolução de Kotlow classe IV para III	6
Evolução de Kotlow classe IV para II	7
Evolução de Kotlow classe III para II	1

Fonte: elaborada pelos autores.

Figura 3 – Evolução do frênulo labial superior em crianças com SCZ entre 2016 e 2018.



Fonte: acervo de Dra. Cristiane Fonteles

### *Frênulo lingual*

Considerando a classificação de Coryllos, frênulos linguais posteriores ou submucosos (tipo 4) apresentaram significativa associação com SCZ ( $p = 0,0010$ ) (FIGURA 4), quando 20 crianças com a referida síndrome e apenas 7 crianças do controle apresentaram esse tipo de frênulo. Observou-se também que crianças saudáveis ( $n = 25$ ) possuem frequentemente frênulos delgados ( $p = 0,0541$ ) (TABELA 4).

Figura 4 – Frênulo lingual submucoso (tipo 4 de Coryllos), característico de criança com SCZ.



Fonte: acervo de Dra. Cristiane Fonteles

Tabela 4 – Frênulo lingual: classificação por grupo

Especificação	Classificação	Zika	Controle	p-valor
Classificação de Coryllos	Tipo 1	--	1	0,0010
	Tipo 2	--	9	
	Tipo 3	10	11	
	Tipo 4	20	7	
Espessura	Não espesso	5	25	0,0541
	Espesso	25	17	

Fonte: elaborada pelos autores.

### *Disfagia*

Ao analisar a presença/ausência de disfagia nas crianças com SCZ e os tipos de frênulos, a presença de frênulos labiais inferiores inseridos em V apresentou uma associação significativa com a presença de disfagia nesses indivíduos ( $p = 0,0278$ ), o que não aconteceu com frênulos labiais superiores inseridos em V, dado que estes últimos não apresentaram associação significativa com a presença de disfagia ( $p = 1,000$ ). Ao analisar o frênulo lingual, não foi observada associação significante entre a presença de frênulo lingual tipos 3 e 4 de Coryllos e disfagia ( $p = 0,2350$ ).

### *Contraturas congênitas*

O presente estudo apresentou uma associação significativa entre ausência de contraturas e frênulos labiais superiores tipos 3 e 4 de Kotlow, ou seja, inseridos na papila gengival ou inseridos na papila se estendendo até o palato, em crianças com SCZ ( $p = 0,0435$ ).

### **Discussão**

Em 2018, uma outra pesquisa foi conduzida pelo mesmo grupo do presente estudo<sup>10</sup>, porém apenas 54 crianças foram avaliadas de forma transversal e apenas o frênulo lingual foi considerado. Este estudo difere do primeiro pois, além de acompanhar um número maior de crianças, incluindo um grupo controle, este é o primeiro estudo longitudinal sobre a síndrome congênita do Zika que avaliou as alterações de frênulos labiais e lingual em crianças com SCZ e outros achados neurológicos. Um achado de grande relevância no presente estudo

e que deve ser apontado é a associação significativa entre a presença de frênulo labial superior inserido na região da papila, estendendo-se até a região do palato (classificação de Kotlow tipo 4), e a ausência de contraturas congênitas em crianças com SCZ ( $p = 0,0435$ ). Devido à embriogênese, a medula espinhal e os tecidos conjuntivos estão intimamente ligados. Por um lado, a artrogripose é a consequência de um defeito ou degeneração das células do corno anterior da medula espinhal<sup>14</sup>, por outro, os frênuos espessos ou malformados podem ser consequência de um processo inadequado de apoptose<sup>15</sup>. A literatura determina que a neurulação já está concluída por volta da 4ª semana<sup>16,17</sup>. Em paralelo, a organização e a formação da face ocorrem principalmente entre a 4ª e a 8ª semana de vida intrauterina<sup>16</sup>. Sabendo que o alvo celular do vírus Zika são as células progenitoras neurais, tendo como consequência a redução das taxas de proliferação e o aumento da necrose celular após a infecção<sup>18</sup>, é de se esperar que, além de consequências a nível neurológico ou morfológico facial, também surjam alterações nos tecidos conjuntivos. Como ambos os processos não acontecem ao mesmo tempo, o fato de crianças com SCZ apresentarem a ausência de contraturas congênitas e frênuos labiais superiores inadequados poderia dar algum indício de qual momento gestacional ocorreu a infecção pelo vírus Zika.

Demonstrou-se também que crianças com SCZ apresentam frênuos labiais inferiores frequentemente espessos ( $p = 0,0507$ ), bem como inseridos em V ( $p = 0,001$ ). Em paralelo, ao analisar a presença/ausência de disfagia nas crianças com SCZ e os tipos de frênuos, a presença de frênuos labiais inferiores inseridos em V apresentou uma importante associação com a presença de disfagia nesses indivíduos ( $p = 0,0278$ ). O presente resultado desperta atenção, dado que era esperado alguma relação de frênulo lingual e disfagia, o que não aconteceu. No presente estudo, não foi observada associação significativa entre a presença de frênulo lingual submucoso e disfagia ( $p = 0,2350$ ), ainda que crianças com frênulo lingual submucoso e a presença de disfagia sejam a maioria ( $n = 16$ ), quando comparadas com a ausência de disfagia ( $n = 4$ ). Em 2018, Fonteles et al., em um modelo multivariado, também não associaram a presença de um frênulo lingual posterior à presença de disfagia<sup>10</sup>.

Outra estrutura anatômica notável na cavidade oral é o frênulo labial, cuja anomalia pode causar problemas como perda de papila, recessão gengival e distensão do sulco gengival, tornando-se um sítio de acúmulo de biofilme, podendo gerar problemas periodontais ou problemas ortodônticos como a presença de diastemas<sup>19</sup>. No presente trabalho, os resultados mostraram que uma maior quantidade de crianças com SCZ possui o frênulo labial superior inserido na região da papila se estendendo até a região do palato e o frênulo labial inferior frequentemente espessos, bem como inseridos em V, sendo relevante alertar profissionais de

saúde e cuidadores envolvidos no cuidado oral do paciente com SCZ sobre uma possível presença dos problemas supracitados.

Frênulos anormais foram encontrados associados a várias condições genéticas e cromossômicas, como síndrome de Ehlers-Danlos, síndrome de Ellis-Van Creveld, estenose pilórica hipertrófica infantil, síndrome Orofaciodigital, holoprosencefalia<sup>20</sup>, síndrome de Moebius<sup>21</sup> e, mais recentemente, um frênulo anormal também foi encontrado na síndrome congênita do Zika<sup>8,10,22</sup>. Fonteles et al. (2018) observaram um frênulo lingual posicionado posteriormente ou escondido atrás de uma cortina mucosa em crianças afetadas por síndrome do Zika vírus. O presente estudo coincide com os achados anatômicos anteriores, confirmando que crianças com SCZ apresentam frequentemente frênulos linguais submucosos, podendo-se sugerir que isto seja considerado como um critério, ainda que menor, no diagnóstico da síndrome.

Anteriormente, Del Campo et al. (2017) publicaram um estudo baseado no resultado de uma avaliação multidisciplinar de crianças que expressavam achados consistentes com a SCZ, relatando ausência de frênulo lingual nessa população. Porém, o método utilizado para o diagnóstico pode ser questionado<sup>8</sup>, pois não incluiu uma manobra adequada do frênulo. A completa visibilidade do frênulo lingual exige uma manobra específica para elevar e retrair a língua<sup>23</sup>, sendo este o protocolo utilizado no presente estudo. Os frênulos orais são estruturas anatômicas notáveis na cavidade oral, mas muitas vezes mal compreendidas<sup>19</sup>, fazendo com que exista uma controvérsia considerável entre os profissionais de saúde quanto à classificação e quanto à indicação de procedimentos<sup>24,25</sup>. A principal razão para a ampla variação do diagnóstico está relacionada à falta de padronização na avaliação, ademais, a uniformidade no procedimento avaliativo previne o subdiagnóstico, reduz o sobrediagnóstico e evita iatrogenias. O uso de protocolos corretos para avaliação é importante para estabelecer parâmetros que permitam o estudo do caso e a conduta clínica.

### **Tópicos de destaque**

O presente estudo permitiu avaliar os aspectos morfofuncionais de frênulos lingual e labiais de crianças com síndrome congênita do Zika. Obteve-se uma melhor compreensão dessas estruturas orais, bem como os desfechos associados, especialmente manifestações neurológicas. Alargou a compreensão acerca da íntima ligação das estruturas craniofaciais, auxiliando no diagnóstico dessa síndrome, podendo estender esse conhecimento até mesmo a outras síndromes.

## Referências

1. Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen, LR. Zika virus and birth defects: reviewing the evidence for causality. *N Engl J Med* 2016;374(20):1981–1987.
2. Plourde AR, Bloch, EM. A literature review of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 2016;22(7):1185–1192.
3. Fauci AS, Morens DM. Zika virus in the Americas: yet another arbovirus threat. *N Engl J Med* 2016;374:601–604.
4. De Brito CA, De Brito CM, Oliveira AC, et al. Zika in Pernambuco: rewriting the first outbreak. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016;49, 553–558.
5. Gulland A. Zika virus is a global public health emergency, declares WHO. *BMJ* 2016;352, i657.
6. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(3):59–62.
7. Cavalcanti PG, Ribeiro EM, Pessoa ALS, et al. Microcephaly in infants, Ceará state, Brazil, 2015-2016. *Rev Med UFC* 2017;57(1):30–35.
8. Del Campo M, Feitosa IM, Ribeiro EM, et al. The phenotypic spectrum of congenital Zika syndrome. *Am J Med Genet A* 2017;173(4):841–85.
9. Fonteles CSR, Filho FCM, Vasconcelos RB, et al. Defining dysmorphic facial features in congenital Zika syndrome. *Am J Med Genet A* 2021;185(2):424-433
10. Fonteles CSR, Marques ER, Sales MAS, et al. Lingual frenulum phenotypes in Brazilian infants with congenital Zika syndrome. *Cleft Palate Craniofac J* 2018;55(10):1391–1398.
11. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, et al. Characterizing the pattern of anomalies in congenital zika syndrome for pediatric clinicians. *JAMA Pediatr* 2017;171(3):288-95.
12. Coryllos E, Genna CW, Salloum AC. Congenital tongue-tie and its impact on breastfeeding. *AAP* 2004:1-6
13. Kotlow LA. Diagnosing and understanding the maxillary lip-tie (superior labial, the maxillary labial frenum) as it relates to breastfeeding. *J Hum Lact* 2013;29(4):458–464.

14. Banker BQ. Neuropathologic aspects of arthrogryposis multiplex congenita. *Clin Orthop Relat Res* 1985;194:30-43.
15. Knox I. Tongue-tie and frenotomy in the breastfeeding newborn. *Neo Rev* 2010;11(9):513-519.
16. Sadler TW. *Langman's medical embryology*. Philadelphia:Wolters Kluwer; 2019. 58-72 p.
17. Smith JL, Schoenwolf GC. Neurulation: coming to closure. *Trends Neurosci* 1997;20(11):510-7.
18. Bayless NL, Greenberg RS, Swigut T, et al. Zika virus infection induces cranial neural crest cells to produce cytokines at levels detrimental for neurogenesis. *Cell Host Microbe* 2016;20(4):423-428.
19. Dasgupta P, Kamath G, Srikanth HS, et al. Morphological variations of median maxillary labial frenum: a clinical study. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2017; 118(6):337-341.
20. Mintz SM, Siegel MA, Seider PJ. An overview of oral frena and their association with multiple syndromic and nonsyndromic conditions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99(3):321-324.
21. Lima LM, Diniz MB, Santos-Pinto L. Moebius syndrome: clinical manifestations in a pediatric patient. *Pediatr Dent* 2009;31(4):289-93.
22. Carvalho IF, Alencar PN, Andrade MD, et al. Clinical and x-ray oral evaluation in patients with congenital Zika Virus. *J Appl Oral Sci* 2019;27:e20180276.
23. Martinelli RLC, Marchesan IQ, Berretin-Felix G. Lingual frenulum protocol with scores for infants. *Int J Orofacial Myology* 2012;38:104-12.
24. Marchesan IQ. Lingual frenulum: quantitative evaluation proposal. *Int J Oral Myol* 2005;31(1):39-48.
25. Sanders I, Um L. A three-dimensional atlas of human tongue muscles. *Anat Rec* 2013;296(7):1102-14.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Brasil, por ser um país tropical, arboviroses devem ter especial atenção das políticas públicas, especialmente aquelas que possuem consequências graves e irreversíveis, como é o caso dos comprometimentos causados pelo vírus Zika. É sabido que, quando esse vírus acomete gestantes, o feto em formação irá apresentar malformações congênitas, distinguindo esse comprometimento como uma nova síndrome. Desde 2015, as autoridades de saúde pública confirmaram a transmissão do vírus Zika no país e estudos vêm sendo realizados com o intuito de auxiliar essa população a contornar os comprometimentos surgidos por causa da síndrome, garantindo mais qualidade de vida para os indivíduos. Estudos sobre o comprometimento oral desses indivíduos vêm sendo conduzidos e são de extrema importância, visto que podem resultar em melhores condições de nutrição, ajudando-os a prosperar. Indivíduos acometidos por SCZ apresentam um frênulo lingual posterior que, sem manobra específica, pode ser mal interpretado como um frênulo ausente, causando confusões não apenas na literatura, mas na condução dos casos. Uma quantidade significativa de crianças com SCZ possui o frênulo labial superior inserido na região da papila se estendendo até a região do palato e foi possível uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a ausência de contraturas congênitas. Crianças com SCZ apresentaram frênuos labiais inferiores frequentemente inseridos em V e houve uma associação significativa entre este tipo de frênulo e a presença de disfagia. O presente estudo alargou a compreensão acerca da íntima ligação das estruturas craniofaciais, auxiliando no diagnóstico dessa síndrome, podendo estender esse conhecimento até mesmo a outras síndromes, porém ainda são necessários mais estudos que tentem decifrar qual o nível de interferência dos frênuos orais na deglutição normal, bem como mais esclarecimentos ainda são necessários para entender como os aspectos morfofuncionais dos frênuos lingual e labiais de crianças com essa síndrome se relacionam com a presença de alterações neurológicas, dado que tais estruturas compartilham a mesma gênese.

**REFERÊNCIAS**

- BANKER, B. Q. Neuropathologic aspects of arthrogryposis multiplex congenita. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, v.194, p.30-43, 1985.
- BAEZA, C. et al. Assessment and classification of tongue-tie. **Clin. Lactation**, v.8, n.3, p.93-98, 2017.
- BAYLESS, N. L. et al. Zika virus infection induces cranial neural crest cells to produce cytokines at levels detrimental for neurogenesis. **Cell Host. Microbe.**, v.20, n.4, p.423-428, 2016.
- CARVALHO, I. F. et al. Clinical and x-ray oral evaluation in patients with congenital Zika Virus. **J. Appl. Oral Sci.**, v.27, p.e20180276, 2019.
- CAVALCANTI, P. G. et al. Microcephaly in infants, Ceará state, Brazil, 2015-2016. **Rev. Med. U.F.C.**, v.57, n.1, p.30–35, 2017.
- CEARÁ não registra casos de microcefalia associados ao Zika vírus há mais de 3 anos. **Diário do Nordeste Online**, Fortaleza, 28 ago. 2021. Disponível em: <<https://diariodonordeste.verdesmares.com.br/dias-melhores/ceara-nao-registra-casos-de-microcefalia-associados-ao-zika-virus-ha-mais-de-3-anos-1.3127107>>. Acesso em: 20 mai. 2022.
- CORYLLOS, E.; GENNA, C. W.; SALLOUM, A.C. Congenital tongue-tie and its impact on breastfeeding. **A.A.P.**, p.1-6, 2004.
- DASGUPTA, P. et al. Morphological variations of median maxillary labial frenum: a clinical study. **J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg.**, v.118, n.6, p.337-341, 2017.
- DE BRITO, C. A. et al. Zika in Pernambuco: rewriting the first outbreak. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.49, p.553–558, 2016.
- DEL CAMPO, M. et al. The phenotypic spectrum of congenital Zika syndrome. **Am. J. Med. Genet. A**, v.173, n.4, p.841–85, 2017.
- EWEN, S. J. Frena: their roles especially in periodontics. **New York State Dent. J.**, v.34, n.10, p.626-630, 1968.

- FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. Zika virus in the Americas: yet another arbovirus threat. **N. Engl. J. Med.**, v.374, p.601–604, 2016.
- FONTELES, C. S. R. et al. Defining dysmorphic facial features in congenital Zika syndrome. **Am. J. Med. Genet. A**, v.185, n.2, p.424-433, 2021.
- FONTELES, C. S. R. et al. Lingual frenulum phenotypes in Brazilian infants with congenital Zika syndrome. **Cleft Palate Craniofac. J.**, v.55, n.10, p.1391–1398, 2018.
- Ghaheri, B.A. et al. Breastfeeding improvement following tongue-tie and lip-tie release: a prospective cohort study. **Laryngoscope**, v.127, n.5, p.1217-1223, 2017.
- GOLDMAN, H. M.; COHEN, D. W. **Periodontia**. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1983. p.1217.
- GROSS, J.B.; HANKEN, J. Review of fate-mapping studies of osteogenic cranial neural crest in vertebrates. **Develop. Biol.**, v.317, p.389–400, 2008.
- GULLAND, A. Zika virus is a global public health emergency, declares WHO. **B.M.J.**,v.352, p.i657, 2016.
- HAHAM, A. et al. Prevalence of breastfeeding difficulties in newborns with a lingual frenulum: a prospective cohort series. **Breastfeeding Med.**, v.9, n.9, p.438-441, 2014.
- HALL, D. M.; RENFREW, J. Tongue tie. **Arch. Dis. Child.**, v.90, n12, p.1211–1215, 2006.
- HUANG, W. J.; CREATH, C. J. The midline diastema: a review of its etiology and treatment. **Pediatr. Dent.**, v.17, n.3, p.171-179, 1995.
- HUANG, X.; SAINT-JEANNET, J.P. Induction of the neural crest and the opportunities of life on the edge. **Dev. Biol.**, v.275, n.1, p.1–11, 2004.
- KNOX, I. Tongue-tie and frenotomy in the breastfeeding newborn. **Neo Rev.**, v.11, n.9, p.513-519, 2010.
- KOTLOW, L. A. Diagnosing and understanding the maxillary lip-tie (superior labial, the maxillary labial frenum) as it relates to breastfeeding. **J. Hum. Lact.**, v.29, n.4, p.458–464, 2013.
- LEAL, M.C. et al. Characteristics of dysphagia in infants with microcephaly caused by congenital Zika virus infection, Brazil, 2015. **Emerg Infect Dis**. v.23, n.8, p.1253–1259, 2017.

LIMA, L.M.; DINIZ, M. B.; SANTOS-PINTO, L. Moebius syndrome: clinical manifestations in a pediatric patient. **Pediatr. Dent.**, v.31, n.4, p.289-93, 2009.

MARCHESAN, I. Q. Lingual frenulum: quantitative evaluation proposal. **Int. J. Oral. Myol.**, v.31, n.1, p.39-48, 2005.

MARTINELLI, R. L.C.; MARCHESAN, I.Q.; BERRETIN-FELIX, G. Lingual frenulum protocol with scores for infants. **Int. J. Oral. Myol.**, v.38, p.104-12, 2012.

MILLS, N. et al. Defining the anatomy of the neonatal lingual frenulum. **Clin. Anat.**, v.32, n.6, p. 824–835, 2019.

MILLS, N. et al. What is a tongue tie? defining the anatomy of the in-situ lingual frenulum. **Clin. Anat.**, v.32, n.6, p.749– 761, 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Notícias**. Brasil apresenta balanço após 4 anos de epidemia do Zika. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2019/dezembro/brasil-apresenta-balanco-apos-4-anos-de-epidemia-do-zika>>. Acesso em: 20 maio 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde de A a Z**. Zika vírus. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/z/zika-virus>>. Acesso em: 20 maio 2022.

MINTZ, S.M.; SIEGEL, M. A.; SEIDER, P. J. An overview of oral frena and their association with multiple syndromic and nonsyndromic conditions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v.99, n.3, p.321–324, 2005.

MOORE, C.A. et al. Characterizing the pattern of anomalies in congenital zika syndrome for pediatric clinicians. **JAMA Pediatr.**, v.171, n.3, p.288-95, 2017.

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika vírus. **Clin. Microb. Rev.**, v.29, n.3, 487-524, 2016.

ORIÁ, R.B.; BRITO, G.A. **Sistema digestório: integração básico-clínica**. São Paulo:Edgard Blucher, 2016. p.25.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION (PAHO/WHO). **Topics**. Zika virus infection. Disponível em: <<https://www.paho.org/en/topics/zika>>. Acesso em: 02 maio 2022.

PLOURDE, A. R.; BLOCH, E.M. A literature review of Zika virus. **Emerg. Infect. Dis.**, v.22, n.7, p.1185–1192, 2016.

PRIYANKA, M. et al. An overview of frenal attachments. **J. Indian Soc. Period.**, v.17, n.1, p.12-15, 2013.

SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DO CEARÁ. Programa Mais Infância Ceará. **A experiência do Estado do Ceará no enfrentamento à síndrome congênita do Zika Vírus.** Fortaleza, 2017.

RASMUSSEN, S. A. et al. Zika virus and birth defects: reviewing the evidence for causality. **N. Engl. J. Med.**, v.374, n.20, p.1981–1987, 2016.

SADLER, T.W. **Langman's medical embryology.** Philadelphia:Wolters Kluwer, 2019. p.58-72.

SANDERS, I.; MU, L. A three-dimensional atlas of human tongue muscles. **Anat. Rec.**, v.296, n.7, p.1102-14, 2013.

SCHULER-FACCINI, L. et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly - Brazil, 2015. **M.M.W.R. Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v.65, n.3, p.59–62, 2016.

SMITH, J. L.; SCHOENWOLF, G. C. Neurulation: coming to closure. **Trends Neurosc.**, v.20, n.11, p.510–7, 1997.

TALERO-GUTIÉRREZ, C. et al. Zika virus epidemiology: from Uganda to world pandemic, an update. **Epid. Inf.**, v.146, p. 673–679, 2018.

VAN DER LINDEN, V. et al. Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study. **BMJ.** v.354, p. i3899, 2016.

YOUMANS, J.R.; WINN, H.R. **Youmans neurological surgery.** Philadelphia:Elsevier, 2011. p. 81.

**ANEXO 1****DECLARAÇÃO**

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha coautoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas sujeitas a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada "ASSOCIAÇÃO ENTRE FENÓTIPOS DE FRÊNULOS ORAIS, CONTRATURAS CONGÊNITAS E DISFAGIA EM CRIANÇAS COM SÍNDROME CONGÊNITA DO ZIKA VÍRUS", não infringem os dispositivos da Lei nº 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Fortaleza, 31 de maio de 2022.

---

Autora  
Grisielle Mary Ferreira de Sá Cavalcante  
RG n.º

---

Orientadora  
Cristiane Sá Roriz Fonteles  
RG n.º

## ANEXO 2

**APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /

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

**Título da Pesquisa:** Aspectos oro-faciais e fotoantropométricos de bebês acometidos por síndrome congênita do vírus Zika

**Pesquisador:** Cristiane Sá Roriz Fonteles

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 62991316.3.0000.5054

**Instituição Proponente:** Departamento de Clínica Odontológica

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.041.089

**Apresentação do Projeto:**

Projeto de pesquisa da Profa. Cristiane Sá Roriz Fonteles pautado nas possíveis alterações orofaciais advindas da microcefalia e malformações neurológicas, associadas à infecção pelo ZIKA vírus. Tem por objetivo levantar os aspectos oro-faciais e fotoantropométricos que caracterizem bebês acometidos pela síndrome congênita do vírus Zika ao comparar com bebês não acometidos. A amostra será composta por 64 bebês comprovadamente com infecção pelo vírus e 64 bebês saudáveis, ambos na faixa etária de 1 a 24 meses, provenientes do Projeto Serviço de Extensão ao Menor Necessitando de Atendimento Especializado (SEMENTE) e da Escola Municipal Aprisco da prefeitura Municipal de Fortaleza, respectivamente. Será realizada, em todos os bebês, anamnese para coleta de dados clínicos gerais, de higiene e dieta, seguida de exame clínico para verificação de aspectos extra e intra orais em bebês acometidos ou não pela síndrome congênita do vírus Zika. Aspectos morfológicos e faciais serão registrados através de fotografias, as quais, posteriormente, serão padronizadas em uma câmera fotográfica para análise fotoantropométrica. Os dados serão tabulados e submetidos à análise estatística através do teste ANOVA, T de Student e Regressão logística, sendo considerado os resultados com nível de significância 0,05.

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**CEP:** 60.430-275

**Telefone:** (85)3366-8344

**E-mail:** comape@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 2.041.089

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo primário:

Levantar os aspectos oro-faciais e fotoantropométricos que caracterizem bebês acometidos pela síndrome congênita do vírus Zika ao comparar com bebês saudáveis.

Objetivo Secundário:

(Grupo Zika): - Identificar hábitos e aspectos da cavidade oral como presença de patologias, dentes, freios bucais, palato e rafe palatina; - Avaliar registros diferenciados dos aspectos faciais e morfológicos.

(Grupo controle):- Identificar hábitos e aspectos da cavidade oral como presença de patologias, dentes, freios bucais, palato e rafe palatina; - Identificar aspectos faciais e morfológicos a partir de registro fotográfico em bebês saudáveis.

Ao final das duas fases busca-se:- Comparar estatisticamente as variáveis oro-faciais e as fotoantropométricas identificadas nos bebês não acometidos e acometidos pela síndrome congênita do vírus Zika.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

A pesquisa é de baixo risco, podendo haver apenas desconforto do bebê e existindo uma possibilidade do mesmo goífar ao exame da língua.

Quanto aos benefícios destaca-se que o responsável pelo bebê terá conhecimento sobre a saúde oral do mesmo e caso o bebê precise de algum tratamento dentário, o mesmo receberá gratuitamente na Clínica de Odontopediatria da Universidade Federal do Ceará, em dias e horários previamente agendados.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de estudo tipo caso-controle, respeitando-se idade e sexo dos bebês, onde poderão ser identificadas as possíveis alterações bucais e/ou ósseas da região orofacial associadas à síndrome congênita do ZIKA vírus. Estes dados poderão orientar para a necessidade de se incluir avaliação e acompanhamento odontológico destes pacientes.

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

A pesquisadora apresentou a este comitê: projeto de pesquisa, folha de rosto preenchida e assinada pelo chefe do DCO, carta de encaminhamento, orçamento, cronograma especificado, declaração de concordância dos pesquisadores, TCLE versão 2 ajustado, autorizações da Creche

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Tedillo

UF: CE

Telefone: (85)3366-8344

Município: FORTALEZA

CEP: 60.430-275

E-mail: comape@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Parecer: 2.041.009

Aprisco da PMF, do Projeto SEMENTE e da Clínica de Odontopediatria devidamente assinadas pelos responsáveis legais e currículo lattes da pesquisadora principal.

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

Sem pendências éticas nem documentais, s.j.c.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_841563.pdf	06/04/2017 11:25:23		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_SEMENTE001.pdf	06/04/2017 11:24:01	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_ODONTOPEDIATRIA001.pdf	06/04/2017 11:23:47	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AUTORIZACAO_DA_INSTITUICAO_Aprisco_corrigida.pdf	06/04/2017 11:23:01	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Cronograma	Cronograma_corrigido.pdf	06/04/2017 11:22:39	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_PESQUISADORES_NO_VOMODELO_corrigido.pdf	06/04/2017 11:22:26	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_ZIKA_corrigido.pdf	06/04/2017 11:22:04	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE-versao_2.pdf	06/04/2017 11:21:37	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Doutros	CARTAAPRCEPUFCZIKA.pdf	13/12/2016 13:00:46	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Folha de Rosto	FOLHADEROSTON.pdf	13/12/2016 12:57:45	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito
Orçamento	Declaracao_orcamento_assinada.pdf	12/12/2016 21:26:27	Cristiane Sá Roriz Fonteles	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-275

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

E-mail: conep@ufc.br

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



Continuação do Protocolo: 2.041.089

FORTALEZA, 02 de Maio de 2017

---

**Assinado por:**  
**FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000  
**Bairro:** Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-275  
**UF:** CE **Município:** FORTALEZA  
**Telefone:** (85)3366-8344 **E-mail:** [comape@ufc.br](mailto:comape@ufc.br)

## ANEXO 3

**INSTRUÇÕES PARA AUTORES DO PERIÓDICO INTERNATIONAL JOURNAL  
OF PAEDIATRIC DENTISTRY**

**INTERNATIONAL JOURNAL OF  
PAEDIATRIC DENTISTRY**

## Author Guidelines

### Sections

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

### 1. SUBMISSION AND PEER REVIEW PROCESS

New submissions should be made via the Research Exchange submission portal <https://wiley.atyponrex.com/journal/IPD>. Should your manuscript proceed to the revision stage, you will be directed to make your revisions via the same submission portal. You may check the status of your submission at anytime by logging on to [submission.wiley.com](https://submission.wiley.com) and clicking the "My Submissions" button. For technical help with the submission system, please review our FAQs or contact [submissionhelp@wiley.com](mailto:submissionhelp@wiley.com).

**WILEY**

**The Changing Landscape  
of Scientific Publishing**

A free webinar presented by  
**Donald Chi**, Editor-in-Chief  
*International Journal of Pediatric Dentistry*

Watch



 **28th  
Congress  
of the IAPD**

Data protection

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

### Preprint policy

[Please find the Wiley preprint policy here.](#)

This journal accepts articles previously published on preprint servers.

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

For help with submissions, please contact: [IJPDedoffice@wiley.com](mailto:IJPDedoffice@wiley.com)

## 2. AIMS AND SCOPE

*International Journal of Paediatric Dentistry* publishes papers on all aspects of paediatric dentistry including: growth and development, behaviour management, diagnosis, prevention, restorative treatment and issue relating to medically compromised children or those with disabilities. This peer-reviewed journal features scientific articles, reviews, case reports, short communications and abstracts of current paediatric dental research. Analytical studies with a scientific novelty value are preferred to descriptive studies. Case reports illustrating unusual conditions and clinically relevant observations are acceptable but must be of sufficiently high quality to be considered for publication; particularly the illustrative material must be of the highest quality.

## 3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

### i. Original Articles

Divided into: Summary, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Bullet points, Acknowledgements, References, Figure legends, Tables and Figures arranged in this order. 3500 word limit, with an exception of qualitative papers which allow a 5000 word limit.

- **Summary** should be structured using the following subheadings: Background, Hypothesis or Aim, Design, Results, and Conclusions and should be less than 200 words.
- **Introduction** should be brief and end with a statement of the aim of the study or hypotheses tested. Describe and cite only the most relevant earlier studies. Avoid presentation of an extensive review of the field.
- **Material and methods** should be clearly described and provide enough detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary repeated. Use section subheadings in a logical order to title each category or method. Use this order also in the results section. Authors should have considered the ethical aspects of their research and should ensure that the project was approved by an appropriate ethical committee, which should be stated. Type of statistical analysis must be described clearly and carefully.
- **Results** should clearly and concisely report the findings, and division using subheadings is encouraged. Double documentation of data in text, tables or figures is not acceptable. Tables and

figures should not include data that can be given in the text in one or two sentences.

- **Discussion** section presents the interpretation of the findings. This is the only proper section for subjective comments and reference to previous literature. Avoid repetition of results, do not use subheadings or reference to tables in the results section.
- **Bullet Points:** Authors will need to provide no more than 3 'key points' that summarise the key messages of their paper to be published with their article. The key points should be written with a practitioner audience in mind under the heading:  
\*Why this paper is important to paediatric dentists.

References: Maximum 30.

## ii. Review Articles

May be invited by the Editor.

## iii. Systematic reviews

We consider publishing systematic reviews if the manuscript has comprehensive and unbiased sampling of literature and covering topics related to Paediatric Dentistry.

References: Maximum 30.

Articles for the *International Journal of Paediatric Dentistry* should include: a) description of search strategy of relevant literature (search terms and databases), b) inclusion criteria (language, type of studies i.e. randomized controlled trial or other, duration of studies and chosen endpoints, c) evaluation of papers and level of evidence. For examples see:

Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H et al. Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: a systematic review. *Acta Odontologica Scandinavica* 2003; 61: 347-355.

Paulsson L, Bondemark L, Söderfeldt B. A systematic review of the consequences of premature birth on palatal morphology, dental occlusion, tooth-crown dimensions, and tooth maturity and eruption. *Angle Orthodontist* 2004; 74: 269-279.

## iv. Short Communications

Brief scientific articles or short case reports may be submitted, which should be no longer than three pages of double-spaced text and include a maximum of three illustrations. They should contain important, new, definitive information of sufficient significance to warrant publication. They should not be divided into different parts and summaries are not required.

References: Maximum 30.

## v. Brief Clinical Reports/Case Reports

Short papers not exceeding 800 words, including a maximum of three illustrations and five references may be accepted for publication if they serve to promote communication between clinicians and researchers. If the paper describes a genetic disorder, the OMIM unique six-digit number should be provided for online cross reference (Online Mendelian Inheritance in Man).

A paper submitted as a Brief Clinical/Case Report should include the following:

- a short **Introduction** (avoid lengthy reviews of literature);
- the **Case report** itself (a brief description of the patient/s, presenting condition, any special investigations and outcomes);
- a **Discussion** which should highlight specific aspects of the case(s), explain/interpret the main findings and provide a scientific appraisal of any previously reported work in the field.

- **Bullet Points:** Authors will need to provide no more than 3 'key points' that summarise the key messages of their paper to be published with their article. The key points should be written with a practitioner audience in mind under the heading:  
\*Why this paper is important to paediatric dentists.

#### vi. Letters to the Editor

Letters should be no more than 1,500 words, with no more than 10 references. There should be no abstract, tables or figures.

### 4. PREPARING THE SUBMISSION

Before you submit, you will need:

- Your manuscript: this should be an editable file including text, figures, and tables, or separate files – whichever you prefer. All required sections should be contained in your manuscript, including abstract, introduction, methods, and results. Figures and tables should have legends. Figures should be uploaded in the highest resolution possible. References may be submitted in any style or format, as long as it is consistent throughout the manuscript. Supporting information should be submitted in separate files. If the manuscript, figures or tables are difficult for you to read, they will also be difficult for the editors and reviewers, and the editorial office will send it back to you for revision. Your manuscript may also be sent back to you for revision if the quality of English language is poor.
- An ORCID ID, freely available at <https://orcid.org>. (*Why is this important? Your article, if accepted and published, will be attached to your ORCID profile. Institutions and funders are increasingly requiring authors to have ORCID IDs.*)
- The title page of the manuscript, including:
  - Your co-author details, including affiliation and email address. (*Why is this important? We need to keep all co-authors informed of the outcome of the peer review process.*)
  - Statements relating to our ethics and integrity policies, which may include any of the following (*Why are these important? We need to uphold rigorous ethical standards for the research we consider for publication*):
    - data availability statement
    - funding statement
    - conflict of interest disclosure
    - ethics approval statement
    - patient consent statement
    - permission to reproduce material from other sources

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

#### Cover Letters

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

#### Parts of the Manuscript

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

#### Title page

The title page should contain:

- A short informative title that contains the major key words. The title should not contain abbreviations

(see Wiley's [best practice SEO tips](#));

- ii. A short running title of less than 50 characters;
- iii. The full names of the authors and a statement of author contributions, e.g. Author contributions: A.S. and K.J. conceived the ideas; K.J. and R.L.M. collected the data; R.L.M. and P.A.K. analysed the data; and A.S. and K.J. led the writing;
- iv. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
- vi. Acknowledgments;
- vii. Word count (excluding tables)

### **Authorship**

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

### **Acknowledgments**

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

### **Conflict of Interest Statement**

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

### **Main Text File**

As papers are double-blind peer reviewed the main text file should not include any information that might identify the authors.

The main text file should be presented in the following order:

- i. Title, abstract and key words;
- ii. Main text;
- iii. References;
- iv. Tables (each table complete with title and footnotes);
- v. A clinical trial registration number should be provided (when relevant)
- vi. Figure legends;
- vii. Appendices (if relevant).

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

### **Abstract**

Abstracts and keywords are required for some manuscript types. For details on manuscript types that require abstracts, please refer to the 'Manuscript Types and Criteria' section.

### **Keywords**

Please provide 3-6 keywords. Keywords should be taken from the list provided at submission in ScholarOne.

### **Main Text**

- As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.
- The journal uses British spelling; however, authors may submit using either option, as spelling of accepted papers is converted during the production process.

### References

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should cite references in consecutive order using Arabic superscript numerals. For more information about AMA reference style please consult the [AMA Manual of Style](#)

Sample references follow:

#### *Journal article*

1. King VM, Armstrong DM, Apps R, Trott JR. Numerical aspects of pontine, lateral reticular, and inferior olivary projections to two paravermal cortical zones of the cat cerebellum. *J Comp Neurol* 1998;390:537-551.

#### *Book*

2. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons; 1990. 1223 p.

#### *Internet document*

3. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2003*.

<http://www.cancer.org/downloads/STT/CAFF2003PWSecured.pdf> Accessed March 3, 2003

### Tables

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

### Figure Legends

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

### Figures

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

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

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

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

**Data Citation**

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

**Additional Files****Appendices**

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

**Supporting Information**

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

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

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

**Submission of Revised Manuscripts**

Revised manuscripts must be uploaded within 2 months of authors being notified of conditional acceptance pending satisfactory revision. Locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision' to submit your revised manuscript. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript. All revisions must be accompanied by a cover letter to the editor.

Authors should supply their response to reviewers in the field provided for this at the beginning of their submission. The replies should include a) detail on a point-by-point basis the author's response to each of the referee's comments, and b) a revised manuscript highlighting exactly what has been changed in the manuscript after revision.

**Resource Identification Initiative**

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

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

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

**To Obtain Research Resource Identifiers (RRIDs)**

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

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

If any difficulties in obtaining identifiers arise, please contact [rri-help@scicrunch.org](mailto:rri-help@scicrunch.org) for assistance.

#### **Example Citations**

Antibodies: "Wnt3 was localized using a rabbit polyclonal antibody C64F2 against Wnt3 (Cell Signaling Technology, Cat# 27215, RRID: AB\_2215411)"

Model Organisms: "Experiments were conducted in *c. elegans* strain SP304 (RRID:CGC\_SP304)"

Cell lines: "Experiments were conducted in PC12 CLS cells (CLS Cat# 500311/p701\_PC-12, RRID:CVCL\_0481)"

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

#### **Wiley Author Resources**

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

**Article Preparation Support:** [Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence.

Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

**Guidelines for Cover Submissions:** If you would like to send suggestions for artwork related to your manuscript to be considered to appear on the cover of the journal, please follow these [general guidelines](#).

## **5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS**

### **Peer Review and Acceptance**

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

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is [available here](#).

### **Human Studies and Subjects**

For manuscripts reporting medical studies that involve human participants, a statement identifying the ethics committee that approved the study and confirmation that the study conforms to recognized

standards is required, for example: [Declaration of Helsinki](#); [US Federal Policy for the Protection of Human Subjects](#); or [European Medicines Agency Guidelines for Good Clinical Practice](#). It should also state clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study.

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

### Animal Studies

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

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

### Clinical Trial Registration

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A clinical trial registration number should be provided in the title page. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material under "Supplementary Files for Review".

If your study is a randomized clinical trial, you will need to fill in all sections of the CONSORT Checklist. If your study is not a randomized trial, not all sections of the checklist might apply to your manuscript, in which case you simply fill in N/A.

All prospective clinical trials which have a commencement date after the 31st January 2017 must be registered with a public trials registry: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <http://clinicaltrials.jpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper.

### Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. The guidelines listed below should be followed where appropriate and where applicable, checklists, and flow diagrams uploaded with your submission; these may be published alongside the final version of your paper.

- **Observational studies:** [STROBE](#) checklists for cohort, case-control, and cross-sectional studies, either individual or combined
- **Systematic reviews:** [PRISMA](#)
- **Meta-analyses of observational studies:** [MOOSE](#)

- [Case reports](#) : [CARE](#)
- [In vitro studies](#): [CRIS](#)
- [Qualitative research](#) : [COREQ](#)
- [Diagnostic / prognostic studies](#) : [STARD](#)
- [Quality improvement studies](#) : [SQUIRE](#)
- [Economic evaluations](#) : [CHEERS](#)
- [Animal pre-clinical studies](#) : [ARRIVE](#)
- [Study protocols](#) : [SPIRIT](#)
- [Clinical practice guidelines](#) : [AGREE](#)

The [Equator Network](#) (Enhancing the Quality and Transparency Of Health Research) provides a comprehensive list of reporting guidelines.

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

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

### Sequence Data

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

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

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

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

### Structural Data

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

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

### **Conflict of Interest**

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

It is the responsibility of the corresponding author to have all authors of a manuscript fill out a conflict of interest disclosure form, and to upload all forms together with the manuscript on submission. Please find the form below:

#### **[Conflict of Interest Disclosure Form](#)**

The form above does not display correctly in the browsers. If you see an error message starting with "Please wait...", we recommend that you download the file to your computer. Saving a local copy on your computer should allow the form to work properly.

### **Funding**

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

### **Authorship**

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; and
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

**Additional Authorship Options.** Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. 'X and Y should be considered joint first author' or 'X and Y should be considered joint senior author.'

### **Data Sharing and Data Accessibility**

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

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

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

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

### Publication Ethics

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

### ORCID

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

## 6. AUTHOR LICENSING

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

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

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

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

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

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

**Reproduction of Copyright Material:** If excerpts from copyrighted works owned by third parties are

included, credit must be shown in the contribution. It is the author's responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit Wiley's Copyright Terms & Conditions FAQ at [http://exchanges.wiley.com/authors/faqs--copyright-terms--conditions\\_301.html](http://exchanges.wiley.com/authors/faqs--copyright-terms--conditions_301.html)

## 7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

### Accepted article received in production

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

### Accepted Articles

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

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

### Proofs

Authors will receive an e-mail notification with a link and instructions for accessing HTML page proofs online. Page proofs should be carefully proofread for any copyediting or typesetting errors. Online guidelines are provided within the system. No special software is required, most common browsers are supported. Authors should also make sure that any renumbered tables, figures, or references match text citations and that figure legends correspond with text citations and actual figures. Proofs must be returned within 48 hours of receipt of the email. Return of proofs via e-mail is possible in the event that the online system cannot be used or accessed.

### Early View

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

## 8. POST PUBLICATION

### Access and sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.

- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

#### **Promoting the Article**

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

#### **Article Promotion Support**

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

#### **Measuring the Impact of an Article**

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with [Kudos](#) and [Altmetric](#).

#### **Wiley's Author Name Change Policy**

In cases where authors wish to change their name following publication, Wiley will update and republish the paper and redeliver the updated metadata to indexing services. Our editorial and production teams will use discretion in recognizing that name changes may be of a sensitive and private nature for various reasons including (but not limited to) alignment with gender identity, or as a result of marriage, divorce, or religious conversion. Accordingly, to protect the author's privacy, we will not publish a correction notice to the paper, and we will not notify co-authors of the change. Authors should contact the journal's Editorial Office with their name change request.

#### **9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS**

For queries about submissions, please contact [JJPOedoffice@wiley.com](mailto:JJPOedoffice@wiley.com)

*Author Guidelines Updated 08 February 2021*