



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

EMERSON DIAS PONTE

**AVALIAÇÃO DE CONTROLE METABÓLICO, PERFIL DE PROTEÍNAS TOTAIS
SALIVARES E ÍNDICES DE PLACA E GENGIVAL EM CRIANÇAS COM E SEM
DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE E
PROSPECTIVO**

FORTALEZA

2017

EMERSON DIAS PONTE

**AVALIAÇÃO DE CONTROLE METABÓLICO, PERFIL DE PROTEÍNAS TOTAIS
SALIVARES E ÍNDICES DE PLACA E GENGIVAL EM CRIANÇAS COM E SEM
DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE E
PROSPECTIVO**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro

FORTALEZA

2017

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)

- P857a Ponte, Emerson Dias.
Avaliação de controle metabólico, perfil de proteínas totais salivares e índices de placa e gengival em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1 : um estudo caso-controle e prospectivo / Emerson Dias Ponte. – 2017.
78 f. : il.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro.
1. Diabetes Mellitus Tipo 1. 2. Criança. 3. Saliva. 4. Proteínas. 5. Gengivite. I. Título.
- CDD 617.6
-

EMERSON DIAS PONTE

**AVALIAÇÃO DE CONTROLE METABÓLICO, PERFIL DE PROTEÍNAS TOTAIS
SALIVARES E ÍNDICES DE PLACA E GENGIVAL EM CRIANÇAS COM E SEM
DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE E
PROSPECTIVO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Odontologia.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Cláudia Ferreira Santos
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Dedico esse trabalho à minha mãe Dulce e ao
meu pai Adalmir.

AGRADECIMENTOS

A Deus que, de maneiras tão misteriosas quanto incríveis, ajudou-me a chegar até aqui.

Aos meus pais Dulce e Adalmir, por todo amor e empenho em minha educação, para que eu crescesse tanto profissionalmente quanto como ser humano.

À minha irmã Dulcemir, pelo amor, presença e apoio constantes.

À minha orientadora Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro. Primeiramente, pelo exemplo de profissional que, com sua capacidade de organização, competência e esmero em tudo o que faz, inspira todos que convivem com ela. Agradeço também por toda a parceria profissional que se iniciou desde os meus tempos de graduação e se tornou mais sólida agora no Mestrado. Pela confiança e por todos os ensinamentos, correções - quando necessárias - e lições, meu muito obrigado.

À Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles, grande mentora científica dos nossos trabalhos, por todos esses anos de aprendizado, por proporcionar que eu convivesse com tantos profissionais qualificados, por despertar em mim o amor pela pesquisa científica, por viabilizar a análise estatística desse estudo e por ter aceito o convite para compor esta banca de dissertação.

À Profa. Dra. Cláudia Ferreira dos Santos, por permitir a realização deste trabalho no Laboratório de Farmacologia Cardiovascular e Celular, na Universidade Estadual do Ceará, por me receber sempre de maneira solícita quando dúvidas surgiram, pelo exemplo de profissional e, por generosamente, ter aceito o convite para compor essa banca.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará que, em algum momento, contribuíram com ensinamentos que contribuíram para a minha formação profissional.

Às funcionárias do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Lúcia e Janaíne, pela atenção em me ajudar sempre que solicitei.

À mestrandia Renata Asfor, pela parceria nesses dois anos desenvolvendo comigo esta pesquisa, pelo trabalho em sintonia sem a qual seria muito mais difícil ter conduzido e concluído.

Ao mestrando e colega de turma Felipe Marçal, pela amizade, presteza e pelos momentos compartilhados nessa trajetória.

À Jordana Severiano, pela parceria e competência em ajudar a conduzir esta pesquisa como aluna de Iniciação Científica.

Aos colegas Rebeca Bastos, Francisco César e a todos os integrantes do Projeto SEMENTE, pelo companheirismo do nosso grupo de extensão e pesquisa.

Aos participantes deste estudo, crianças diabéticas e não-diabéticas, e aos seus responsáveis, que possibilitaram a existência do mesmo. Grato pela convivência e experiências compartilhadas no decorrer deste 1 ano e meio. Espero ter feito alguma diferença para melhorar a vida de vocês.

Aos afetos, tão importantes e que caminham comigo fora do ambiente profissional. Em especial ao Roberto Jorge (*in memoriam*), que no início desta pesquisa sempre me motivava em meio às dificuldades e anseios, e que hoje, em um lugar bem melhor, creio que torce e comemora esta vitória. E, a todos os meus amigos, que não conseguiria citar algum sem cometer injustiças, por todo o apoio e presença e cuidado comigo no decorrer da minha vida, importantes também para que se tenha êxito profissional.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram muito para a realização deste trabalho e que, injustamente, não foram citados.

“Não é o que você faz, mas quanto amor você dedica no que faz que realmente importa.”

Agnes Gonxha Bojaxhiu
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) se caracteriza por uma deficiência na secreção de insulina, tendo como causa a destruição das células beta pancreáticas e que tem a hiperglicemia como achado clínico principal. As doenças periodontais se caracterizam como a sexta complicação do Diabetes Mellitus (DM). Um mau controle a longo prazo do DM1 provoca danos ao periodonto, e um quadro crônico de inflamação na região periodontal pode prejudicar o controle metabólico do Diabetes. Concentração de proteínas totais também pode sofrer alterações devido ao DM1. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar, longitudinalmente, o perfil de proteínas totais salivares, o controle metabólico e os índices de placa e gengival em crianças com DM1. Foram recrutados 39 participantes para o grupo com DM1 (CDM1) e 56 para formar o grupo controle sem DM1 (SDM1). A coleta de dados ocorreu em 3 períodos pré-determinados: consulta inicial (T0) e após 6 e 12 meses da consulta inicial (T6, T12, respectivamente). O controle metabólico foi avaliado por meio dos testes de glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e hemoglobina glicada. A condição gengival foi avaliada através do índice de placa e gengival. Uma amostra de saliva foi coletada para cada participante. Em seguida, foram mantidas, transportadas, centrifugadas e armazenadas adequadamente até análise. Concentração total de proteínas foi determinada pelo método do Ácido Bicinocínico (BCA). Observou-se na totalidade dos participantes, entre o período T0 e T6, um aumento nas médias de glicemia pós-prandial (T0:135,1; T6:176,5; p=0); um decréscimo do índice de placa (T0: 0,31; T6:0,24; p = 0,01) e, também, um decréscimo da concentração de proteínas totais (T0: 1,06; T6: 0,91; p = 0,03). O grupo CDM1 (Média: 0,32 ± 0,36) apresentou índices de placa maiores que o grupo SDM1 (Média: 0,18 ± 0,14) tanto no período T6 (p = 0,04) quanto no período T12 (p = 0,02). Em conclusão, pacientes diabéticos apresentam maiores índices de placa quando comparados a pacientes saudáveis. Comparando-se o período T0 e T6, sugere-se uma relação entre as variáveis glicemia pós-prandial, índice de placa e concentração de proteínas totais, a ser confirmada em futuras análises mais específicas.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus Tipo 1. Criança. Saliva. Proteínas. Gengivite.

ABSTRACT

Diabetes mellitus type 1 (DM1) is characterized by a deficiency in insulin secretion, caused by the destruction of pancreatic beta cells and the existence of hyperglycemia as the main clinical finding. Periodontal diseases are characterized as the sixth complication of Diabetes Mellitus (DM). Poor long-term control of DM1 causes periodontal damage, and a chronic inflammation of the periodontal region may impair metabolic control of diabetes. Total protein concentration may also change due to the DM1. Thus, the aim of this study was to longitudinally evaluate the total salivary protein profile, metabolic control, and plaque and gingival indices in children with DM1. A total of 39 participants were recruited for the DM1 (CDM1) and 56 patients to form the control group without DM1 (SDM1). Data were collected in 3 pre-determined periods: initial consultation (T0) and after 6 and 12 months of initial consultation (T6, T12, respectively). Metabolic control was assessed by means of tests of fasting glycemia, postmeal glycemia and glycated hemoglobin. The gingival condition was evaluated through plaque and gingival index. A sample of saliva was collected for each participant. They were, then maintained, transported, centrifuged and stored appropriately for analysis. Total protein concentration was determined by the Bincicocinic Acid (BCA) method. There was an increase in the postmeal glycemia averages (T0: 135.1, T6: 176.5, $p = 0$) in the total number of participants, between the period T0 and T6; (T0: 0.31, T6: 0.24, $p = 0.01$) and also a decrease in the total protein concentration (T0: 1.06, T6: 0.91, $p = 0.03$). The CDM1 group (Mean: 0.32 ± 0.36) had plaque indexes higher than the SDM1 group (Mean: 0.18 ± 0.14) in both the T6 period ($p = 0.04$) and the T12 period ($p = 0.02$). In conclusion, diabetic patients have higher plaque indexes when compared to healthy patients. When compared to the period T0 and T6, it is suggested a relationship between the variables postmeal glycemia, plaque index and total protein concentration, to be confirmed in future more specific analyzes.

Keywords: Type 1 Diabetes Mellitus. Child. Saliva. Proteins. Gingivitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Fluxograma metodológico do estudo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de controle metabólico do grupo CDM1 nos períodos T0, T6 e T12.

Tabela 2: Concentração de proteínas totais dos grupos estudados nos períodos T0, T6 e T12.

Tabela 3: Parâmetros gengivais dos grupos estudados nos períodos T0, T6 e T12.

Tabela 4: Comparações das variáveis pareadas por período. Teste t para variáveis dependentes ($p < 0,05$).

Tabela 5: Comparação entre os grupos CDM1 e SMD1 em relação às variáveis concentração de proteínas totais, índice de placa e índice gengival no período T0. Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$).

Tabela 6: Comparação entre os grupos CMD1e SDM1 em relação às variáveis glicemia em jejum, concentração de proteínas totais, índice de placa e gengival no período T6. Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$).

Tabela 7: Comparação entre os grupos SDM1 E CDM1 em relação às variáveis glicemia em jejum, hemoglobina glicada, concentração de proteínas totai, índices de placa e gengival no período T12. Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCA	Método do Ácido Bicinconínico
BSA	Albumina de Soro Bovino
CDM1	Com Diabetes Mellitus tipo 1
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CIDH	Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
ELISA	Ensaio imunoenzimático ligado a enzimas
FFOE	Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem
HbA1C	Hemoglobina Glicada
HIV/AIDS	Vírus da Imunodeficiência Humana / Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
LADA	Diabetes Latente Autoimune do Adulto
OMS	Organização Mundial de Saúde
SDM1	Sem Diabetes Mellitus tipo 1
SPSS	Software Statistical Package For The Social Sciences
T0	Consulta inicial
T6	Consulta seis meses após a inicial
T12	Consulta doze meses após a inicial
UFC	Universidade Federal do Ceará
UECE	Universidade Estadual do Ceará
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	22
2. PROPOSIÇÃO	26
2.1. Objetivo Geral	26
2.2. Objetivos Específicos	26
3. CAPÍTULOS	27
3.1. Capítulo 1: Avaliação de controle metabólico, perfil de proteínas totais salivares e índices de placa e gengival em crianças com e sem Diabetes mellitus tipo 1: um estudo caso-controle e prospectivo	28
4. CONCLUSÕES GERAIS	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	57
APÊNDICE B: Ficha de Anamnese	60
APÊNDICE C: Ficha de exame para avaliação da saúde gengival (parte I)	62
APÊNDICE D: Ficha de exame para avaliação da saúde gengival (parte II).....	63
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética	64
ANEXO B – Instruções para autores da revista “ International Journal of Paediatric Dentistry”.....	67

1. INTRODUÇÃO GERAL

Diabetes Mellitus (DM) caracteriza-se por um grupo de doenças metabólicas que têm a hiperglicemia como achado clínico em comum (RODEN, 2016). Existem inúmeras classificações para o DM: Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1), descrito como uma deficiência na secreção de insulina, geralmente absoluta, que tem como causa a destruição imunologicamente mediada das células beta pancreáticas. Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), uma desordem da ação da insulina (resistência à mesma), o que leva a um aumento da produção do referido hormônio para manter a glicose em níveis normais. Quando isso não é mais possível, surge a doença (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

Um tipo intermediário identificado foi o Diabetes Latente Autoimune do Adulto (LADA), em que pacientes com DM2 desenvolvem um processo autoimune de perda da secreção da insulina que se dá, porém, de forma lenta. Outra classificação é o Diabetes Gestacional, uma condição geralmente temporária, que acomete cerca de 7% das gestantes e se caracteriza por uma redução da tolerância à glicose nesse grupo de pacientes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2015).

Outros tipos específicos de DM têm como causas: doenças do pâncreas exócrino (pancreatite, trauma, cirurgia, tumores, hemocromatose, fibrose cística), doenças endócrinas (síndrome de Cushing, acromegalia), uso de medicamentos (glicocorticóides, terapia para HIV / AIDS), defeitos genéticos da secreção ou da ação da insulina, outras síndromes genéticas (síndrome de Turner), infecções (Rubéola) e formas raras de diabetes mediadas de forma autoimune (KERNER & BRÜCKEL, 2011).

Em diversos países, o DM1 é a doença crônica de maior prevalência em populações com menos de 18 anos de idade, apesar de não existir dados confiáveis disponíveis em muitos desses países (KRZEWSKA & BEM-SKOWRONEK, 2016). No mundo, existem cerca de 415 milhões de diabéticos. Desse valor, um total de 542.000 crianças apresentam DM1. No Brasil, o número total de diabéticos chega à proximidade de 14,3 milhões, com cerca de metade desse valor ainda sem diagnóstico. Desse valor, um total de 30.900 crianças apresentam DM1 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015).

Crianças com DM1 podem apresentar complicações severas a longo prazo tais como retinopatia, nefropatia, dislipidemia, dentre outras (BARKER et al., 2005; ABDULJABBAR et al., 2010). O impacto do DM1 em crianças, pais e outros membros da família pode ser

significativo devido à natureza invasiva e complexa do manejo da doença (HUMMEL et al, 2007).

Com relação às manifestações orais, as que são mais frequentemente observadas na cavidade oral em pacientes com DM1 são o aumento dos índices de cárie dentária (HINTAO et al., 2007; LAMSTER et al., 2008), maior prevalência e severidade de doença periodontal (LU & YANG, 2004; CAMPUS et al., 2005; LIM et al., 2007), deficiência em processos de cicatrização e reparo teciduais, síndrome de ardência bucal, disfunção no fluxo salivar e infecções oportunistas (SOUTHERLAND, TAYLOR, OFFENBACHER, 2005; KHADER et al., 2006).

A alta prevalência de alterações da mucosa oral em pacientes com diabetes tem sido discutida na literatura, no entanto, não há consenso quanto ao fato dessas alterações, em pacientes diabéticos, serem detectadas com maior frequência do que em pacientes sem diabetes (QUIRINO, BIRMAN, PAULA, 1995; GUGGENHEIMER et al., 2000). Entre as condições de desenvolvimento, observa-se uma maior prevalência de língua fissurada e língua geográfica (FARMAN, 1973; LÖE, 1993).

Quanto a infecções fúngicas, é evidente uma maior prevalência de agravos em pacientes com diabetes, como glossite romboide, especialmente mediana, estomatite protética, queilite angular e candidíase pseudomembranosa (ALBRECHT et al., 1992). Em relação às doenças potencialmente malignas, alguns autores encontraram uma possível associação entre diabetes e leucoplasia, eritroplasias e líquen plano (MATTSON & CERUTIS, 2001; UJPÁL et al., 2004). No entanto, outros estudos não demonstraram essa associação nem encontraram uma influência do diabetes sobre a duração, distribuição ou tipo de lesão (CHRISTENSEN et al., 1977; VAN DIS & PARKS, 1995).

As doenças periodontais se caracterizam como a sexta complicação do DM (LOWE, 2001), e se descrevem como um grupo de doenças inflamatórias que afetam o sistema periodontal, composto pela gengiva, pelo ligamento periodontal, osso alveolar e cemento. A gengivite é uma doença periodontal caracterizada por uma inflamação gengival. Seus sinais clínicos são vermelhidão e edema do tecido gengival, sangramento à palpação ou espontâneo, alterações no contorno gengival e presença de placa bacteriana associada ou não à presença também de cálculo dentário, sem evidências radiográficas de perda óssea na região de crista alveolar (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 2000).

No DM1, a hiperglicemia crônica induz à formação de proteínas glicosiladas e lipídios biologicamente ativos que promovem respostas inflamatórias (IACOPINO, 2001;

VERMA, 2004). Um mau controle a longo prazo do DM1 provoca danos microvasculares no periodonto, alterações na composição do fluido crevicular gengival e reparo tecidual do periodonto deficiente. Aumento dos níveis de marcadores inflamatórios como a proteína C-reativa, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), IL-1, prostaglandina E2, e IL-10, observados em pacientes com diabetes, podem desempenhar um papel importante em danos ao periodonto (MEALEY & OCAMPO, 2000).

Em alguns casos, inflamação e sangramento gengival ocorrem já na primeira infância, tendendo a evoluir em severidade até a adolescência (XAVIER et al, 2009; ORLANDO et al., 2010). Por outro lado, a inflamação crônica, característica da doença periodontal, pode induzir algum grau de resistência à insulina, prejudicando o controle metabólico do Diabetes (LALLA et al., 2006; LUCZAJ-CEPOWICZ, MARCZUK-KOLADA & WASZKIE, 2006).

Índice de Placa (SILNESS; LÖE, 1964) e índice gengival (LÖE; SILNESS, 1963) são parâmetros desenvolvidos para aferir risco, presença e severidade de gengivite. Nos estudos de Faulconbridge et al. (1981), Goteiner et al. (1986) e Gujjar et al. (2011), foi observado um maior índice de placa dentária em crianças diabéticas comparadas a controles não diabéticos. Com relação à gengivite, tem sido demonstrado que pacientes diabéticos apresentam maiores índices gengivais (RAFATJOU et al., 2016). Em crianças, tem sido estabelecido que as diabéticas apresentam maiores índices gengivais que as saudáveis, mesmo com índices de placa semelhantes (DE POMMEREAU et al., 1992).

O fluxo e a concentração de proteínas totais salivares também podem sofrer alterações devido ao DM. A concentração de proteínas totais é significativamente influenciada pelo fluxo salivar, pois tende a aumentar com a diminuição do fluxo, e diminuir simultaneamente ao aumento da secreção salivar. Estudos da concentração de proteínas totais em pacientes diabéticos não apresentam resultados conclusivos. Panchbhai et al. (2010), Carda et al. (2006) e Tenovou et al. (1986) comprovaram uma ausência de diferenças significativas em saliva de adultos com DM1 e DM2. Uma baixa concentração significativa de proteínas em saliva da parótida foi encontrada por Shetty & Pattabiraman (1998) e Mata et al. (2004). Nos estudos de Malicka, Kacksmarek & Skókiwickis-Malinowska (2014), observou-se uma correlação negativa entre fluxo salivar e concentração de proteínas totais.

Poucos estudos têm sido realizados sobre a relação entre diabetes e os primeiros sinais de gengivite ou doença periodontal em crianças, embora este seja um grupo epidemiologicamente relevante dentre os acometidos por DM1. Esse fato deixa muitas lacunas

quanto à compreensão da relação entre os achados orais e o quadro clínico geral desses pacientes.

PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente trabalho foram:

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar, longitudinalmente, o perfil de proteínas totais salivares, o controle metabólico e os índices de placa e gengival em crianças com e sem DM1.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar o perfil proteico total salivar entre crianças com e sem DM1 em T0 (consulta inicial), T6 (após 6 meses da consulta inicial) e T12 (após 12 meses da consulta inicial);
2. Avaliar o controle metabólico por meio da glicemia em jejum, glicose pós-prandial e hemoglobina glicada em crianças com DM1 em T0, T6 e T12;
3. Comparar índices de placa e gengival entre crianças com e sem DM1 em T0, T6 e T12.

3. CAPÍTULO

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 co-autoria do candidato. Por se tratar de pesquisa envolvendo seres humanos, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado sob o protocolo nº 1.020.102, conforme o ofício eletrônico de 19 de abril de 2015 (Anexo A). Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo, contendo artigo redigido de acordo com a revista científica escolhida, conforme descrito abaixo:

“Avaliação de controle metabólico, perfil de proteínas totais salivares e índices de placa e gengival em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1: um estudo caso-controle e prospectivo”

Autores: Emerson Dias Ponte, Renata Asfor Rocha Carvalho Martins, Adriana Costa Forti, Ana Paula Dias Rangel Montenegro, Cláudia Ferreira Santos, Cristiane Sá Roriz Fonteles, Thyciana Rodrigues Ribeiro.

Este artigo seguiu normas de publicação do periódico: *International Journal of Paediatric Dentistry* (ISSN: 1365-263X).

3.1 Capítulo 1

- Contagem de palavras:
- Autores: Emerson Dias Ponte¹, Renata Asfor Carvalho Rocha², Adriana Costa Forti³, Ana Paula Dias Rangel Montenegro⁴, Cláudia Ferreira Santos⁵, Cristiane Sá Roriz Fonteles⁶, Thyciana Rodrigues Ribeiro⁷.

¹Mestrando em Odontologia da Universidade Federal do Ceará

²Mestranda em Odontologia da Universidade Federal do Ceará

³Endocrinologista Diretora do Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão do Estado do Ceará.

⁴Endocrinologista Pediatra, Chefe do Serviço de Endocrinologia Pediátrica do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará.

⁵Doutora, professora adjunta, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

⁶Doutora, professora adjunta, Departamento de Clínica Odontológica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

⁷Doutora, professora adjunta, Departamento de Clínica Odontológica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil

- Correspondência para: Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro, Departamento de Clínica Odontológica / Universidade Federal do Ceará, Rua Monsenhor Furtado, s/n, Rodolfo Teófilo, Fortaleza – CE. Caixa Postal 3229, CEP 60436-160, Fortaleza, Brasil. E-mail: thyciana_odonto@yahoo.com.br.

RESUMO

Objetivos. Avaliar, longitudinalmente, perfil de proteínas totais salivares, controle metabólico e índices de placa e gengival em crianças com e sem Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1).

Metodologia. Foram recrutados 39 participantes para o grupo com DM1 (CDM1) e 56 para o grupo controle sem DM1 (SDM1). Coleta de dados ocorreu em 3 períodos pré-determinados: consulta inicial (T0) e após 6 e 12 meses da consulta inicial (T6, T12, respectivamente). Controle metabólico foi avaliado por meio dos testes de glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e hemoglobina glicada. Condição gengival foi acessada através do índice de placa e gengival. Uma amostra de saliva foi coletada para cada participante. Concentração total de proteínas foi determinada pelo método do Ácido Bicinconínico.

Resultados. Observou-se, entre o período T0 e T6, aumento nas taxas de glicemia pós-prandial ($p=0,00$); decréscimo do índice de placa ($p= 0,01$) e também decréscimo da concentração de proteínas totais ($p=0,03$). O grupo CDM1 apresentou índices de placa maiores que o grupo SDM1 nos períodos T6 ($p=0,04$) e T12 ($p=0,02$).

Conclusão. Pacientes diabéticos apresentam maiores índices de placa quando comparados a pacientes saudáveis. Sugere-se relação entre as variáveis glicemia pós-prandial, índice de placa e concentração de proteínas totais, a ser confirmada em futuras análises.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus Tipo 1. Pré-Escolar. Saliva. Proteínas. Gengivite. Glicemia. Hemoglobina A Glicosilada.

INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença encontrada principalmente em crianças e adolescentes, e representa 5-10% do número total de pacientes com ambos os tipos de diabetes em todo o mundo. A base patológica do DM do tipo 1 é a destruição auto-imune das células β das ilhotas pancreáticas, resultando numa perda parcial ou completa da secreção de insulina, o que gera um quadro de hiperglicemia¹.

Tem sido apontado pela literatura uma maior incidência e gravidade da gengivite e periodontite em crianças e adolescentes com DM1 em comparação com crianças saudáveis². No entanto, os dados disponíveis sobre a influência exclusiva do biofilme dentário no desenvolvimento de gengivite em pacientes com DM1 são contraditórios, pois enquanto em alguns estudos a presença de gengivite em crianças com DM1 não foi relacionada a um maior acúmulo de biofilme dentário³, outros mostram uma correlação significativa entre as mesmas variáveis^{4,5}. Com relação ao índice gengival, também é indicado que crianças diabéticas tendem a ter valores mais elevados comparados a crianças saudáveis².

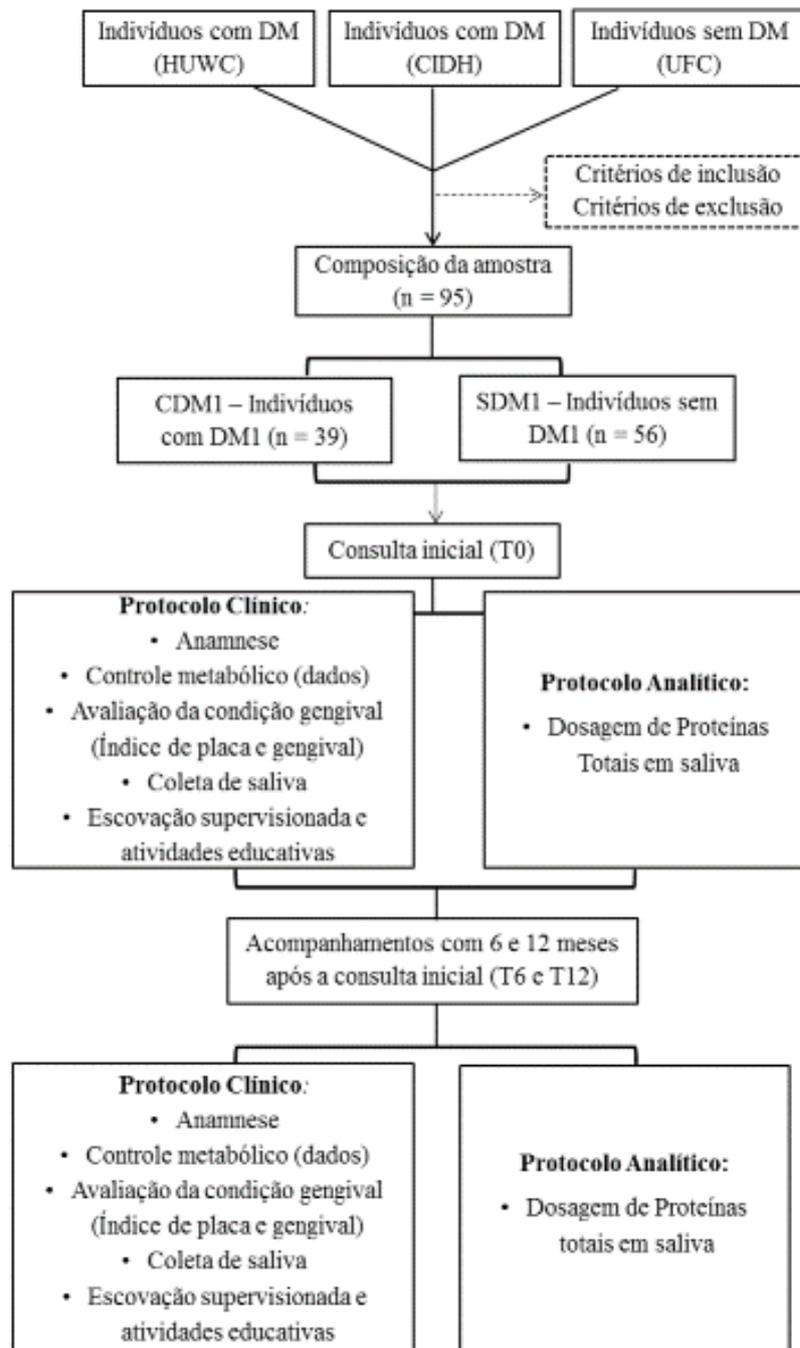
Doenças sistêmicas como o diabetes comprometem a função das glândulas salivares e, conseqüentemente, influenciam a quantidade e a qualidade da saliva produzida⁶. Essas alterações nos componentes químicos e nas propriedades físicas da saliva influenciam no desenvolvimento, sintomas e severidade de muitas doenças da cavidade oral⁷. No entanto, podem também servir como parâmetros de diagnóstico, o que faz com que testes de saliva possam, portanto, ser adicionados ao arsenal de testes complementares⁸. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de proteínas totais salivares, o controle metabólico e os índices de placa e gengival em crianças com e sem DM1.

MATERIAL E MÉTODOS

População e amostra

A população deste estudo foi constituída por indivíduos portadores de DM1 oriundos do setor de Endocrinologia Clínica do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e do Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão (CIDH), ambos situados na cidade de Fortaleza (CE). Baseada nessa população foi composta a amostra formada por voluntários de 2 a 10 anos de idade com DM1 (CDM1). Como meio de caracterizar a presente pesquisa como estudo caso-controle, foram recrutados voluntários saudáveis, sem DM1 (SDM1) com perfil epidemiológico (sexo e idade) semelhante ao dos indivíduos afetados pela doença provenientes do curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará. Um protocolo clínico e um protocolo analítico formaram o desenho metodológico do presente estudo. O recrutamento dos referidos pacientes se deu no período entre julho/2015 e novembro/2015 e o acompanhamento foi feito durante um período de 12 meses. No total, foram recrutados 39 voluntários para o grupo CDM1, e 56 para o grupo SDM1 (Figura 1).

Figura 01: Fluxograma metodológico do estudo.



Protocolo Clínico

Coleta de saliva

A coleta de saliva foi realizada na clínica do CIDH nos pacientes atendidos nesse centro e na clínica de Odontopediatria da UFC nos pacientes provenientes do setor de Endocrinologia Clínica do HUWC e nos pacientes do grupo SDM1. A coleta de saliva foi realizada em T0, T6 e T12. Após conclusão do exame dentário, uma amostra de saliva total não estimulada foi coletada para cada participante, entre 8:00 e 10:00 horas da manhã para reduzir possíveis contribuições circadianas, após um mínimo de 2 horas de jejum (devido ao risco de hipoglicemia no grupo CDM1). Foi solicitado aos responsáveis que os procedimentos rotineiros de higienização da cavidade oral da criança fossem realizados uma hora antes da coleta. O voluntário ficou em repouso durante 30 minutos e, logo após, a saliva foi coletada por meio de uma pipeta plástica tipo Pasteur. A saliva coletada foi armazenada em tubos Eppendorf®. Em seguida, foi adicionado um coquetel inibidor de protease (Sigma, P2714) e essas amostras foram mantidas e transportadas sob gelo para posterior centrifugação a 12.000g por 10 minutos a 4°C, liofilização do sobrenadante e armazenamento a -80°C até análise.

Teste de glicemia em jejum, glicemia pós prandial e HbA1c

O teste de glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e a dosagem de HbA1C sérica foram utilizados para a avaliação do controle metabólico. Nos pacientes do grupo CDM1, esses dados foram coletados na consulta inicial (T0) e em todos os períodos de acompanhamento (T6 e T12). Após a coleta de saliva, nos períodos T0, T6 e T12, foram anotados os dados sobre o teste de glicemia em jejum e glicemia pós-prandial, que foram feitos pelo próprio responsável pelo paciente do grupo CDM1, conforme a rotina do paciente.

O valor da dosagem de HbA1C sérica foi coletado de exames de sangue previamente solicitados pelos Endocrinologistas responsáveis pelo acompanhamento médico desses pacientes, desde que os mesmos tivessem sido realizados no mês da coleta. O teste de glicemia em jejum foi considerado alterado para valores $> 126\text{mg/dL}$. O de glicemia pós-prandial para valores $> 160\text{ mg/dL}$ ⁹.

Em relação à dosagem de hemoglobina glicada, de acordo com os guias para manejo do DM1, indivíduos diabéticos pediátricos com $\text{HbA1C} \leq 8,5\%$ são considerados pacientes com controle metabólico de bom a moderado, enquanto pacientes diabéticos pediátricos com $\text{HbA1C} > 8,5\%$ são considerados pacientes pobremente controlados metabolicamente⁹.

Para os indivíduos do grupo SDM1, foram solicitados em T0, exame hematológico para obtenção de dados sobre glicemia em jejum e dosagem de HbA1C, que foram realizados no HUWC. Por motivos éticos esses exames não foram realizados em T6 e T12 nesses indivíduos do grupo SDM1.

Exames para avaliação de índice de placa e gengival

A condição gengival foi avaliada de acordo com estudo desenvolvido previamente com crianças diabéticas¹⁰ através do índice de placa¹¹ e do índice gengival¹². O índice de placa foi registrado para cada dente em 4 possíveis áreas (disto-vestibular, vestibular, méso-vestibular e lingual). Espelho bucal e explorador foram utilizados após secagem do dente para acessar a placa, sendo cada área classificada em 0 (ausência de placa na área gengival), 1 (placa aderida na margem gengival livre e área adjacente ao dente), 2 (acúmulo moderado de depósitos macios dentro da bolsa gengival e na margem gengival e/ou superfície adjacente ao dente), 3 (abundância de material macio dentro da bolsa gengival e/ou na margem gengival e/ou superfície adjacente ao dente). A soma dos índices de placa de cada dente foi dividida por 4 para a obtenção do índice de placa por dente. O índice de placa por indivíduo foi obtido através

da soma dos índices de placa por dente, seguida de sua divisão pelo número de dentes examinados¹¹.

O índice gengival foi registrado para cada dente em 4 áreas (papila disto-vestibular, margem vestibular, papila méso-vestibular e margem lingual completa). Uma sonda OMS foi utilizada para acessar o potencial de sangramento dos tecidos gengivais. Cada uma das 4 unidades gengivais foi classificada em 0 (ausência de inflamação), 1 (inflamação suave, leve mudança de cor, e leve edema; sem sangramento à palpação), 2 (inflamação moderada, gengiva edemaciada e com aspecto vítreo; sangramento à palpação) ou 3 (inflamação severa, gengiva marcadamente edemaciada e com ulcerações; tendência a sangramento espontâneo). Em cada dente, somando-se os escores do índice gengival obtidos em cada área e dividindo-o em seguida por 4, foi obtido o índice gengival por dente. O escore por indivíduo foi obtido somando-se os escores por dente para, em seguida, dividir pelo número de dentes. Por fim, os escores do índice gengival foram associados a vários graus de gengivite¹².

Escovação supervisionada e atividades educativas

Todos os indivíduos da amostra do estudo receberam escova de dente e creme dental, de mesma marca comercial, bem como instrução de higiene bucal padronizada. Posteriormente todos fizeram escovação supervisionada.

Exames clínicos de controle e tratamento odontológico

Retornos semestrais foram agendados (T6 – após 6 meses da anamnese e T12 – após 12 meses da anamnese) com repetição dos mesmos exames clínicos e coleta de saliva realizados na consulta inicial de forma a se realizar uma avaliação longitudinal dos dados colhidos.

Nos casos em que foram diagnosticadas doenças odontológicas durante os retornos, o devido tratamento foi realizado conforme indicado. Todas as crianças que apresentaram necessidade de tratamento durante o andamento do estudo foram tratadas após o diagnóstico nas clínicas de Odontopediatria do curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, com consultas sendo devidamente agendadas 1 semana após detecção dos agravos, tendo-se o período de 30 dias para a conclusão dos tratamentos.

Protocolo Analítico

Dosagem de proteínas totais salivares pelo método do ácido bicinonínico

A concentração de proteínas totais salivares das alíquotas de saliva foi determinada pelo método BCA, utilizando como padrão uma curva de albumina sérica bovina (BSA). Foi utilizado um kit comercial (PIERCE®) e seguidas as recomendações do fabricante, sendo a solução homogeneizada e lida a uma absorvância de 562 nm através de espectrofotômetro. Os resultados foram calculados baseando-se na curva padrão de BSA.

Análise estatística

Os dados, após coletados, foram tabulados em tabela do *software Microsoft Excel®* versão 2010. Os dados foram submetidos à análise estatística, sendo utilizado para esse fim, o *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versão 20.0, ambiente *Windows®*. Foram utilizadas as estatísticas descritivas (média e desvio padrão) e frequência dos dados. A análise estatística foi realizada utilizando o teste t de Student para variáveis dependentes de um mesmo paciente em períodos diferentes e para variáveis independentes, comparando-se casos e controles em um mesmo período. Também foi utilizado o teste de Levene. O nível de significância estatística adotado para todos os testes foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

No total, participaram do estudo 95 crianças. Desse valor, 39 crianças no grupo CDM1 (21 do sexo feminino – 54%; 18 do sexo masculino – 46%) e 56 crianças no grupo SDM1 (30 do sexo feminino e 26 do sexo masculino). Todos os participantes estavam na faixa etária entre 02 e 10 anos, com uma idade média estimada em $6,95 \pm 2$ anos para o grupo CDM1 e $7,23 \pm 2,15$ para o grupo SDM1.

Os dados sobre as médias referentes a controle metabólico (glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e hemoglobina glicada), dosagem de proteínas totais e parâmetros gengivais (índices de placa e gengival) encontram-se nas tabelas 1, 2 e 3. Em relação aos dados sobre controle metabólico, houve uma dificuldade na coleta no grupo CDM1 porque um número considerável de participantes era proveniente do interior do estado e possuía limitações (como transporte, por exemplo) que impossibilitaram a realização desses exames no período exato das consultas de retorno. No grupo SDM1, por motivos éticos, esses dados foram coletados somente uma vez, em uma das consultas.

Considerando-se apenas o grupo CDM1 para os dados metabólicos, a média de glicemia em jejum foi crescente em T0 (132,95mg/dL), T6 (136,54 mg/dL) e T12 (170,35 mg/dL). A média de glicemia pós-prandial também foi crescente em T0 (134,26 mg/dL), T6 (175,62 mg/dL) e T12 (223,38 mg/dL). A hemoglobina glicada apresentou valores de média decrescentes em T0 (7,58%), T6 (7,36%) e T12 (7,34%) (Tabela 1).

Em relação à concentração de proteínas totais ($\mu\text{g/mL}$), foi observado que o grupo CDM1 teve valores maiores em relação ao grupo SDM1 em todos os períodos estudados: T0 (SDM1: 1,11; CDM1: 1,12); T6 (SDM1: 0,82; CDM1: 1,05) e T12 (SDM1: 0,99; CDM1: 1,13) (Tabela 2). O índice de placa também apresentou valores de média maiores no grupo CDM1 do que no grupo SDM1 em todos os períodos estudados: T0 (SDM1: 0,26; CDM1: 0,36); T6 (SDM1: 0,18; CDM1: 0,32) e T12 (SDM1: 0,19; CDM1: 0,40). O índice gengival apresentou

maiores valores de média no grupo SDM1 nos períodos T0 (SDM1: 0,24; CDM1: 0,18) e T6 (SDM1: 0,27; CDM1: 0,25), porém apresentou maior valor de média no grupo CDM1 no período T12 (SDM1: 0,21; CDM1: 0,32) (Tabela 3).

Comparando-se os períodos T0 e T6 observou-se que as variáveis glicemia pós-prandial ($p = 0,00$), dosagem de proteínas totais ($p = 0,03$) e índice de placa ($p = 0,01$) apresentavam uma diferença estatisticamente significativa. Quando foram comparados os períodos T6 e T12 não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa (Tabela 4).

As comparações entre os grupos SDM1 e CDM1 em relação às variáveis relativas a controle metabólico, dosagem de proteínas totais e condição gengival nos períodos T0, T6 e T12 estão demonstradas nas tabelas 5, 6 e 7, respectivamente. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes no índice de placa ($p = 0,04$) em T6 e em T12 ($p=0,02$).

DISCUSSÃO

O estabelecimento de um controle metabólico por meio de um rigoroso controle glicêmico pode reduzir e retardar, significativamente, complicações do Diabetes Mellitus e melhorar a qualidade de vida dos pacientes¹³. Segundo a *American Diabetes Association*¹⁴, dois padrões estão validados para que pacientes e profissionais possam avaliar o controle glicêmico: automonitoramento de glicemia pelo paciente (glicemia em jejum, glicemia pós-prandial, glicemia antes de dormir) e taxas de HbA1C. Em crianças, recomenda-se que as taxas de HbA1C sejam menores que 7,5% e que, dentro desse intervalo proposto, a glicemia em jejum seja menor que 152 mg/dL e a glicemia pós-prandial seja menor que 180 mg/dL. O presente estudo baseou-se em um desenho longitudinal onde o monitoramento da glicemia dos indivíduos participantes foi realizado através de taxas glicêmicas (em jejum e pós-prandial) e

de HbA1C. Por motivos de comodidade para o paciente, este estudo excluiu a análise de glicemia antes de dormir.

Nesta pesquisa, no momento do recrutamento (T0) de pacientes CMD1, os mesmos apresentaram, em média, valores de glicemia em jejum de 132,95 mg/dL, e 134,26 mg/dL de glicemia pós-prandial, ou seja, estavam em conformidade com as recomendações da ADA. No entanto, em T6 e em T12, tanto glicemia em jejum (T6: 136,54 mg/dL; T12: 170,35 mg/dL) quanto glicemia pós-prandial (T6: 175,62 mg/dL; T12: 223,38 mg/dL) aumentaram de valor médio, chegando a ultrapassar o recomendado em T12. Comparando-se, esses parâmetros nos diferentes períodos desta pesquisa, observou-se um aumento significativo ($p = 0$) de glicemia pós-prandial entre os períodos T0 e T6, divergindo por exemplo dos níveis de hemoglobina glicada, que iniciaram um pouco maior que o recomendado (T0: 7,58%), mas reduziram em T6 (7,36%) e um pouco mais em T12 (7,34%).

Os achados anteriormente descritos podem ser explicados, em parte, pelo fato de que um adequado controle metabólico depende de uma rotina de autocuidado que, muitas vezes, provoca insatisfação na criança diabética¹⁵. O cuidado relacionado à dieta também se constitui em um desafio para as mesmas, que precisam lidar com o desejo de ingerir alimentos ricos em açúcar¹⁶. A busca do adequado controle metabólico envolve, minimamente, o controle da dieta, a realização e manutenção da glicemia capilar e a aplicação da insulina prescrita. Além da correta técnica de aplicação¹⁷, o sucesso deste autocuidado depende da aquisição, anteriormente de materiais como insulina, seringas e agulhas. O não fornecimento ou a falta da insulina nas instituições públicas e a entrega de seringas e agulhas insuficientes para todas as aplicações necessárias são apontados como fatores que inviabilizam o autocuidado e interferem, conseqüentemente, no adequado controle metabólico¹⁸.

Ainda sobre fatores que influenciam o controle metabólico do Diabetes Mellitus, sabe-se que a doença periodontal é uma importante complicação do Diabetes e um manejo

adequado desta patologia resulta em um melhor controle metabólico¹⁹. Com relação à gengivite, o estudo de Siudikiene e colaboradores²⁰ encontrou maior prevalência de gengivite em pacientes jovens CDM1 na Lituânia, o que está de acordo com os estudos de Pinson et al.²¹, em que jovens CDM1 apresentaram maior severidade de gengivite em comparação ao grupo controle pareado por idade. Bissong et al.²² observaram um maior número de casos de gengivites (23,5%) e periodontite (24,8%) em 149 pacientes diabéticos, comparados a indivíduos saudáveis. No presente estudo, embora o grupo CDM1 só tenha apresentado valores médios de índice gengival maiores que o grupo SDM1 (T0: 0,24; T6: 0,27; T12: 0,21) no período T12, essas diferenças não foram estatisticamente significantes ($p = 0,11$).

É bem estabelecido na literatura que a microbiota presente na placa dentária é a principal causadora de doença periodontal. O cálculo dentário é uma forma mineralizada de placa bacteriana que facilita a deposição de mais placa bacteriana e causa inflamação no tecido gengival²³. Neste estudo, os participantes do grupo CDM1 apresentaram índice de placa maior que o grupo SDM1 nos períodos T6 ($p = 0,04$) e T12 ($p = 0,02$); o que converge com a literatura que reporta uma maior tendência que pacientes diabéticos apresentam de acumular maior quantidade de placa bacteriana²⁴. Além disso, houve um decréscimo considerável no índice de placa dos participantes deste estudo entre os períodos T0 e T6 ($p = 0,01$), confirmando que o acesso a atendimento odontológico com fins preventivos e curativos, com instrução de higiene bucal e escovação supervisionada é imprescindível para a minimizar fatores de risco para doenças orais a certo prazo.

A saliva total é uma mistura de secreções das glândulas salivares que contém substâncias derivadas do fluido crevicular gengival, células epiteliais descamadas, restos de alimentos, microorganismos, e produtos derivados do metabolismo microbiano²⁵. Como a estimulação afeta tanto a produção de saliva como a concentração de alguns de seus

componentes⁸, neste estudo, a saliva total não estimulada foi a utilizada para análise em crianças com DM1.

Além disso, o valor diagnóstico da saliva tem sido demonstrado em vários estudos por apresentar, além de precisão e especificidade, menor custo e menor risco de contaminação para profissionais da saúde durante a manipulação das amostras, quando comparada a sangue^{6,7,8}.

Tem sido estabelecido que a composição de saliva total no que diz respeito à amilase salivar, mieloperoxidase, proteínas totais, dentre outros, é similar em pacientes diabéticos e não diabéticos²⁶. No entanto, especificamente com relação à concentração de proteínas totais, os estudos não são conclusivos. O estudo de Yavuzylmaz et al.²⁷, por sua vez, aponta que a concentração de proteínas em pacientes diabéticos é maior que a de pacientes saudáveis, o que é justificado pelos autores como resultado de uma ligação anormal de proteínas séricas à membrana basal das glândulas salivares, que teria sua permeabilidade aumentada no paciente com DM.

Neste estudo, não houve diferenças significantes entre os grupos CDM1 e SDM1 em nenhum dos períodos avaliados (T0: $p=0,96$; T6: $p=0,06$; T12: $p=0,29$). Comparando-se, no entanto, os diferentes períodos, houve uma redução significativa ($p=0,030$) na concentração de proteínas totais nos participantes deste estudo entre T6. Faz-se importante destacar que, junto à concentração de proteínas, o índice de placa também teve um decréscimo ($p=0,01$), enquanto as taxas de glicemia pós-prandial aumentaram ($p=0$). Futuras análises que visem correlacionar essas variáveis são necessárias no sentido de elucidar a interdependência entre controle metabólico, doença periodontal e achados salivares.

REFERÊNCIAS

- 1 American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2015; **25**: suppl. 1.
- 2 Daković D, Mileusnić I, Hajduković Z, Čakić S, Hadži-Mihajlović M. Gingivitis and periodontitis in children and adolescents suffering from type 1 diabetes mellitus. *Vojnosanit Pregl* 2015; **3**:265-273.
- 3 Goteiner D, Vogel R, Deasy M, Goteiner C. Periodontal and caries experience in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Dent Assoc* 1986; **2**:277-279.
- 4 Lalla E, Kaplan S, Chang Sm et al. Periodontal infection profiles in type 1 diabetes. *J Clin Periodontol* 2006; **12**: 855-862.
- 5 Dakovic D, Pavlovic MD. Periodontal disease in children and adolescents with type 1 diabetes in Serbia. *J Periodontol* 2008; **6**: 987-992.
- 6 Lima-Aragão MV, de Oliveira-Junior J de J, Maciel MC, Silva LA, do Nascimento FR, Guerra RN. Salivary profile in diabetic patients: biochemical and immunological evaluation. *BMC Res Notes* 2016; **9**: 103.
- 7 Negrato CA, Tarzia O. Buccal alterations in diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 2010; **2**: 3.
- 8 De Moura SA, De Sousa JM, Lima DF, Negreiros AN, Silva Fde V, da Costa LJ. Burning mouth syndrome (BMS): sialometric and sialochemical analysis and salivary protein profile. *Gerodontology.* 2007; **3**:173-6.
- 9 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes – 2010. *Diabetes Care* 2010, **33**: 1.

- 10 Gujjar Kr, Khadija H, Suleiman Mo, Amith Hv. Gingival health status of 2- to 15-year-old Benghazi children with type-I diabetes mellitus. *J Dent Child (Chic)* 2011; **2**: 96-101.
- 11 Silness J; Löe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; **22**: 121-135.
- 12 Löe H., Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; **21**: 533-551.
- 13 White P, May CL, Lamounier RN, Brestelli JE, Kaestner KH. Defining pancreatic endocrine precursors and their descendants. *Diabetes*. 2008; **3**:654-68.
- 14 American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2017; **27**: 1.
- 15 Miller VG. Health outcomes for persons with diabetes. *Nurse Pract Forum* 1999; **4**:201-203.
- 16 Moreira PL, Dupas G. Living with diabetes: the experience as it is told by children. *Rev Lat Am Enfermagem* 2006; **14**:25-32.
- 17 Dall'Antonia C, Zanetti ML. Insulin self administration in children with diabetes mellitus, type 1. *Rev Lat Am Enfermagem* 2000; **8**:51-58.
- 18 Paro J, Paro D, Vieira MRR. Avaliação da assistência em domicílio à criança portadora do diabetes mellitus tipo 1. *Arquivos de Ciência da Saúde* 2006; **13**: 122-127.
- 19 Lowe H. Diabetes mellitus: implications, costs and issues. *West Indian Med J* 2001; **50**: 1-4.
- 20 Siudikiene J, Maciulskiene V, Dobrovolskiene R, Nedzelskiene I. Oral hygiene in children with type I diabetes mellitus. *Stomatologija* 2005; **7**:24-27.
- 21 Pinson M, Kilo C, Joynes JO et al. Evaluation of a new blood glucose monitoring system with auto-calibration. *Diabetes Technol Ther* 2005; **7**: 283-294.

- 22 Bissong M, Azodo CC, Agbor MA, Nkuo-Akenji T, Fon PN. Oral health status of diabetes mellitus patients in Southwest Cameroon. *Odontostomatol Trop* 2015; **38**: 49-57.
- 23 Carranza FA, Newman MG. Periodontia Clínica. *Ganabara Koogan* 1996; **8 ed**, Rio de Janeiro.
- 24 Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Dis* 2008;**14**:191-203.
- 25 Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;**13**:197-212.
- 26 Tenovuo J, Lehtonen Op, Viikari J, Larjava H, Vilja P, Tuohimaa P. Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Dent Res* 1986; **65**: 62-66.
- 27 Yavuzylmaz E, Yumak O, Akdoğanlı T et al. The alterations of whole saliva constituents in patients with diabetes mellitus. *Aust Dent J* 1996;**41**:193-197.

TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de controle metabólico do grupo CDM1 nos períodos T0, T6 e T12.

EXAME	PÉRIODO	N	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
GLICEMIA EM JEJUM (mg/dL)	T0	22	132,95	65,42
	T6	24	136,54	60,31
	T12	23	170,35	75,31
GLICEMIA PÓS-PRANDIAL (mg/dL)	T0	27	134,26	37,99
	T6	26	175,62	57,38
	T12	21	223,38	126,14
HEMOGLOBINA GLICADA (%)	T0	13	7,58	1,13
	T6	11	7,36	0,88
	T12	11	7,34	0,85

Tabela 2: Concentração de proteínas totais dos grupos estudados nos períodos T0, T6 e T12.

PERÍODOS	CONDIÇÃO	N	MÉDIA ($\mu\text{g/mL}$)	DESVIO PADRÃO
T0	SDM1	55	1,11	0,65
	CDM1	39	1,12	0,65
T6	SDM1	42	0,82	0,4
	CDM1	33	1,05	0,63
T12	SDM1	34	0,99	0,36
	CDM1	24	1,13	0,58

Tabela 3: Parâmetros gengivais dos grupos estudados nos períodos T0, T6 e T12.

EXAMES	PERÍODO	CONDIÇÃO	N	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
ÍNDICE DE PLACA	T0	SDM1	56	0,26	0,24
		CDM1	39	0,36	0,35
	T6	SDM1	44	0,18	0,14
		CDM1	32	0,32	0,36
	T12	SDM1	33	0,19	0,19
		CDM1	25	0,4	0,39
ÍNDICE GENGIVAL	T0	SDM1	56	0,24	0,21
		CDM1	39	0,18	0,19
	T6	SDM1	44	0,27	0,19
		CDM1	32	0,25	0,22
	T12	SDM1	33	0,21	0,21
		CDM1	25	0,32	0,28

Tabela 04: Comparações das variáveis pareadas por período.

VARIÁVEIS	PERÍODOS		VALOR DE p	PERÍODOS		VALOR DE p
	T0	T6		T6	T12	
GLICEMIAEM JEJUM (mg/dL)	139,5 ^a	120,2	0,21	140,9	174,6	0,25
GLICEMIA PÓS-PRANDIAL (mg/dL)	135,1	176,5 ^a	0,00*	176,9 ^a	215,9	0,16
HEMOGLOBINA GLICADA (%)	7,84 ^a	7,88 ^a	0,87	7,55 ^a	7,25	0,13
CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS (µg/mL)	1,06	0,91	0,03*	0,89	1,02	0,05
ÍNDICE DE PLACA	0,31	0,24	0,01*	0,25	0,28	0,45
ÍNDICE GENGIVAL	0,22	0,26	0,06	0,26	0,26	0,9

Teste t para variáveis dependentes ($p < 0,05$)

(*)Valores de p significantes.

^(a)apenas 01 paciente do grupo SDM1 apresentou esse exame.

Tabela 05: Comparação entre os grupos CDM1 e SMD1 em relação às variáveis concentração de proteínas totais, índice de placa e índice gengival no período T0.

VARIÁVEIS	T	df	VALOR DE p
CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS	-0,06	92	0,96
ÍNDICE DE PLACA	-1,62	62	0,11
ÍNDICE GENGIVAL	1,36	93	0,17

Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$).

Tabela 06: Comparação entre os grupos CMD1e SDM1 em relação às variáveis concentração de proteínas totais, índice de placa e gengival no período T6..

VARIÁVEIS	t	df	VALOR DE p
CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS	-1,9	73	0,06
ÍNDICE DE PLACA	-2,12	38	0,04*
ÍNDICE GENGIVAL	0,54	74	0,59

Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$)

(*) Valores de p significantes

Tabela 07: Comparação entre os grupos SDM1 E CDM1 em relação às variáveis concentração de proteínas totais, índices de placa e gengival no período T12.

VARIÁVEIS	t	df	VALOR DE p
CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS	-1,07	35	0,29
ÍNDICE DE PLACA	-2,48	33	0,02*
ÍNDICE GENGIVAL	-1,62	42	0,11

Teste t para variáveis independentes ($p < 0,05$).

(*) Valores de p significantes

CONCLUSÕES:

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que

1. Houve um decréscimo nas taxas de glicemia pós-prandial entre os períodos T0 e T6.
2. O grupo CDM1 apresentou índices de placa maiores que o grupo SDM1 tanto no período T6 como no período T12.
3. Houve um decréscimo do índice de placa nos participantes do estudo entre o período T0 e T6.
4. Houve um decréscimo da concentração de proteínas totais em saliva entre os períodos T0 e T6.

REFERÊNCIAS

ABDULJABBAR M.A.; ALJUBEH J.M.; AMALRAJ A.; CHERIAN M.P. Incidence trends of childhood type 1 diabetes in eastern Saudi Arabia. **Saudi Med J**, v.31, n.4, p. 413-418, 2010.

ALBRECHT M.; BÁNÓCZY J.; DINYA E.; TAMÁS G. JR. Occurrence of oral leukoplakia and lichen planus in diabetes mellitus. **J Oral Pathol Med**, v. 21, n. 8, p. 364-366, 1992.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Parameters of Care Supplement **.Journal of Periodontology**, v. 71, n. 5, suppl., 2000.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 25, suppl. 1, 2015.

CARDA C.; MOSQUERA-LLOREDA N.; SALOM L.; GOMEZ DE FERRARIS M.E.; PEYDRÓ A. Structural and functional salivary disorders in type 2 diabetic patients. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v.11, n. 4, p. 09-14, 2006.

DE POMMEREAU V.; DARGENT-PARÉ C.; ROBERT JJ.; BRION M. Periodontal status in insulin-dependent diabetic adolescents. **J Clin Periodontol**, v. 19, n. 9, p. 628-632, 1992.

FAULCONBRIDGE A.R.; BRADSHAW W.C.; JENKINS P.A.; BAUM J.D. The dental status of a group of diabetic children. **Br Dent J**, v. 151, n. 8, p. 253-258, 1981.

GOTEINER D.; VOGEL R.; DEASY M.; GOTEINER C. Periodontal and caries experience in children with insulin-dependent diabetes mellitus. **J Am Dent Assoc**, v. 113, n.2, p. 277-279, 1986.

GUGGENHEIMER J.; MOORE P.A.; ROSSIE K.; MYERS D.; MONGELLUZZO M.B.; BLOCK H.M.; WEYANT R.; ORCHARD T. Insulin-dependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies. I. Prevalence and characteristics of non-candidal lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 89, n. 5, p. 563-569, 2000.

GUJJAR KR.; KHADIJA H.; SULEIMAN M.O.; AMITH H.V. Gingival health status of 2- to 15-year-old Benghazi children with type-I diabetes mellitus. **J Dent Child (Chic)**, v.78, n. 2, p. 96-101, 2011.

HUMMEL S.; WINKLER C.; SCHOEN S.; KNOPFF A.; MARIENFELD S.; BONIFACIO E.; ZIEGLER A.G. Breastfeeding habits in families with Type 1 diabetes. **Diabet Med**, v. 24, n. 6, p. 671-676, 2007.

KERNER W.; BRÜCKE J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, v. 122, p. 384-386, 2014.

KHADER Y.S.; DAUOD A.S.; EL-QADERI S.S.; ALKAFAJEI A.; BATAYHA W.Q. Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. **J Diabetes Complications**, v. 20, n. 1, p. 59-68, 2006.

KRZEWSKA A.; BEN-SKOWRONEK I. Effect of Associated Autoimmune Diseases on Type 1 Diabetes Mellitus Incidence and Metabolic Control in Children and Adolescents. **BioMed Research International**, v. 19, n. 1, p. 1-12, 2016.

LALLA E.; KAPLAN S.; CHANG S.M.; ROTH G.A.; CELENTI R.; HINCKLEY K.; GREENBERG E.; PAPAPANOU P.N. Periodontal infection profiles in type 1 diabetes. **J Clin Periodontol**, v. 33, n. 12, p. 855-862, 2006.

LAMSTER I.B.; LALLA E.; BORGNACKE W.S.; TAYLOR G.W. The relationship between oral health and diabetes mellitus. **J Am Dent Assoc**, v. 139, suppl: 19S-24S, 2008.

LIM L.P.; TAY F.B.; SUM C.F.; THAI A.C. Relationship between markers of metabolic control and inflammation on severity of periodontal disease in patients with diabetes mellitus. **J Clin Periodontol**, v. 34, n. 2, p. 118-123, 2007.

LÖE H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 16, n 1, p. 329-324, 1993.

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

LOWE H. Diabetes mellitus: implications, costs and issues. **West Indian Med J**, v. 50, p. 1-4, suppl 1, 2001.

LU H.K.; YANG P.C. Cross-sectional analysis of different variables of patients with non-insulin dependent diabetes and their periodontal status. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 24, n 1, p. 71-79, 2004.

LUCZAJ-CEPOWICZ E.; MARCZUK-KOLADA G.; WASZKIEL D. Evaluation of periodontal status in young patients with insulin-dependent diabetes mellitus (type 1). **Adv Med Sci**, v. 51, suppl 1, p. 134-137, 2006.

MALICKA B.; KACZMAREK U.; SKOŚKIEWICZ-MALINOWSKA K. Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. **Arch Oral Biol**, v.60, n 3, p. 425-431, 2015.

MATA AD.; MARQUES D.; ROCHA S.; FRANCISCO H.; SANTOS C.; MESQUITA MF.; SINGH J. Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. **Mol Cell Biochem**, v. 261, n 2, p. 137-142, 2004.

MATTSON J.S.; CERUTIS D.R. Diabetes mellitus: a review of the literature and dental implications. **Compend Contin Educ Dent**, v.22, n 9, p. 757-760, 2001.

MEALEY B.L. Diabetes and periodontal disease: two sides of a coin. **Compend Contin Educ Dent**, v. 21, n 11, p. 943-946, 2000.

ORLANDO V.A.; JOHNSON L.R.; WILSON A.R.; MAAHS D.M.; WADWA R.P.; BISHOP F.K.; DONG F.; MORRATO E.H. Oral Health Knowledge and Behaviors among Adolescents with Type 1 Diabetes. **Int J Dent**, v. 9, n 4, p. 21-24, 2010.

PANCHBHAI A.S.; DEGWEKAR S.S.; BHOWTE R.R. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. **J Oral Sci**, v. 52, n. 3, p. 359-68, 2010.

QUIRINO M.R.; BIRMAN E.G.; PAULA C.R. Oral manifestations of diabetes mellitus in controlled and uncontrolled patients. **Braz Dent J**, v. 6, n. 2, p. 131-136, 1995.

RAFATJOU R.; RAZAVI Z.; TAYEBI S.; KHALILI M.; FARHADIAN M. Dental Health Status and Hygiene in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. **J Res Health Sci**, v. 16, n 3, p. 122-126.

RODEN, M. Diabetes mellitus: definition, classification and diagnosis. **The Central European Journal of Medicine**, v. 128, suppl 2, p. 37-40, 2016.

SHETTY P.K.; PATTABIRAMAN TN. Salivary proteolytic activities in periodontitis, gingivitis and diabetes mellitus. **Indian J Clin Biochem**, v. 13, n. 1, p. 46-51, 1998.

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

SOUTHERLAND J.H.; TAYLOR G.W.; MOSS K.; BECK J.D.; OFFENBACHER S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. **Periodontol 2000**, v. 40, p. 130-143, 2006.

TENOVUO J.; LEHTONEN O.P.; VIKARI J.; LARJAVA H.; VILJA P.; TUOHIMAA P. Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **J Dent Res**, v. 65, n. 1, p. 62-66, 1986.

UJPÁL M.; MATOS O.; BÍBOK G.; SOMOGYI A.; SZIGETI K.; SZABÓ G.; SUBA Z. Diabetes mellitus and tumors of the oral cavity--epidemiologic correlations. **Orv Hetil**, v. 145, n 14, p. 755-759, 2004.

VAN DIS M.L.; PARKS E.T. Prevalence of oral lichen planus in patients with diabetes mellitus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v.79, n. 6, p. 696-700, 1995.

VERMA S.; BHAT K.M. Diabetes mellitus: a modifier of periodontal disease expression. **J Int Acad Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 13-20, 2004.

XAVIER AC.; SILVA IN.; COSTA FDE O.; CORRÊA D.S. Periodontal status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 3, p.348-354, 2009.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

“ASSOCIAÇÃO ENTRE IMUNOGLOBULINAS SALIVARES, CONTROLE METABÓLICO E SAÚDE ORAL EM CRIANÇAS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE, PROSPECTIVO E MULTICÊNTRICO”

Seu(ua) filho(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) de uma pesquisa. Ele(a) não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Ao assinar este termo, você estará declarando que por meio de livre e espontânea vontade, seu (ua) filho(a) estará participando como voluntário do projeto de pesquisa citado acima, de responsabilidade da Cirurgiã-Dentista Thyciana Rodrigues Ribeiro do Curso de Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará. O abaixo-assinado estará ciente que:

a) O objetivo da pesquisa é avaliar associação entre cárie, saúde gengival, imunoglobulinas e controle do diabetes tipo 1.

b) Durante o estudo você deverá fornecer informação sobre o estado geral de saúde de seu (ua) filho(a).

c) A participação do voluntário neste estudo consistirá de exame dentário para verificar os dentes presentes na boca e o tipo de cárie que ele (a) possa ter, de um exame da gengiva, da coleta de saliva e de teste de glicemia em jejum e hemoglobina glicada (em 4 períodos com intervalos de 6 meses para as crianças diabéticas, e no início da pesquisa para crianças não-diabéticas)

d) A amostra de saliva será colhida conforme segue:

- Por meio de uma pequena cânula plástica (semelhante a um pequeno contagotas) posicionada no interior da cavidade oral na região abaixo da língua (assoalho bucal)

- Para que seja feita a coleta é preciso que o voluntário, esteja em jejum por no mínimo 2 horas, e que tenha escovado os dentes uma hora antes da consulta.
- e) Não haverá injeção de anestésico local durante os exames.
- f) Essa saliva após recolhida será analisada para que se possa verificar a presença de imunoglobulinas e glicose.
- g) Você tem a liberdade de desistir de participar deste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação. Isso não vai lhe trazer qualquer penalidade ou prejuízo.
- h) A participação neste estudo dá o direito ao voluntário de ter, sem custos, escovação supervisionada, atividades educativas de prevenção relacionadas à saúde bucal e tratamento odontológico.
- i) As informações conseguidas através de sua participação não permitirão a sua identificação, nem de seu (ua) filho(a), exceto à responsável pela pesquisa. A divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos no assunto.
- j) O voluntário deve comparecer às consultas de retorno para tratamento odontológico e realização de novos exames que serão agendadas com devida antecedência.

Endereço da responsável pela pesquisa:

Nome: Thyciana Rodrigues Ribeiro

Instituição: Universidade Federal do Ceará / Curso de Odontologia

Endereço: Rua Monsenhor Furtado, s/n, Rodolfo Teófilo

Telefones para contato: 3366 8408 / 9974 6688

ATENÇÃO: Para informar qualquer questionamento durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará

Rua Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo

Telefone 3366 8338.

O abaixo assinado, _____, _____anos,
 RG no _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando
 como voluntário da pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento
 Livre e Esclarecido e que, após sua leitura livre tive oportunidade de fazer perguntas sobre o
 conteúdo do mesmo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por
 completo minhas dúvidas. E declaro ainda estar recebendo uma cópia assinada deste termo.
 Fortaleza ___/___/_____

Nome do voluntário	Data	Assinatura
Nome do pesquisador	Data	Assinatura
Nome da testemunha (se o voluntário não souber ler)	Data	Assinatura
Nome do profissional que aplicou o T.C.L.E.	Data	Assinatura

APÊNDICE B
FICHA DE ANAMNESE
DADOS PESSOAIS

NOME _____

IDADE _____ DATA DE NASCIMENTO _____

NOME DO PAI _____

NOME DA MÃE _____

ENDEREÇO _____

TELEFONE PARA CONTATO _____ PESO _____ ALTURA _____

RENDA FAMILIAR () 1 salário () 2 a 4 salários () 5 a 9 salários () Mais de 10 salários

ESTADO GERAL DE SAÚDE

FAVOR LER E RESPONDER COM ATENÇÃO.

1) O voluntário se encontra sob tratamento médico? () Sim () Não

Para que? Caso a sua resposta tenha sido SIM. _____

2) O voluntário tem Diabetes Melito Tipo 1? () Sim () Não

Caso sua resposta seja SIM, qual a idade em que foi dado o diagnóstico? _____

3) O voluntário está tomando algum remédio? () Sim () Não

Quais? Caso a sua resposta tenha sido SIM. _____

4) O voluntário tem algum tipo de alergia? () Sim () Não

A que? Caso a sua resposta tenha sido SIM. _____

5) O voluntário esteve recentemente hospitalizado? () Sim () Não

Para que? Caso a sua resposta tenha sido SIM. _____

6) Tem ou teve algum dos problemas de saúde abaixo relacionados?

() Hemorragia () Convulsão com febre () Convulsão sem febre

() Desmaio () Febre reumática () Pneumonia

() Diarréia () Desidratação

() Anemia () Hepatite () Outras _____

7) A criança usa mamadeira? () Sim () Não. Se já não usa mamadeira, até que idade usou? _____ Conteúdo das mamadeiras:

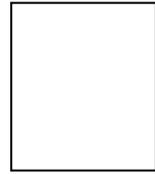
() Leite () Suco () Refrigerante () Água () Mingau () Achocolatados

8) Amamentação natural () Sim () Não. Se já não mama no peito, até que idade mamou? _____

Afirmo que as informações acima são verdadeiras.

Data: _____

Assinatura: _____



APÊNDICE C

Ficha de exame para avaliação da saúde gengival (parte I)

NOME _____

Índice de placa

Data ___/___/___ (T0)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Data ___/___/___ (T6)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

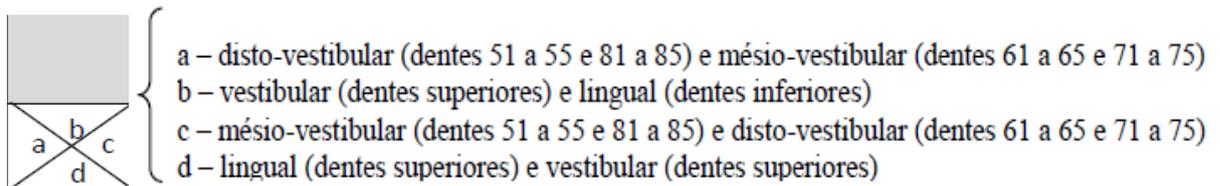
Data ___/___/___ (T12)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Data ___/___/___ (T18)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Instruções para marcação:



Escores para o índice de placa	Condição
0	Ausência de placa na área gengival
1	Placa aderida na margem gengival livre e área adjacente ao dente. A placa deve ser reconhecida através de uma sonda passada ao longo da superfície dentária
2	Acúmulo moderado de depósitos macios dentro da bolsa gengival e na margem gengival e/ou superfície adjacente ao dente, que pode ser visto clinicamente
3	Abundância de material macio dentro da bolsa gengival e/ou na margem gengival e/ou superfície adjacente ao dente

APÊNDICE D

Ficha de exame para avaliação da saúde gengival (parte II)

NOME _____

Índice gengival

Data ___/___/___ (T0)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Data ___/___/___ (T6)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

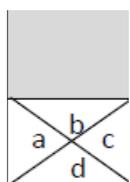
Data ___/___/___ (T12)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Data ___/___/___ (T18)

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Instruções para marcação:



- a – papila disto-vestibular (dentes 51 a 55 e 81 a 85) e méso-vestibular (dentes 61 a 65 e 71 a 75)
- b – margem vestibular (dentes superiores) e lingual (dentes inferiores)
- c – papila méso-vestibular (dentes 51 a 55 e 81 a 85) e disto-vestibular (dentes 61 a 65 e 71 a 75)
- d – margem lingual (dentes superiores) e vestibular (dentes superiores)

Escores para o índice gengival	Condição
0	Gengiva normal
1	Inflamação suave, leve mudança de cor, e leve edema; sem sangramento à palpação
2	Inflamação moderada, gengiva edemaciada, edema, e aspecto vítreo; sangramento à palpação
3	Inflamação severa, gengiva marcadamente edemaciada e edema, e ulcerações; tendência a sangramento espontâneo

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE IMUNOGLOBULINAS SALIVARES, CONTROLE METABÓLICO E SAÚDE ORAL EM CRIANÇAS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE, PROSPECTIVO E MULTICÊNTRICO

Pesquisador: Thyclana Rodrigues Ribeiro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 40467714.4.0000.5054

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.020.102

Data da Relatoria: 19/04/2015

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa da Profa. Thyclana Rodrigues Ribeiro tipo caso-controle longitudinal prospectivo e analítico com o objetivo de avaliar o perfil de imunoglobulinas salivares, controle metabólico e saúde oral em crianças com e sem Diabetes Mellitus 1. Serão selecionados 320 voluntários de ambos os sexos, com idades de 2 a 5 anos em dois centros de referência para o tratamento de diabetes e no curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, sendo divididos em 2 grupos (CDM1: pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e SDM1: pacientes sem Diabetes Mellitus tipo 1). A saúde oral será avaliada através de dados sobre experiência de cárie e saúde gengival. A coleta de dados ocorrerá em 4 períodos predeterminados: consulta inicial (T0) e após 6, 12, e 18 meses da consulta inicial, nos quais os dados sobre imunoglobulinas, controle metabólico, cárie e saúde gengival serão obtidos para cada voluntário. O fluxo e o pH salivares também serão medidos. As imunoglobulinas A, G e M serão analisadas quantitativamente por ELISA. O controle metabólico será avaliado por meio dos testes de glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar. Após obtenção dos resultados, a análise estatística será realizada por meio dos testes t de student e ANOVA para dados que se encaixarem em uma curva de normalidade e através dos testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para dados que não obedecerem a uma distribuição normal. Serão considerados significantes valores de p menor que

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127		
Bairro: Rodolfo Teófilo		CEP: 60.430-270
UF: CE	Município: FORTALEZA	
Telefone: (85)3368-8344	Fax: (85)3223-2903	E-mail: comete@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Protocolo: 1.020.102

0,05.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar longitudinalmente o perfil de imunoglobulinas salivares, controle metabólico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e saúde oral (experiência de cárie dentária e saúde gengival) em crianças com e sem DM1.

Objetivo Secundário:

1. Avaliar a associação entre controle metabólico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e perfil de imunoglobulinas salivares de crianças com e sem DM1.
2. Avaliar a associação entre controle metabólico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e saúde oral (experiência de cárie de saúde gengival) de crianças com e sem DM1.
3. Comparar o perfil de imunoglobulinas salivares e o perfil proteico salivar entre crianças com e sem DM1.
4. Comparar a saúde oral (experiência de cárie e saúde gengival) entre crianças com e sem DM1.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa é de baixo risco visto que o paciente será submetido a exame oral e coleta de saliva não invasivos. No entanto o índice gengival, o qual será realizado com auxílio de sonda periodontal tipo OMS, e as coletas de sangue para realização de exames para o controle metabólico representarão um incômodo adicional a estas crianças. Quanto aos benefícios destacam-se: contribuição para o esclarecimento do papel das imunoglobulinas em pacientes com DM1 em idades abaixo dos 5 anos, o controle da cárie dentária e doença gengival na população estudada. Além disso, o diagnóstico por saliva, um campo dinâmico e emergente, constitui-se uma forma não invasiva e de fácil acesso, somada a possibilidade de identificação de grande número de moléculas na mesma.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem delimitada sob o ponto de vista metodológico e apresenta mérito científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou ao comitê de ética: projeto, folha de rosto devidamente preenchida e assinada pela chefe do DCO, orçamento, cronograma, declaração de concordância dos pesquisadores envolvidos, carta de encaminhamento, autorizações de todos os locais de execução da pesquisa, currículo do pesquisador principal. Refez metodologia.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
 UF: CE Município: FORTALEZA
 Telefone: (85)3368-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comape@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 1.020.102

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FORTALEZA, 13 de Abril de 2015

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 80.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3358-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

ANEXO B – Instruções para autores da revista “ International Journal of Paediatric Dentistry”

Author Guidelines

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

Relevant Documents: Sample Manuscript

Useful Websites: Submission Site, Articles published in *International Journal of Paediatric Dentistry*, Author Services, Wiley-Blackwell’s Ethical Guidelines, Guidelines for Figures.

CrossCheck

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL

International Journal of Paediatric Dentistry publishes papers on all aspects of paediatric dentistry including: growth and development, behaviour management, prevention, restorative treatment and issue relating to medically compromised children or those with disabilities. This peer-reviewed journal features scientific articles, reviews, clinical techniques, brief clinical reports, short communications and abstracts of current paediatric dental research. Analytical studies with a scientific novelty value are preferred to descriptive studies.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after acceptance of a manuscript for publication in *International Journal of Paediatric Dentistry*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

In June 2007, the Editors gave a presentation on How to write a successful paper for the *International Journal of Paediatric Dentistry*.

2. ETHICAL GUIDELINES

Submission is considered on the conditions that papers are previously unpublished, and are not offered simultaneously elsewhere; that authors have read and approved the content, and all authors have also declared all competing interests; and that the work complies with the Ethical Policies of the Journal and has been conducted under internationally accepted ethical standards after relevant ethical review.

3. CONFLICT OF INTEREST AND SOURCE FUNDING

Journal of Oral Rehabilitation requires that all authors (both the corresponding author and co-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 indirectly 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. If authors are unsure whether a past or present affiliation or relationship should be disclosed in the manuscript, please contact the editorial office at IJPDedoffice@wiley.com. The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal.

The above policies are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org/>). It is the responsibility of the corresponding author to have all authors of a manuscript fill out a conflict of interest disclosure form, and to upload all forms together with the manuscript on submission. The disclosure statement should be included under Acknowledgements. Please find the form below:

[Conflict of Interest Disclosure Form](#)

4. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Articles for the *International Journal of Paediatric Dentistry* should be submitted electronically via an online submission site. Full instructions and support are available on the site and a user ID and password can be obtained on the first visit. Support is available by phone

(+1 434 817 2040 ext. 167) or [here](#). If you cannot submit online, please contact Mirlyn Consador in the Editorial Office by e-mail IJPDedoffice@wiley.com.

4.1. Getting Started

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online submission site: <http://mc.manuscriptcentral.com/ijpd>

*Log-in or, if you are a new user, click on 'register here'.

*If you are registering as a new user.

- After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.

- Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next'.

- Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.

*If you are already registered, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under 'Password Help'. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.

*Log-in and select 'Author Center'.

4.2. Submitting Your Manuscript

After you have logged into your 'Author Center', submit your manuscript by clicking on the submission link under 'Author Resources'.

* Enter data and answer questions as appropriate.

* You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter. **Please note** that a separate *Title Page* must be submitted as part of the submission process as 'Title Page' and should contain the following:

- Word count (excluding tables)
- Authors' names, professional and academic qualifications, positions and places of work. They must all have actively contributed to the overall design and execution of the study/paper and should be listed in order of importance of their contribution
- Corresponding author address, and telephone and fax numbers and email address

*Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.

*You are required to upload your files.

- Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
- Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- * Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

4.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rtf) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and a PDF document on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures. 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. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) is now accepted by IPD. As such manuscripts can be submitted in both .doc and .docx file types.

4.4. Review Process

The review process is entirely electronic-based and therefore facilitates faster reviewing of manuscripts. Manuscripts will be reviewed by experts in the field (generally two reviewers), and the Editor-in-Chief makes a final decision. *The International Journal of Paediatric Dentistry* aims to forward reviewers' comments and to inform the corresponding author of the result of the review process. Manuscripts will be considered for 'fast-track publication' under special circumstances after consultation with the Editor-in-Chief.

4.5. Suggest a Reviewer

International Journal of Paediatric Dentistry attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of a potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript and their area of expertise. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well.

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

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

4.7. E-mail Confirmation of Submission

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

4.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts any time to check your 'Author Center' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

4.9. 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. The letter must 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.

4.10 Online Open

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding

agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

5. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Articles: Divided into: Summary, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Bullet points, Acknowledgements, References, Figure legends, Tables and Figures arranged in this order. The summary should be structured using the following subheadings: Background, Hypothesis or Aim, Design, Results, and Conclusions and should be less than 200 words. A brief description, in bullet form, should be included at the end of the paper and should describe Why this paper is important to paediatric dentists.

Review Articles: may be invited by the Editor.

Short Communications: 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.

Clinical Techniques: This type of publication is best suited to describe significant improvements in clinical practice such as introduction of new technology or practical approaches to recognised clinical challenges.

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.
- Please provide up to 3 bullet points for your manuscript under the heading: 1. Why this clinical report is important to paediatric dentists. Bullet points should be added to the end of your manuscript, before the references.

Letters to the Editor: Should be sent directly to the editor for consideration in the journal.

6. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

6.1. Format

Language: The language of publication is English. UK and US spelling are both acceptable but the spelling must be consistent within the manuscript. The journal's preferred choice is UK spelling. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication

6.2. Structure

The whole manuscript should be double-spaced, paginated, and submitted in correct English. The beginning of each paragraph should be properly marked with an indent.

Original Articles (Research Articles): should normally be divided into: Summary, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Bullet points, Acknowledgements, References, Figure legends, Tables and Figures arranged in this order.

Please include 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.

Summary should be structured using the following subheadings: Background, Hypothesis or Aim, Design, Results, and Conclusions.

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.

(i) **Experimental Subjects:** Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

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

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

(iii) DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations: Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

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 should include one heading: *Why this paper is important to paediatric dentists. Please provide maximum 3 bullets per heading.

Review Articles: may be invited by the Editor. Review 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.

Clinical Techniques: This type of publication is best suited to describe significant improvements in clinical practice such as introduction of new technology or practical approaches to recognised clinical challenges. They should conform to highest scientific and clinical practice standards.

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.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Please also include specifications of the source of

funding for the study and any potential conflict of interests if appropriate. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

Supplementary data

Supporting material that is too lengthy for inclusion in the full text of the manuscript, but would nevertheless benefit the reader, can be made available by the publisher as online-only content, linked to the online manuscript. The material should not be essential to understanding the conclusions of the paper, but should contain data that is additional or complementary and directly relevant to the article content. Such information might include the study protocols, more detailed methods, extended data sets/data analysis, or additional figures (including). All material to be considered as supplementary data must be uploaded as such with the manuscript for peer review. It cannot be altered or replaced after the paper has been accepted for publication. Please indicate clearly the material intended as Supplementary Data upon submission. Also ensure that the Supplementary Data is referred to in the main manuscript. Please label these supplementary figures/tables as S1, S2, S3, etc.

Full details on how to submit supporting information, can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/supinfo.asp>

6.3. References

A maximum of 30 references should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text (Vancouver System). They should be identified in the text by superscripted Arabic numbers and listed at the end of the paper in numerical order. Identify references in text, tables and legends. Check and ensure that all listed references are cited in the text. Non-refereed material and, if possible, non-English publications should be avoided. Congress abstracts, unaccepted papers, unpublished observations, and personal communications may not be placed in the reference list. References to unpublished findings and to personal communication (provided that explicit consent has been given by the sources) may be inserted in parenthesis in the text. Journal and book references should be set out as in the following examples:

1. Kronfol NM. Perspectives on the health care system of the United Arab Emirates. *ast Mediter Health J.* 1999; 5: 149-167.
2. Ministry of Health, Department of Planning. Annual Statistical Report. Abu Dhabi: Ministry Health, 2001.
3. Al-Mughery AS, Attwood D, Blinkhorn A. Dental health of 5-year-old children in Abu Dhabi, United Arab Emirates. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 308-309.

4. Al-Hosani E, Rugg-Gunn A. Combination of low parental educational attainment and high parental income related to high caries experience in preschool children in Abu Dhabi. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26: 31-36.

If more than 6 authors please, cite the three first and then et al. When citing a web site, list the authors and title if known, then the URL and the date it was accessed (in parenthesis). Include among the references papers accepted but not yet published; designate the journal and add (in press). Please ensure that all journal titles are given in abbreviated form.

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

6.4. Illustrations and Tables

Tables: should be numbered consecutively with Arabic numerals and should have an explanatory title. Each table should be typed on a separate page with regard to the proportion of the printed column/page and contain only horizontal lines

Figures and illustrations: All figures should be submitted electronically with the manuscript via ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central). Each figure should have a legend and all legends should be typed together on a separate sheet and numbered accordingly with Arabic numerals. Avoid 3-D bar charts.

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

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

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

7. AFTER ACCEPTANCE

7.1. Copyright

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

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-301.html>

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA.

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-301.html> and

visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>

<http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by certain funders [e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)] you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with your Funder requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

7.2. Permissions

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

7.3. NIH Public Access Mandate

For those interested in the Wiley-Blackwell policy on the NIH Public Access Mandate, [please visit our policy statement](#).