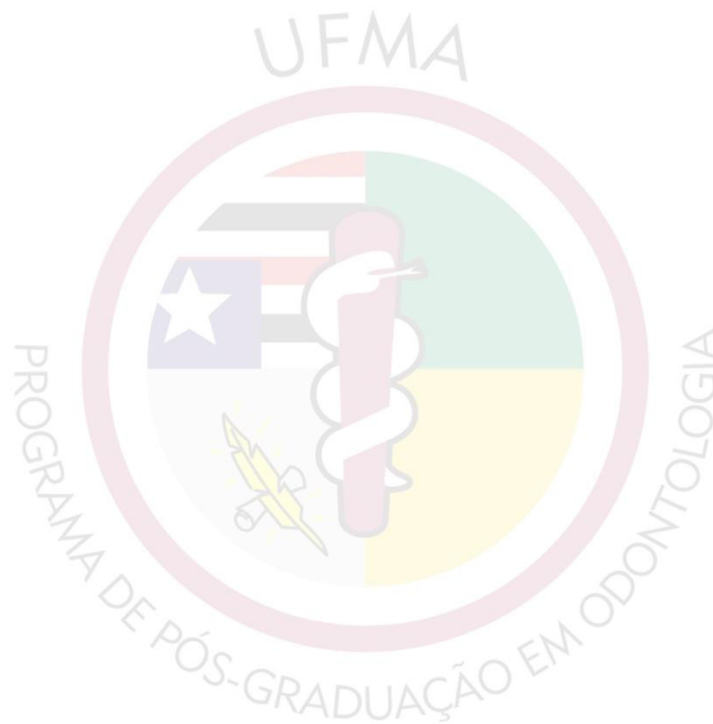




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO



**EFEITOS DO TEMPO DE USO DA HIDROXIURÉIA  
SOBRE AS ALTERAÇÕES ADAPTATIVAS DA POLPA  
EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME**



**SÃO LUÍS**

**2018**

**SUSILENA AROUCHE COSTA**

**EFEITOS DO TEMPO DE USO DA HIDROXIURÉIA SOBRE AS ALTERAÇÕES  
ADAPTATIVAS DA POLPA EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia como parte dos requisitos  
para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**Orientadora:** Profa. Dra. Soraia de Fátima Carvalho  
Souza

**SÃO LUÍS**

**2018**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Arouche Costa, Susilena.

Efeitos do uso da hidroxiuréia sobre as alterações adaptativas da polpa / Susilena Arouche Costa. - 2018.  
75 p.

Orientador(a): Soraia de Fátima Carvalho Souza.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Anemia falciforme. 2. Calcificação pulpar. 3. Hidroxiureia. 4. Polpa dentária. I. de Fátima Carvalho Souza, Soraia. II. Título.

**SUSILENA AROUCHE COSTA**

**EFEITOS DO TEMPO DE USO DA HIDROXIURÉIA SOBRE AS ALTERAÇÕES  
ADAPTATIVAS DA POLPA EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 13/ 11/ 18, considerou a candidata.

APROVADA

REPROVADA

- 1) Examinador: Profa. Dra. Ana Margarida Melo Nunes
- 2) Examinador: Profa. Dra. Cecília Cláudia Costa Ribeiro
- 3) Presidente (Orientadora): Profa. Dra. Soraia de Fátima Carvalho Souza

*“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”.*

*Theodore Roosevelt*

*Dedico esta dissertação ao MEU FILHO, MINHA MÃE e MINHA AVÓ por terem sido minha maior fonte de motivação para estar no mestrado, e ao MEU NOIVO, por entender e apoiar a realização deste sonho.*

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, por ser o maior responsável por todas as minhas vitórias.

A MINHA ORIENTADORA, SORAIA DE FÁTIMA CARVALHO SOUZA, por todos os ensinamentos, por toda dedicação e por todas as vezes em que ela abdicou dos seus finais de semana em prol da elaboração deste trabalho e da ciência.

A PROFESSORA ERIKA BÁRBARA ABREU FONSECA THOMAZ, pela paciência, pelo apoio e pela disponibilidade.

A PROFESSORA CECÍLIA CLÁUDIA COSTA RIBEIRO, por me mostrar além do que eu enxergava.

A PROFESSORA CYRENE PIAZERA SILVA COSTA, por sua força de vontade e por todas as vezes que ela se prontificou a contribuir para que este trabalho se tornasse realidade.

A HALINNA LARISSA C. C. DE CARVALHO, pelo trabalho desenvolvido para obtenção de parte dos dados desta pesquisa.

Aos FUNCIONÁRIOS, PROFESSORES e COORDENAÇÃO do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA da UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO, pela oportunidade de crescimento e aprendizado.

A HEMOMAR por abrir as portas para realização deste estudo, especialmente a SEU HAGAMENON DE JESUS CARVALHO.

A FAPEMA pelo apoio financeiro.

*GRATIDÃO!*

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\chi^2$  = Teste do qui-quadrado



## LISTA DE ABREVIATURAS

AAP= Alteração adaptativa da polpa

ABEP= Associação Brasileira de Estudos e Pesquisa

AF= Anemia Falciforme

ATO= alteração do trabeculado ósseo dos maxilares

CEP= Comitê de Ética em Pesquisa

CFI= Comparative Fit Index

CFP= Carga Fatorial Padronizada

CSE= Classe Sócio Econômica

Dp= Desvio Padrão

EP= Erro padrão

FDA= Food and Drug Administration

Fig= Figura

Hb= Hemoglobina total

HbF= Hemoglobina Fetal

HbS= Hemoglobina S

HbSS= Homozigose (anemia falciforme)

Hct= Hematócrito

HEMOMAR= Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão

HU= Hidroxiuréia

IC 90%= Intervalo de confiança 90%

IC 95% =Intervalo de confiança a 95%

MEE= Modelagem de Equações Estruturais

VOC= Crises vasoclusivas

RMSEA= Root Mean Square of Aproximation

Tab= Tabela

TLI= Tucker-Lewis Index

WRMR= Weighted Root Mean Square Residual

## **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1 (Capítulo I) – Modelo teórico do estudo (desfecho=ter AAP).

FIGURA 2 (Capítulo I) – Modelo testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais (desfecho=ter AAP).

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 (Capítulo I) – Caracterização da amostra.

TABELA 2 (Capítulo I) – Índices de ajuste do modelo teórico do estudo.

TABELA 3 (Capítulo I) – Efeitos diretos das variáveis do estudo na análise de equações estruturais.

TABELA 4 (Capítulo I) – Efeitos totais e indiretos das variáveis incluídas no modelo sobre as alterações adaptativas da polpa (AAP).

## RESUMO

**Introdução:** A Hidroxiuréia (HU) é o único fármaco utilizado para tratamento da anemia falciforme (genótipo HbSS) porque é capaz de aumentar as taxas de hemoglobina e hematócrito com conseqüente melhora do transporte de oxigênio no sangue e redução da frequência de crises vasoclusivas. Assim, a utilização do fármaco poderia desempenhar algum efeito sobre as alterações adaptativas da polpa (AAP), comumente vistas em indivíduos HbSS, já que se acredita que a maior susceptibilidade a estas alterações seja decorrente da formação de trombos na microvasculatura pulpar. A presença de alterações do trabeculado ósseo dos maxilares também pode contribuir para o aumento desta susceptibilidade. Desta forma, o objetivo deste estudo foi investigar qual o efeito da utilização do fármaco HU (proteção ou risco) sobre as AAP, com três possíveis mecanismos: 1- efeito protetor mediado pela redução das crises vasoclusivas; 2- efeito protetor mediado pela redução das alterações do trabeculado ósseo, e 3- efeito protetor mediado pela alteração de parâmetros hematológicos (hemoglobina e hematócrito).

**Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo. Foram selecionados 123 indivíduos HbSS por meio de amostragem aleatória simples sem reposição. A exposição a HU foi verificada por meio da análise dos prontuários eletrônicos e posteriormente estes indivíduos foram alocados em 4 categorias de acordo com o tempo de utilização do fármaco (0-nunca utilizou, 1- até 1 ano de utilização, 2- de 1 a 2 anos de utilização e 3- mais de 2 anos de utilização). Para o diagnóstico do desfecho, todos os indivíduos foram submetidos a tomadas radiográficas periapicais pela técnica do paralelismo. A variável desfecho (AAP) foi considerada uma variável dicotômica em que o *score* 1 foi atribuído à presença de mineralizações na câmara pulpar. Para estudo do efeito HU-AAP foi proposto um modelo teórico em que se considerou como variáveis mediadoras, os seguintes parâmetros: número de crises vasoclusivas no último ano, alterações do trabeculado ósseo e a variável latente “Série Vermelha”. Esta variável latente foi formada por dois parâmetros hematológicos: hemoglobina e hematócrito. Dados referentes às variáveis número de crises vasoclusivas do último ano, hemoglobina total e hematócrito foram resgatados dos prontuários eletrônicos. O diagnóstico das alterações do trabeculado ósseo também foi realizado por meio das radiografias periapicais. Foi considerado a presença do padrão trabecular em escada ou em teia de aranha para definir a presença de alteração do trabeculado ósseo (*score* 1). O modelo teórico do estudo foi testado por meio da Modelagem com Equações Estruturais. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

**Resultados:** O tempo de uso de HU apresentou efeito total significativo sobre as AAP em indivíduos HbSS (CFP= -0.451, p=0.021) indicando que quanto maior o tempo de exposição ao fármaco menor a probabilidade de desenvolver AAP. Embora a carga fatorial tenha sido elevada e negativa, o efeito direto do fármaco sobre AAP não foi observado (CFP= -0.451, p=0.106). As variáveis mediadoras (número de crises vasclusivas, “Série Vermelha” e alteração do trabeculado ósseo) não apresentaram efeito sobre o desfecho (p>0.05). O número de crises vasclusivas apresentou efeito direto sobre as alterações do padrão trabecular ósseo (CFP=0.443, p= 0.002) dos maxilares de indivíduos HbSS.

**Conclusão:** Concluimos que a HU protege indivíduos HbSS da ocorrência de AAP. No entanto, o mecanismo pelo qual a HU protege contra a ocorrência destas alterações não foi mediado pelas variáveis incluídas no modelo. Assim, especulamos que o efeito total protetor da HU para o desfecho deste estudo seja explicado não por um mecanismo único, mas pelo acúmulo de efeitos benéficos trazidos por vários mecanismos de ação conhecidos do fármaco.

**Palavras-chave:** anemia falciforme, calcificação pulpar, hidroxúria, polpa dentária

## ABSTRACT

**Introduction:** Hydroxyurea (HU) is the only drug used to treat sickle cell anemia (HbSS genotype) because it is able to increase hemoglobin and hematocrit rates with consequent improvement in oxygen transport in the blood and reduction of the frequency of vaso-occlusive crises. Thus, the use of the drug could have some effect on the adaptive pulp alterations (APA), commonly seen in HbSS individuals, since it is believed that the greatest susceptibility to these alterations is due to the formation of thrombi in the pulp microvasculature. The presence of alterations in maxillary bone trabeculation may also contribute to the increase of this susceptibility. Thus, the objective of this study was to investigate the effect of the use of HU (protection or risk) drug on APA, with three possible mechanisms: 1- protective effect mediated by reduction of vaso-occlusive crises; 2 - protective effect mediated by reduction of bone trabecular changes, and 3 - protective effect mediated by changes in hematological parameters (hemoglobin and hematocrit).

**Methods:** This is a retrospective cohort study. We selected 123 HbSS individuals by simple random sampling without replacement. Exposure to HU was verified by electronic records analysis, and these individuals were subsequently allocated into 4 categories according to the time of use of HU (0-never used, 1- to 1 year of use, 2- of 1 to 2 years of use and 3- more than 2 years of use). For the diagnosis of the outcome, all subjects were submitted to periapical radiographic using the parallelism technique. The outcome variable (APA) was a dichotomous variable in which *score* 1 was attributed to the presence of mineralizations in the pulp chamber. To study the HU-APA effect, a theoretical model was proposed in which the following parameters were considered as mediator variables: number of vaso-occlusive crisis in the last year, changes in bone trabeculation, latent variable "Red Series". The latent variable was formed by two hematological parameters: hemoglobin and hematocrit. Data referring to the variables number of vaso-occlusive crisis in last year, total hemoglobin and hematocrit were retrieved from electronic records. The diagnosis of the alterations of the bone trabeculate was also made through the periapical radiographs. The presence of the trabecular pattern in ladder or spider web was considered to define the presence of bone trabeculate alteration (*score* 1). The theoretical model of the study was tested using Modeling with Structural Equations. The level of significance was 5%.

**Results:** The total effect of HU reduced the occurrence of APA in HbSS individuals (SFL =  $-0.451$ ,  $p = 0.021$ ), indicating that the longer the exposure time to the drug, lower the probability of developing APA. Although the factorial load was high and negative, the direct effect of the drug on APA was not observed (CFP =  $-0.451$ ,  $p = 0.106$ ). Mediating variables (number of vaso-occlusive crises, “Red Series” and alteration of bone trabeculation) had no effect on the outcome ( $p > 0.05$ ). The number of vaso-occlusive crises had a direct effect on the changes in the bone trabecular pattern (CFP =  $0.443$ ,  $p = 0.002$ ) of the jaws of HbSS individuals.

**Conclusion:** We conclude that HU protects HbSS individuals from the occurrence of APA. However, the mechanism by which HU protects against the occurrence of these changes was not mediated by the variables included in the model. Thus, we speculate that the overall protective effect of HU for the outcome of this study is explained not by a single mechanism but by the accumulation of beneficial effects brought about by various known mechanisms of action of the drug.

**Keywords:** sickle-cell anemia, pulp calcification, hydroxyurea, dental pulp



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 CAPÍTULO I.....	22
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	39
REFERÊNCIAS .....	46
APÊNDICE A- FICHA CLÍNICA .....	54
APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .....	57
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA .....	60
ANEXO B- AUTHOR’S GUIDELINES INTERNATIONAL ENDODONTICS JOURNAL .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme é uma hemoglobinopatia de caráter autossômico recessivo, em que uma mutação genética dá origem a uma hemoglobina alterada denominada HbS (PIEL; STEINBERG; REES, 2017; STEINBERG, 2016). Esta hemoglobina alterada, em condições de baixa tensão de oxigênio, polimeriza-se conferindo às hemácias o formato de foice. A polimerização da HbS é o evento fundamental na patogenia da anemia falciforme, isto porque o fenômeno da falcização torna os eritrócitos menos flexíveis, aumentando a aderência destas células ao endotélio e causando vasclusão na microcirculação (PIEL; STEINBERG; REES, 2017; STEINBERG, 2016).

O fenômeno vasclusivo, comumente chamado de crise de dor aguda, compreende um processo com várias etapas que envolve interações de hemácias, leucócitos ativados, células endoteliais, plaquetas e proteínas do plasma (ZHANG et al., 2016). Este processo pode culminar em oclusão microvascular, isquemia e infarto tecidual. Pode ainda haver lesão tecidual mediada pela reperfusão durante o reestabelecimento do fluxo sanguíneo (PIEL; STEINBERG; REES, 2017).

Além disso, a repetição frequente dos episódios de polimerização provocam lesão de membrana em algumas células, fazendo com que a rigidez e a configuração em formato de foice persistam mesmo após a reoxigenação. Em decorrência da acentuada rigidez, as células irreversivelmente falcizadas morrem de forma prematura, o que contribui para a anemia hemolítica crônica dos pacientes (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017).

O quadro clínico de indivíduos com anemia falciforme depende da ocorrência das crises falcêmicas vasclusivas visto que estas são responsáveis por complicações da doença como osteonecrose (AKINYoola et al., 2009) e síndrome torácica aguda (PAUL et al., 2013). Embora a vasclusão seja um fator importante para as complicações clínicas em todos os indivíduos com anemia falciforme, o papel da hemólise como mecanismo fisiopatológico vem sendo foco de muitas pesquisas. Dados de estudos epidemiológicos sugerem que o aumento da taxa de hemólise está associado a danos vasculares progressivos como ulceração da perna, priapismo e hipertensão pulmonar (TAYLOR, JAMES G. et al., 2008).

As manifestações da doença também comprometem os tecidos bucais. Na cavidade bucal de indivíduos com anemia falciforme são descritas alterações ósseas como osteomielite (AL-ISMAILI; NASIM; BAKATHIR, 2017; ARAUJO et al., 2015), lesões de infarto ósseo (KAVADIA-TSATALA et al., 2004), maloclusão (COSTA et al., 2015) e alteração no padrão do trabeculado ósseo (DE CARVALHO et al., 2017).

As alterações do trabeculado ósseo dos maxilares, descritas como em “formato de escada” ou como “teia de aranha”, embora não sejam sinais patognomônicos da doença, parecem ser 2.17 vezes mais prevalentes em indivíduos com anemia falciforme quando comparados ao grupo controle (SOUZA et al., 2018). Neves et al. (2012) constataram uma associação entre a icterícia clínica e o aumento do espaço do trabeculado ósseo dos maxilares em indivíduos com doença falciforme, indicando que essas alterações parecem ser resultado da hiperplasia da medula óssea decorrente da hemólise crônica destes indivíduos, visto que o processo de destruição da hemoglobina leva à liberação de bilirrubina no sangue.

Além das alterações ósseas dos maxilares, outras alterações bucais citadas em indivíduos com anemia falciforme incluem necrose pulpar assintomática (COSTA; THOMAZ; SOUZA, 2013; DEMIRBAŞ KAYA; AKTENER; ÜNSAL, 2004) e alterações adaptativas da polpa como calcificações distróficas e metamorfose cálcica (SOUZA et al., 2018).

O mecanismo exato que justifique a formação de calcificações distróficas na polpa dentária permanece desconhecido, mas é possível que estas alterações apareçam como uma adaptação da polpa dentária às mudanças relacionadas ao envelhecimento pulpar precoce. A redução da celularidade e a baixa taxa de renovação de colágeno favorecem o surgimento de áreas de hialinização do tecido pulpar e estas áreas funcionam como o principal foco de deposição de sais minerais. Além das áreas de hialinização, a formação de trombo ou de pequenas áreas de necrose por coagulação também funcionam como um foco de deposição de tecido mineralizado na polpa dentária com consequente formação de calcificações (GOGA; CHANDLER; OGGINI, 2008; MORSE, 1991; SUNDELL; STANLEY; WHITE, 1968).

Já a metamorfose cálcica da polpa é dita como um processo de adaptação das células da polpa à situações de hipóxia decorrente do comprometimento parcial ou transitório do feixe vascular e nervoso, estando mais relacionado à traumatismos dentários (CONSOLARO et al., 2011). Na polpa de dentes traumatizados e que permaneceram estruturalmente hígidos, mas com lesão parcial do feixe vascular e nervoso, as células pulpares podem sofrer metaplasia para se adaptarem à hipóxia passageira e redução do metabolismo (CONSOLARO et al., 2011). Esta metaplasia leva os fibroblastos, as células indiferenciadas ou células-tronco teciduais, os pré-odontoblastos e até as células vasculares a se diferenciarem, modificarem ou se transformarem em odontoblastos para iniciar uma produção aleatória e desorganizada de dentina reacional. Após três meses, radiograficamente pode se notar o apagamento dos limites pulpares normais, redução do volume pulpar, fechamento dos espaços pulpares na câmara e/ou no canal radicular (CONSOLARO; BERNARDINI, 2007).

Tendo em vista a explicação dos possíveis mecanismos para a ocorrência de alterações adaptativas da polpa (calcificação distrófica e metamorfose cálcica) é possível então que indivíduos com anemia falciforme sejam mais acometidos por estas alterações em virtude das crises de vasoclusão. Assim, o acúmulo de células falciformes no interior dos vasos com posterior formação de trombo favoreceria a deposição de sais minerais naquele local ocasionando calcificação distrófica. Além disso, a hipóxia transiente ou os danos vasculares ocasionados pela reperfusão sanguínea após as crises vasoclusivas poderiam favorecer a metaplasia das células pulpares e subsequente deposição de dentina reacional ocasionando a metamorfose cálcica da polpa. Ou ainda, uma outra explicação plausível seria que a presença de alterações do trabeculado ósseo poderiam reduzir o fluxo sanguíneo para os tecidos pulpares (LIU et al., 2013), favorecendo também o surgimento destas alterações.

Até o momento, o único tratamento capaz de reduzir a frequência de crises vasoclusivas, prevenir as complicações da doença e melhorar a qualidade de vida de indivíduos com anemia falciforme é o uso de hidroxiuréia (HU) (VOSKARIDOU et al., 2011). A HU foi aprovada para utilização no tratamento das doenças falciformes em 1999 pela FDA (Food and Drug Administration). No Brasil, a HU foi incluída nos protocolos de tratamento das doenças falciformes (Anemia Falciforme, S/ $\beta$  Talassemia, HbSD, HbSC) por meio da portaria de nº 872 do Ministério da Saúde (MS), em 06 de novembro de 2002. Em 2010, a portaria nº 55/MS ampliou o uso da HU para crianças.

Os indivíduos com anemia falciforme que fazem uso de HU apresentam aumento da produção de hemoglobina fetal, hemoglobina total e hematócrito, o que melhora o transporte de oxigênio no sangue e impede a polimerização da HbS. Além disso, a utilização de HU aumenta a produção de óxido nítrico, reduz do número de leucócitos, plaquetas e reticulócitos, reduzindo a adesividade de células vermelhas ao endotélio vascular e diminuindo, desta forma, a frequência de crises falcêmicas, transfusões sanguíneas, hospitalizações e síndrome do abdômen agudo (STEINBERG et al., 2010; VOSKARIDOU et al., 2011). Outro efeito benéfico, porém controverso, é que o uso de HU aumenta a densidade mineral óssea em indivíduos com AF (MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007)

Existe uma lacuna na identificação dos efeitos benéficos ou tóxicos do uso de HU aos tecidos bucais. No entanto, levando em consideração os efeitos do uso de HU e a possível explicação da ocorrência de alterações adaptativas da polpa em indivíduos com anemia falciforme, é possível que o uso contínuo do fármaco possa desempenhar efeito de proteção para a ocorrência destas alterações.

Assim, consideramos três possíveis mecanismos:

- 1) a HU poderia reduzir a frequência de eventos vasoclusivos, o que reduziria a formação de trombos na microvasculatura pulpar;
- 2) a HU poderia promover melhora das alterações do trabeculado ósseo dos maxilares, conseqüentemente facilitando o fluxo sanguíneo aos tecidos pulpares.
- 3) a HU poderia aumentar os níveis de hemoglobina e hematócrito, conseqüentemente melhorando o transporte de oxigênio para o tecido pulpar, impedindo a formação de trombos no interior da microvasculatura pulpar.

Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar os possíveis efeitos do uso da HU sobre as alterações adaptativas da polpa dentária em indivíduos com anemia falciforme.

## 2 CAPÍTULO I

EFEITOS DO TEMPO DE USO DA HIDROXIURÉIA SOBRE AS ALTERAÇÕES  
ADAPTATIVAS DA POLPA EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME

(a ser submetido ao *International Endodontics Journal*)

## **EFEITOS DO TEMPO DE USO DA HIDROXIURÉIA SOBRE AS ALTERAÇÕES ADAPTATIVAS DA POLPA EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME**

SA Costa<sup>a</sup>, SFC Souza<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Estudante de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil

<sup>b</sup> Professor Associado, Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil

**Running title:** Alterações adaptativas da polpa e Anemia Falciforme

**Palavras-chave:** anemia falciforme, calcificação pulpar, hidroxiuréia, polpa dentária.

**Autor para correspondência:**

Soraia de Fátima Carvalho Souza, e-mail: endosoraia@gmail.com, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Avenida dos Portugueses, 1966, Cidade Universitária – Bacanga, CEP 65085-580, São Luís, Maranhão, Brasil

## RESUMO

**Objetivo-** Investigar quais os efeitos do uso da HU sobre as alterações adaptativas da polpa [AAP (calcificação distrófica e metamorfose cálcica da polpa)] em indivíduos HbSS.

**Metodologia-** Trata-se de um estudo de coorte retrospectivo. Os participantes do estudo (n=123) foram selecionados por amostragem aleatória simples sem reposição. Dados referentes ao tempo de exposição a HU, número de crises vasclusivas por ano e níveis séricos de hemoglobina e hematócrito foram obtidos nos prontuários eletrônicos. Todos os indivíduos foram submetidos ao exame radiográfico periapical completo para identificar alterações do padrão do trabeculado ósseo e AAP. Três mecanismos foram propostos para avaliar o efeito da HU sobre as AAP testados por meio da Modelagem de Equações Estruturais: 1) a HU reduziria o número de crises vasclusivas por ano, 2) a HU reduziria as alterações do trabeculado ósseo dos maxilares e 3) a HU aumentaria os níveis de hemoglobina e hematócrito (variável latente “Série Vermelha”). Os três mecanismos teriam efeito de proteção para as AAP. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

**Resultados-** A prevalência de AAP foi de 11.38%. O efeito total da HU reduziu a ocorrência de AAP em indivíduos HbSS (CFP= -0.451, p=0.021). Não foram encontrados efeitos dos mecanismos propostos sobre a presença de AAP. A idade apresentou efeito total positivo sobre a ocorrência de AAP (CFP=0.287, p=0.028).

**Conclusão-** A HU apresenta um efeito de proteção para a ocorrência de AAP em indivíduos com anemia falciforme.

**Palavras-chave:** anemia falciforme, calcificação pulpar, hidroxiuréia, polpa dentária.



## INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (genótipo HbSS) é uma hemoglobinopatia caracterizada por uma mutação na cadeia  $\beta$  da hemoglobina que dá origem a uma hemoglobina alterada, denominada hemoglobina S (HbS) (Piel et al. 2017). Em situações de hipóxia, a HbS polimeriza-se, dando ao eritrócito um formato de foice (Steinberg 2016).

Indivíduos HbSS são mais susceptíveis ao desenvolvimento de alterações adaptativas do órgão pulpar, tais como calcificações distróficas e metamorfose cálcica da polpa (Taylor et al. 1995, Souza et al. 2018). Embora o mecanismo que justifique a formação destas alterações de cunho adaptativo do tecido pulpar não esteja bem esclarecido, acredita-se que a injúria ao suprimento neurovascular da polpa seja uma das possíveis causas (Sundell et al. 1968).

O fenômeno de vasclusão em que células falciformes se acumulam no interior do vaso, obstruindo a microcirculação sanguínea com conseqüente formação de trombo, podem explicar o surgimento de calcificações distróficas (Sams et al. 1990; Taylor et al. 1995), ou o surgimento de metamorfose cálcica da polpa em indivíduos HbSS, visto que a hipóxia transiente durante o evento vasclusivo pode promover metaplasia celular e subsequente deposição desorganizada de dentina reacional (Consolaro et al. 2011). Além disso, também é plausível pensar que a presença de alterações no trabeculado ósseo, comumente encontradas nos maxilares de indivíduos HbSS (De Carvalho et al. 2017) possam dificultar a microcirculação favorecendo o surgimento das alterações adaptativas da polpa.

O fármaco de escolha para tratamento das manifestações da anemia falciforme é a hidroxiuréia (HU). A HU é capaz de reduzir a frequência de crises de vasclusão porque diminui a adesividade das células ao endotélio vascular. Além disso, é capaz de induzir alterações hematológicas como, aumento nas concentrações de hemoglobina fetal, hemoglobina total e hematócrito, melhorando o transporte de oxigênio no sangue e impedindo a polimerização da HbS (Lanzkron et al. 2008, Steinberg et al. 2010). A atividade da HU sobre as alterações ósseas de indivíduos HbSS ainda não é bem esclarecida, porém acredita-se que ela também possa ser capaz de aumentar a densidade mineral óssea destes indivíduos. (Sarraï et al. 2007).

Tendo em vista a possível teoria que explica o mecanismo das alterações adaptativas do tecido pulpar e as conseqüências da utilização da HU, é possível que este fármaco possa exercer algum efeito sobre tais alterações. No entanto, o efeito desta medicação para as alterações bucais é desconhecido. Desta forma, o objetivo deste estudo foi investigar qual o potencial efeito do uso contínuo da HU sobre as alterações adaptativas da polpa (AAP)

observadas em indivíduos HbSS. Para investigar este efeito, propusemos três mecanismos em que a HU 1) ao reduzir o número de crises vasclusivas por ano, 2) ao reduzir as alterações do trabeculado ósseo dos maxilares ou 3) ao aumentar os níveis de hemoglobina e hematócrito teria efeito de proteção para a ocorrência de AAP.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Desenho do estudo**

Trata-se de um estudo observacional do tipo coorte realizado em conformidade com as recomendações do STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) (Von Elm et al. 2007). A exposição (tempo de uso de HU) foi identificada de forma retrospectiva nos prontuários eletrônicos dos participantes.

Este estudo foi realizado entre agosto de 2012 e outubro de 2013, na Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFMA sob parecer nº 2.934.432. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### **Seleção da amostra**

Os sujeitos desta pesquisa foram selecionados por meio de amostragem aleatória simples sem reposição, a partir de uma população de 1.600 indivíduos potencialmente elegíveis que recebem cuidados na HEMOMAR, diagnosticados com anemia falciforme por meio de eletroforese da hemoglobina ao nascimento.

Estimou-se que uma amostra de 110 sujeitos (37 expostos e 73 não expostos) teria poder de 80% para identificar riscos relativos significantes a partir de 0.1, considerando razão de 2:1 entre expostos e não expostos, nível de confiança de 95% e prevalência do desfecho entre os não expostos igual a 23.58% (Souza et al. 2018). Prevendo-se a possibilidade de perdas, acrescentamos 10% ao tamanho da amostra, totalizando uma amostra mínima de 121 sujeitos. Foram selecionados a partir dos prontuários médicos 142 indivíduos HbSS.

Indivíduos com outras condições sistêmicas, como diabetes, obesidade, doença renal crônica e síndrome da imunodeficiência adquirida que poderiam representar risco adicional para alterações ósseas foram excluídos da amostra (n=2). Indivíduos em tratamento ortodôntico, edêntulos (n=10) e que relataram crise de dor aguda na data do exame odontológico também

foram excluídos (n=2). Dos 128 indivíduos elegíveis, 5 desistiram de participar da pesquisa. Desta forma, a amostra final do estudo consistiu em 123 indivíduos HbSS, dos quais identificou-se por meio da análise dos prontuários que 38 eram expostos e 85 não expostos a HU.

### **Coleta de dados**

O tempo de exposição a HU (variável de exposição) foi verificado nos prontuários eletrônicos dos participantes da pesquisa e categorizado em: 0- nunca utilizou HU, 1- até 1 ano de utilização, 2- de 1 a 2 anos de utilização e 3- mais de 2 anos de utilização.

As variáveis cor auto-referida (branca, parda ou preta), sexo (masculino ou feminino), idade (em anos) e classe socioeconômica (CSE), segundo a Associação Brasileira de Estudos e Pesquisas – ABEP (A, B, C, D ou E) (Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa 2016) foram coletadas por dois entrevistadores previamente treinados ( $\kappa=0.87$ ), empregando um questionário estruturado.

Os dados referentes aos níveis séricos de hemoglobina e hematócrito, consideradas como variáveis contínuas, foram resgatados dos registros hospitalares na mesma data em que foram realizados os exames clínico odontológico e radiográfico.

O número de crises vasclusivas do último ano também foi resgatado dos prontuários eletrônicos. Foram considerados como crises vasclusivas, os episódios de dores nos braços, pernas, costas, abdômen, tórax ou cabeça relatados nos prontuários, para qual não houvesse outra explicação além da vasclusão e que requereram terapia com anti-inflamatórios não-esteroidais ou analgésicos narcóticos em ambiente hospitalar (Steinberg et al. 2010) sendo categorizada em: 0-nenhuma, 1- uma crise, 2-duas crises, 3- três crises ou mais.

Foram realizadas tomadas radiográficas utilizando a técnica do paralelismo com posicionadores radiográficos convencionais (Cone Indicator<sup>®</sup>, Indusbello, Londrina, PR, Brasil). Foram utilizadas películas radiográficas do tipo Insight nº 2 (Kodak Brasileira Comércio de Produtos. Imagem e Serviços Ltda, Manaus, AM, Brasil) e aparelho de raios X XRM (Rhos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), operando com 60 kVp, 10 mA.

O processamento radiográfico foi realizado em caixa portátil com o auxílio de soluções reveladoras e fixadoras (Kodak Brasileira Comércio de Produtos para Imagem e Serviços Ltda, Manaus, AM, Brasil) empregando-se o método manual-visual.

As avaliações radiográficas foram realizadas em negatoscópio. Para limitar a emissão de luz deste aparelho, foi utilizada uma máscara escura ao redor da radiografia e a sala foi

escurecida. Durante todo o período de análise das radiografias foram mantidas as condições ambientais.

Estas avaliações radiográficas foram realizadas em triplicata por três examinadores cegos com experiência clínica em estudos radiográficos, previamente treinados. Para verificar a concordância inter-examinador, 140 radiografias periapicais intra-orais (boca completa, série de dez pacientes) foram avaliados cegamente em triplicata pelos três examinadores independentes ( $\kappa=0.830$ ). Em caso de desacordo, era realizada uma nova avaliação por um quarto examinador que funcionava como um árbitro até o consenso ser alcançado. Essas 140 radiografias foram incluídas na amostra, evitando exposições desnecessárias por razões éticas.

O diagnóstico das alterações do trabeculado ósseo dos maxilares (0- normal, 1- alterado) e do desfecho (alterações adaptativas da polpa - AAP), considerado como uma variável dicotômica (0- não, 1-sim) foram realizados por meio da análise das radiografias periapicais.

Para o diagnóstico das alterações do trabeculado ósseo, considerou-se como alterado, a presença do padrão trabecular em escada ou em teia de aranha conforme descrito por Mourshed & Tuckson (1974).

O parâmetro radiográfico utilizado para o diagnóstico da AAP foi a presença de calcificações distróficas ou de metamorfose cálcica da polpa. Como calcificações distróficas foram consideradas aquelas mineralizações que se apresentaram tanto de forma focal, como de forma difusa desde que apresentassem os limites pulpares delineáveis. Já como metamorfose cálcica da polpa foram consideradas as mineralizações que se apresentaram de forma difusa, mas sem os limites pulpares delineáveis (Consolaro et al. 2011). Quando era visto qualquer um dos tipos de mineralizações, a variável recebia score 1- indicando presença de AAP.

### **Construção da variável latente**

Variáveis latentes são variáveis não observáveis que reduzem o erro de medição de variáveis que são difíceis de definir ou diagnosticar (Kline 2011). A HU induz aumento nos níveis de hemoglobina total e hematócrito – o aumento destes parâmetros pode indicar melhora da anemia e do transporte de oxigênio no sangue, o que poderia impedir a polimerização da HbS. Sendo assim, neste estudo foi construída uma variável latente denominada “Série Vermelha” a partir destes dois indicadores. Para construção da variável latente, a hemoglobina e o hematócrito foram consideradas como variáveis contínuas.

### **Modelo Teórico**

No modelo teórico construído para explorar o potencial efeito (proteção ou risco) do tempo de uso de HU sobre as AAP (Fig. 1), a CSE e a idade foram consideradas determinantes mais distais (variáveis exógenas) exercendo efeitos nas variáveis de exposição (Fernandes et al. 2015), de desfecho (Gulsahi et al. 2009), bem como nas demais variáveis endógenas do modelo (Aljuburi et al. 2013).

As variáveis frequência de crises vasclusivas no último ano, alterações do padrão trabecular ósseo dos maxilares e a variável latente “Série Vermelha” exercem efeitos mais proximais sobre as AAP. O tempo de uso de HU (variável de exposição) exerce efeito direto sobre a variável de desfecho, ou efeitos indiretos via: 1) redução da frequência de crises vasclusivas no último ano (Steinberg et al. 2010, Voskaridou et al. 2011), 2) redução das alterações do padrão trabecular ósseo (Sarrai et al. 2007) e 3) aumento dos níveis séricos de hemoglobina e hematócrito - variável latente “série vermelha” (Wang et al. 2011), estabelecendo assim, os três possíveis mecanismos propostos neste estudo.

### **Análise descritiva e Modelagem de Equações Estruturais**

Foram estimadas frequências absolutas e percentuais para as variáveis categóricas, bem como média ( $\pm$  desvio-padrão) para as variáveis quantitativas. Foi utilizada imputação pelo método de regressão múltipla para o ajuste de dados perdidos. Estas análises foram realizadas com o software STATA/SE 12.0 (Statacorp LLC, College Station, Texas, EUA).

O modelo teórico proposto foi testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais - MEE (*Structural Equation Modeling* – SEM), utilizando o software MPlus versão 7.0 (Muthén & Muthén, Los Angeles, CA, EUA) (Muthén and Muthén).

A MEE é um método estatístico que testa hipóteses sobre a relação entre variáveis latentes (representadas por círculos ou elipses) e variáveis observáveis (representadas por quadrados ou retângulos) por meio de um conjunto de equações estruturais que permitem avaliar os efeitos diretos e indiretos das variáveis sobre o desfecho (Kline 2011).

A variável latente apresenta validade convergente quando os valores das cargas fatoriais são superiores a 0.30, mostrando que seus indicadores medem o mesmo constructo. Além disso, a validade discriminante, que mostra que os seus indicadores medem aspectos distintos do constructo, também devem ser avaliados. Desta forma a correlação entre os indicadores não deve ser superior a 0.90 (Kline 2011).

O modelo foi considerado bem ajustado quando os seguintes parâmetros foram observados: p-valor do teste Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) maior que 0.05; Root Mean Square Error of

Approximation (RMSEA) menor que 0.05; limite superior do IC90% do RMSEA menor que 0.08; índices incrementais Comparative Fit Index (CFI) e Tucker-Lewis Index (TLI) maiores que 0.95; e Weighted Root Mean Square Residual (WRMR) menor que 1.0 (Byrne 2012).

O método dos mínimos quadrados ponderados ajustados pela média e variância-WLSMV (Weighted Least Squares Mean and Variance Adjusted) e parametrização theta para controle das variâncias residuais (Muthén & Muthén, 2010) foram utilizados na estimação. Os efeitos diretos e indiretos das variáveis latente e observadas sobre o desfecho AAP foram avaliados. Julgou-se haver efeito quando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

A amostra (n=123) foi composta principalmente por indivíduos do sexo feminino (64.23%) pertencentes à CSE C (59,35%) que se autodeclararam pardos (54.47%). A média ( $\pm$ DP) da idade foi 21.28 anos ( $\pm$ 9.20). A alteração do trabeculado ósseo dos maxilares foi observada em 82.11% da amostra. A prevalência do desfecho foi de 11.38%. A HU foi utilizada por 8.94% da amostra por mais de 2 anos (Tab.1).

Foram imputados valores para os dados perdidos referentes aos parâmetros hematológicos. Assim, foram imputadas 48 (39.02%) observações para o hematócrito e 21 (17.07%) para a hemoglobina.

O modelo teórico testado por meio da MEE mostrou bons índices de ajuste para todos os parâmetros adotados (Tab. 2). As cargas fatoriais dos indicadores da variável latente foram: 0.87 para o hematócrito ( $p < 0.001$ ) e 0.92 para a hemoglobina total ( $p < 0.001$ ). Estes dados apontam boa validade convergente e divergente (Fig. 2).

A tabela 3 mostra os efeitos totais e diretos das variáveis incluídas no modelo sobre o desfecho AAP. O efeito total do tempo de uso de HU sobre o desfecho foi negativo (CFP= -0.451,  $p=0.021$ ), reduzindo a ocorrência de AAP. As variáveis frequência de crises de vasclusão, alterações do trabeculado ósseo dos maxilares e a variável latente “Série Vermelha” não apresentaram efeitos sobre as AAP. A idade teve um efeito total positivo sobre o desfecho (CFP=0.287,  $p=0.028$ ).

O tempo de uso de HU reduziu o número de crises vasclusivas por ano (CFP= -0.316,  $p=0.014$ ). Não foi observado efeito da HU sobre as alterações do trabeculado ósseo dos maxilares (CFP=0.316,  $p=0.159$ ). Observou-se efeito direto positivo entre o tempo de uso de HU e a variável latente “Série Vermelha” (CFP=0.390,  $p < 0.001$ ). (Tab. 4).

Foi observada ainda associação entre CSE e o tempo de uso de HU (CFP= 0.364,  $p=0.002$ ) e entre CSE e crises vasoclusivas (CFP= 0.228,  $p=0.042$ ). As crises vasoclusivas apresentaram efeito direto sobre as alterações do padrão do trabeculado ósseo dos maxilares (CFP=0.443,  $p= 0.002$ ) (Tab. 4).

Os efeitos indiretos não foram significantes (dados não mostrados).

## DISCUSSÃO

A HU reduz as complicações da anemia falciforme (Wang et al. 2011), porém até o momento permanecia desconhecido se este fármaco seria capaz de desempenhar algum efeito sobre os tecidos bucais, especialmente sobre as alterações adaptativas da polpa. Neste estudo, o tempo de uso da HU apresentou um efeito total protetor para a ocorrência destas alterações. Três mecanismos foram propostos para investigar este efeito de proteção. No entanto, os mecanismos explorados não conseguiram explicar o efeito protetor da HU sobre o desfecho deste estudo.

O primeiro mecanismo testado sugeria que o tempo de uso de HU ao reduzir a frequência de crises de vasoclusão teria um efeito de proteção para as AAP. Este mecanismo foi refutado porque embora o tempo de uso de HU tenha reduzido a frequência das crises vasoclusivas, corroborando outros estudos anteriores (Steinberg et al. 2010, Wang et al. 2011), não foi observado efeito da frequência das crises de vasoclusão sobre as AAP. Uma explicação plausível para este resultado é que a crise de vasoclusão aguda não é o único evento responsável pela formação de trombos no interior dos vasos sanguíneos em indivíduos HbSS (Kato et al. 2017). A hemólise, outra característica da anemia falciforme, ao ser induzida em modelos animais devido a inalação de 2 butoxyethanol foi responsável pela formação de trombos, pelo infarto pulpar e pelo infarto de odontoblastos em incisivos superiores de ratos (Long et al. 2000). Desta forma, poderíamos especular que a hemólise seria uma explicação adicional para a ocorrência de alterações pulpares, inclusive AAP em indivíduos HbSS.

O segundo mecanismo testado que sugeria um efeito protetor da HU para a AAP mediada pela redução das alterações do trabeculado ósseo também foi refutado. Sabe-se que a etiologia das alterações ósseas, tais como osteopenia e osteoporose em indivíduos HbSS é multifatorial e inclui não só a hiperplasia da medula óssea provocada pela hemólise crônica (Baldanzi et al. 2011), como deficiência de vitamina D (Lal et al. 2006) e zinco (Miller et al. 2006) e o *overload* de ferro (Sadat-Ali et al. 2011). Até o momento, não identificamos estudos

que tenham investigado que outros fatores, além da hiperplasia da medula óssea, possam explicar a ocorrência de alterações do trabeculado ósseo dos maxilares nestes indivíduos. Mas, é possível que as alterações do trabeculado ósseo dos maxilares não ocorram de forma diferente às alterações ósseas do restante do corpo. Assim, acreditamos que a etiologia múltipla destas alterações poderia justificar porque a HU não apresentou efeito sobre as alterações ósseas dos maxilares observadas nestes indivíduos.

Ainda no segundo mecanismo, sugerimos que a presença de alterações do trabeculado ósseo dos maxilares pudessem representar um risco para ocorrência de AAP, porém isto não foi evidenciado neste estudo. A presença de alterações ósseas, como osteoporose, foi capaz de diminuir a permeabilidade dos vasos sanguíneos e de reduzir o número de vasos e o espaço intravascular no fêmur de modelos animais HbAA (Liu et al. 2013). Além disso, já foi verificado que dentes superiores hígidos de indivíduos HbSS apresentam redução da saturação de oxigênio, atribuído à presença de amplos espaços medulares na maxila (Souza et al. 2017). Desta forma, não descartamos a possibilidade da nossa amostra não ter poder suficiente para detectar associação entre alterações ósseas e AAP, já que 82% da amostra apresentou alteração na maxila ou na mandíbula.

O terceiro mecanismo proposto sugeria que a HU ao aumentar os níveis séricos de hemoglobina e hematócrito (variável latente “Série Vermelha”) teria um efeito protetor para AAP. Este mecanismo também foi refutado porque embora o tempo de uso de HU tenha apresentado efeito direto sobre a variável latente “Série Vermelha”, corroborando os resultados de outros estudos (Steinberg et al. 2010, Voskaridou et al. 2011; Wang et al. 2011), não foi observado efeito do constructo “Série Vermelha” sobre o desfecho AAP. Sabe-se que a formação de trombos no interior do vaso sanguíneo não depende somente da polimerização da HbS. A formação de trombos depende de vários fatores, tais como adesividade das células ao endotélio vascular, número de leucócitos e plaquetas, volume corpuscular médio, dentre outros. Isto poderia explicar porquê a variável latente “Série Vermelha” não apresentou efeito sobre o desfecho do estudo.

Visto que os três mecanismos propostos neste estudo foram refutados, especulamos que o efeito total protetor da HU para o desfecho deste estudo seja explicado não por um mecanismo único, mas pelo acúmulo de efeitos benéficos trazidos por vários mecanismos de ação conhecidos do fármaco. Assim, este efeito protetor seria explicado não só pela redução das crises vasclusivas agudas ou pelo aumento dos níveis de hemoglobina e hematócrito, como também por outros efeitos benéficos conhecidos, tais como diminuição das taxas de hemólise



(Steinberg et al. 2010, Voskaridou et al. 2011; Wang et al. 2011), aumento da deformabilidade e redução da força de agregação dos eritrócitos (Lemonne et al. 2015), redução do número de leucócitos, redução do estado de hipercoagulabilidade da doença (Colella et al. 2012), aumento dos níveis de Oxido Nítrico (Gladwin et al. 2002, King 2004) e redução do estresse oxidativo no interior do vaso sanguíneo (Nader et al. 2018).

No Brasil, a HU é indicada para pacientes considerados mais graves que apresentaram pelo menos 3 crises vasoclusivas no último ano. Assim, é importante notar que apesar dos pacientes que utilizam HU serem considerados mais graves, os pacientes que a utilizaram por mais tempo foram os que apresentaram menos AAP. Alguns estudos têm sugerido que a terapia com HU deva iniciar-se durante a infância, independente do início dos sintomas ou do número de crises vasoclusivas por ano. Esta indicação pode ser útil para prevenir a ocorrência de alterações bucais nestes indivíduos. Outro ponto a ser destacado é que não podemos afirmar que o tempo de uso de HU tenha a capacidade de reverter as AAP já existentes e sim que poderia prevenir a sua ocorrência.

A idade esteve associada a AAP neste estudo. A idade já é reconhecida como um importante preditor para a ocorrência de calcificações pulpares (Gulsahi et al. 2009, Udoeye and Sede 2011). Isto porque a diminuição da contagem de odontoblastos e subodontoblastos (Hossain et al. 2017), a redução da saturação de oxigênio (Estrela et al. 2017), a diminuição da contagem de vasos sanguíneos e as alterações arterioscleróticas, que ocorrem na polpa dentária devido ao aumento da idade, podem facilitar a formação de depósitos minerais nas paredes das arteríolas (Bernick 1962).

Nossos resultados mostraram ainda uma associação entre crises vasoclusivas e alteração do trabeculado ósseo dos maxilares. A baixa densidade mineral óssea nestes indivíduos, como osteopenia e osteoporose, já foram associados às crises vasoclusivas (Gupta et al. 2009). Com base em achados proveniente de estudo conduzido em modelos animais, isto é possível porque a crise vasoclusiva aguda promove recrutamento e ativação dos osteoclastos, aumenta a renovação óssea e inibe a osteogênese promovendo perda óssea (Carbonare et al. 2015).

A CSE associou-se positivamente ao tempo de uso de HU, indicando que quanto mais elevada a classe socioeconômica, maior o tempo de utilização de HU. Nosso resultado corrobora um estudo anterior (Fernandes et al. 2015). No Brasil, a HU é fornecida de forma gratuita aos pacientes falcêmicos pelo Sistema Único de Saúde. Desta forma, acreditamos que este resultado possa ser devido ao grau de conhecimento que indivíduos com condição

socioeconômica mais favorecida têm em relação aos benefícios do tratamento com este fármaco.

A classe socioeconômica também se associou à frequência de crises vasoclusivas indicando que quanto maior a classe socioeconômica, maior é a ocorrência das crises. Este resultado vai de encontro à literatura, onde é apontado que piores condições socioeconômicas são relacionadas a maior frequência de crises vasoclusivas (Aljuburi et al. 2013). No entanto, acreditamos que como foi utilizado o critério de necessidade de hospitalização para definição dos eventos vasoclusivos, indivíduos com classe socioeconômica mais alta podem ter maior facilidade de acesso aos hospitais em caso de crises, além de serem mais assíduos às visitas médicas e reportarem com mais facilidade a frequência de suas crises, justificando esse resultado.

Como limitação do estudo citamos a porcentagem de dados perdidos referentes aos parâmetros hematológicos, hemoglobina e hematócrito. Dados perdidos em estudos epidemiológicos são um problema relativamente comum e a exclusão dos participantes que tiveram dados perdidos poderia produzir estimativas enviesadas, além de reduzir o poder do estudo (Nunes et al. 2009). Desta forma, optamos pelo método de imputação múltipla, visto que o mesmo é bastante eficaz para produzir estimativas mais fidedignas à realidade (Nunes et al. 2009, Harel et al. 2018).

Outro aspecto a ser ressaltado é que no momento da avaliação radiográfica, as AAP já existiam. Assim, não foi possível definir se elas ocorreram antes ou após a utilização da HU. Isto também poderia ser apontado como uma limitação desse estudo.

Como pontos fortes deste estudo destaca-se a seleção aleatorizada da amostra que proveio do único centro de Hematologia e Hemoterapia do estado do Maranhão, eliminando possível viés na seleção dos participantes. Além disso, o desenho do estudo permitiu que a alocação dos indivíduos nos grupos de exposição ocorresse de forma retrospectiva, onde o tempo de uso da medicação foi confirmado nos prontuários eletrônicos, eliminando possível viés de memória, caso essa informação fosse obtida por meio de questionário. Adiciona-se ainda como ponto forte do estudo a utilização da Modelagem de Equações Estruturais, um método estatístico robusto que nos possibilitou em uma única análise, avaliar diferentes caminhos explicativos para a associação entre a exposição e o desfecho do estudo.

Assim, conclui-se que o uso de HU, único fármaco utilizado para reduzir as complicações da anemia falciforme, tem também efeito protetor adicional sobre as alterações adaptativas da polpa em indivíduos HbSS.

## REFERÊNCIAS

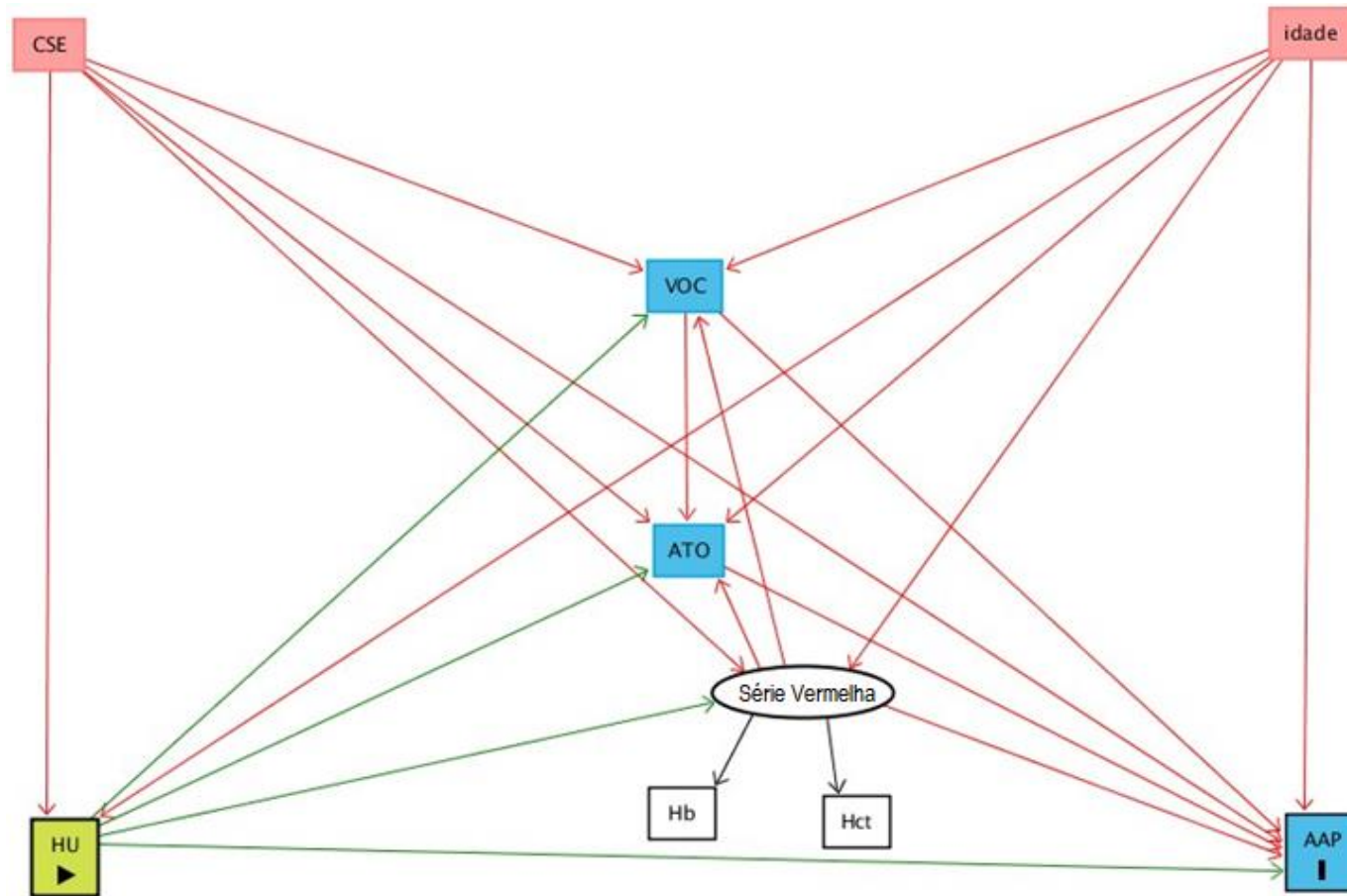
- Aljuburi G, Laverty AA, Green SA, et al (2013) Socio-economic deprivation and risk of emergency readmission and inpatient mortality in people with sickle cell disease in England: Observational study. *J Public Health (Bangkok)* **35**, 510–517. doi: 10.1093/pubmed/fdt100
- Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (2016) Critério Brasil 2015 e atualização da distribuição de classes para 2016. *Critério Classif econômica Bras* 1–6
- Baldanzi G, Traina F, Marques Neto JF, et al (2011) Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. *Clinics* **66**, 801–805. doi: 10.1590/S1807-59322011000500015
- Bernick S (1962) Age changes in the nerves of molar teeth of rats. *Anat Rec* **143**, 121–126. doi: 10.1002/ar.1091430205
- Byrne BM (2012) Structural Equation Modeling with M plus. Basic Concepts, Applications, and Programming
- Carbonare LD, Matte' A, Valenti MT, et al (2015) Hypoxia-reperfusion affects osteogenic lineage and promotes sickle cell bone disease. *Blood* **126**, 2320–2328. doi: 10.1182/blood-2015-04-641969
- Colella MP, De Paula E V., Conran N, et al (2012) Hydroxyurea is associated with reductions in hypercoagulability markers in sickle cell anemia. *J Thromb Haemost* **10**, 1967–1970. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04861.x
- Consolaro A, Francischone LA, Consolaro RB, et al (2011) Calcific metamorphosis and aseptic necrosis of the pulp : differential diagnosis of tooth discoloration. *Dent Press Endod* **1**, 11–20
- De Carvalho HLCC, Rolim JYS, Thomaz ÉBAF, Souza S de FC (2017) Are dental and jaw changes more prevalent in a Brazilian population with sickle cell anemia? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* **9**, 76-84. doi: 10.1016/j.oooo.2017.02.016
- Estrela C, Serpa GC, Alencar AHG, et al (2017) Oxygen saturation in the dental pulp of maxillary premolars in different age groups - Part 1. *Braz Dent J* **28**, 573–577. doi: 10.1590/0103-6440201701660
- Fernandes TAA de M, Medeiros TMD de, Alves JJP, et al (2015) Socioeconomic and demographic characteristics of sickle cell disease patients from a low-income region of northeastern Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter* **37**, 172–177. doi: 10.1016/j.bjhh.2015.03.013
- Gladwin M, Shelhamer J, Ognibene F, et al (2002) Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* **116**, 436–444. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03274.x
- Gulsahi A, Cebeci AI, Özden S (2009) A radiographic assessment of the prevalence of pulp stones in a group of Turkish dental patients. *Int Endod J* **42**, 735–739. doi: 10.1111/j.1365-2591.2009.01580.x
- Gupta R, Marouf R, Adekile A (2009) Pattern of bone mineral density in sickle cell disease

- patients with the high-Hb F phenotype. *Acta Haematol* **123**, 64–70. doi: 10.1159/000262319
- Harel O, Mitchell EM, Perkins NJ, et al (2018) Multiple imputation for incomplete data in epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* **187**, 576–584. doi: 10.1093/aje/kwx349
- Hossain MZ, Daud S, Nambiar P, et al (2017) Correlation between numbers of cells in human dental pulp and age: implications for age estimation. *Arch Oral Biol* **80**, 51–55. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.03.018
- Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT (2017) Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest* **127**, 750–760. doi: 10.1172/JCI89741
- King SB (2004) Nitric oxide production from hydroxyurea. *Free Radic Biol Med* **37**, 737–744. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.073
- Kline RB (2011) Principles and practice of structural equation modeling
- Lal A, Fung EB, Pakbaz Z, et al (2006) Bone mineral density in children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* **47**, 901–906. doi: 10.1002/pbc
- Lanzkron S, Strouse JJ, Wilson R, et al (2008) Systematic review: Hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. *Ann Intern Med* **148**, 939–955. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.
- Lemonne, N; Charlot, K; Waltz, X; Ballas, S.K; Lamarre, Y; Lee, K; Hierso, R; Connes, C; Etienne-Julan, M; Romana, M; Connes P (2015) Hydroxyurea treatment does not increase blood viscosity and improves red blood cell rheology in sickle cell anemia. *Haematologica* **100**, 383–386. doi: 10.3324/haematol.2015.130435
- Liu Y, Cao L, Hillengass J, et al (2013) Quantitative assessment of microcirculation and diffusion in the bone marrow of osteoporotic rats using VCT, DCE-MRI, DW-MRI, and histology. *Acta radiol* **54**, 205–213. doi: 10.1258/ar.2012.120508
- Long PH, Maronpot RR, Ghanayem BI, et al (2000) Dental pulp infarction in female rats following inhalation exposure to 2-butoxyethanol. *Toxicol Pathol* **28**, 246–252. doi: 10.1177/019262330002800204
- Miller RG, Segal JB, Ashar BH, et al (2006) High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. *Am J Hematol* **81**, 236–241. doi: 10.1002/ajh
- Mourshed F, Tuckson CR (1974) A study of the radiographic features of the jaws in sickle cell anemia. *Am Acad Dent Radiol* **37**, 812–819
- Muthén LK, Muthén BO User 's Guide. doi: 10.1111/j.1600-0447.2011.01711.x
- Nader E, Grau M, Fort R, et al (2018) Hydroxyurea therapy modulates sickle cell anemia red blood cell physiology: Impact on RBC deformability, oxidative stress, nitrite levels and nitric oxide synthase signalling pathway. *Nitric Oxide* **81**, 28–35. doi: 10.1016/j.niox.2018.10.003
- Nunes LN, Klück MM, Fachel JMG (2009) Multiple imputations for missing data: a simulation with epidemiological data. *Cad Saude Publica* **25**, 268–278. doi: S0102-311X2009000200005 [pii]
- Piel FB, Steinberg MH, Rees DC (2017) Sickle Cell Disease. *N Engl J Med* **376**, 1561–1573.

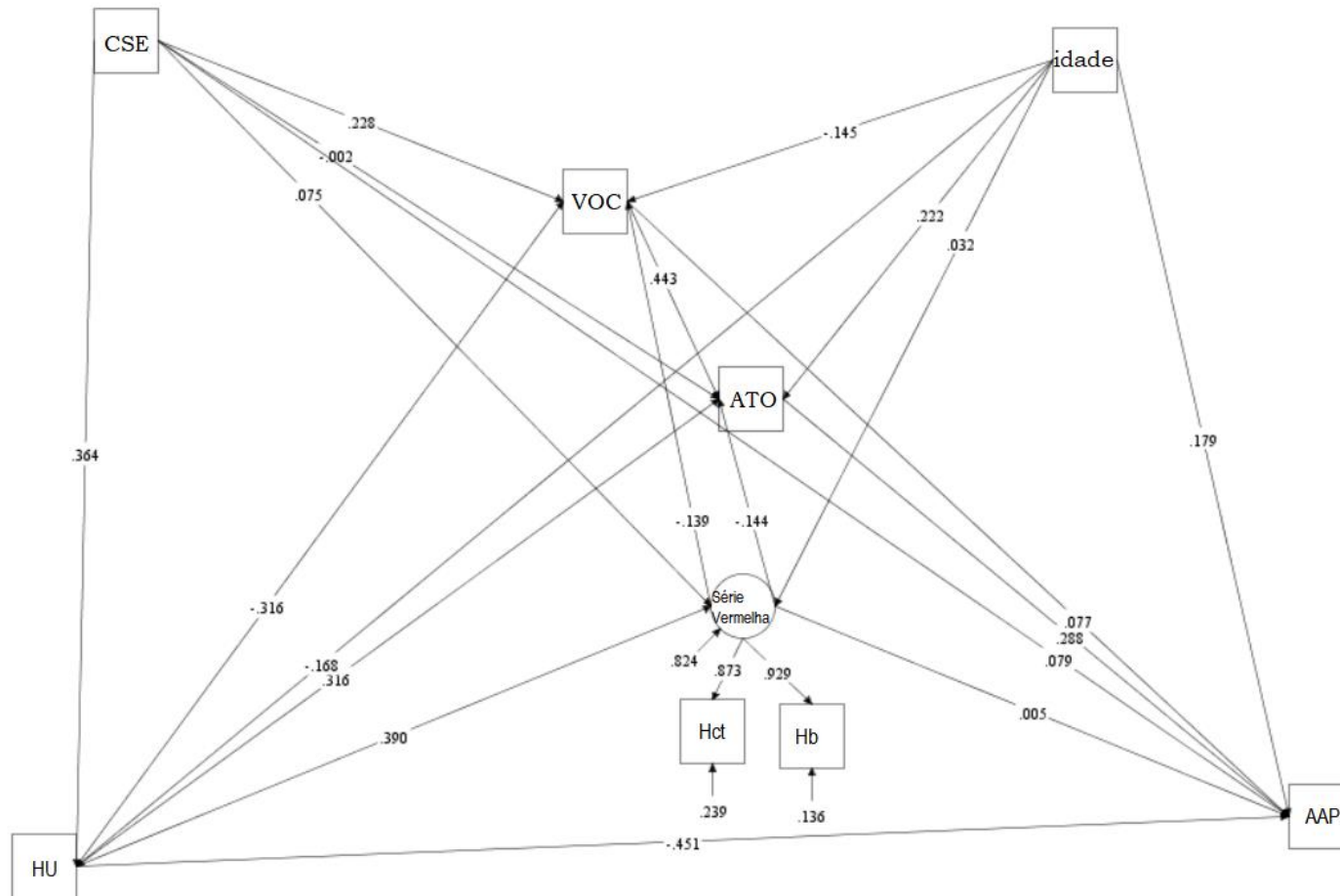
doi: 10.1056/NEJMra1510865

- Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, et al (1991) Pain in sickle cell disease: rates and risk factors. *N Engl J Med* **325**, 11–16
- Sadat-Ali M, Sultan O, Al-Turki H, Alelq A (2011) Does high serum iron level induce low bone mass in sickle cell anemia? *BioMetals* **24**, 19–22. doi: 10.1007/s10534-010-9391-4
- Sams DR, Thornton JB, Amamoo P a. (1990) Managing the dental patient with sickle cell anemia : a review of the literature. *Pediatr Dent* **12**, 316–320
- Sarrai M, Duroseau H, D'Augustine J, et al (2007) Bone mass density in adults with sickle cell disease. *Br J Haematol* **136**, 666–672. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06487.x
- Souza S de FC, De Carvalho HLCC, Costa CPS, Thomaz ÉBAF (2018) Association of sickle cell haemoglobinopathies with dental and jaw bone abnormalities. *Oral Dis* **24**, 393–403. doi: 10.1111/ijlh.12426
- Souza S de FC, Thomaz EBAF, Costa CPS (2017) Healthy Dental Pulp Oxygen Saturation Rates in Subjects with Homozygous Sickle Cell Anemia: A Cross-Sectional Study Nested in a Cohort. *J Endod* **43**, 1997–2000. doi: 10.1016/j.joen.2017.07.011
- Steinberg MH (2016) Overview of sickle cell anemia pathophysiology. Springer, Cham 49–73. doi: 10.1007/978-3-319-06713-1
- Steinberg MH, McCarthy WF, Castro O, et al (2010) The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: A 17.5 year follow-up. *Am J Hematol* **85**, 403–408. doi: 10.1002/ajh.21699
- Sundell JR, Stanley HR, White CL (1968) The relationship of coronal pulp stone formation to experimental operative procedures. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol* **25**, 579–589. doi: 10.1016/0030-4220(68)90303-4
- Taylor LB, Nowak AJ, Giller RH, Casamassimo PS (1995) Sickle cell anemia: A review of the dental concerns and a retrospective study of dental and bony changes. *Spec Care Dent* **15**, 38–42. doi: 10.1111/j.1754-4505.1995.tb00469.x
- Udoye C, Sede M (2011) Prevalence and analysis of factors related to occurrence of pulp stone in adult restorative patients. *Ann Med Heal Sci Res* **1**, 9–14
- Von Elm E, Altman DG, Egger M, et al (2007) The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *PLoS Med* **4**, 1623–1627. doi: 10.1371/journal.pmed.0040296
- Voskaridou E, Christoulas D, Bilalis A, et al (2011) The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes : results of a The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cel. *Blood* **115**, 2354–2363. doi: 10.1182/blood-2009-05-221333
- Wang WC, Ware RE, Miller ST, et al (2011) Hydroxycarbamide in very young children with sickle-cell anaemia: A multicentre, randomised, controlled trial (BABY HUG). *Lancet* **377**, 1663–1672. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60355-3





**Figura 1.** Modelo teórico do estudo (desfecho: ter AAP). AAP, Alteração adaptativa da polpa; HU, tempo de uso de hidroxiuréia; CSE, classe socioeconômica; ATO, alterações do trabeculado ósseo dos maxilares; VOC, crises vasclusivas; Série Vermelha, variável latente formada por dois indicadores: Hb, hemoglobina total; Hct, hematócrito.



**Figura 2.** Modelo teórico do estudo testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais (desfecho: ter AAP). AAP, Alteração adaptativa da polpa; HU, tempo de uso de hidroxiuréia; CSE, classe socioeconômica; ATO, alterações do trabeculado ósseo dos maxilares; VOC, crises vasoclusivas; Série vermelha, variável latente formada por dois indicadores: Hb, hemoglobina total; Hct, hematócrito.



**Tabela 1.** Caracterização da amostra (n=123).

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Tempo de uso de HU</b>		
Nunca usou	85	69.11
Até 1 ano	15	12.20
De 1 a 2 anos	12	9.76
Mais de 2 anos	11	8.94
<b>Alteração adaptativa da polpa (AAP)</b>		
Sim	14	11.38
Não	109	88.62
<b>Sexo</b>		
Masculino	44	35.77
Feminino	79	64.23
<b>Cor da pele auto referida</b>		
Preta	48	39.02
Parda	67	54.47
Branca	8	6.50
<b>Classe Socioeconômica</b>		
B	19	15.45
C	73	59.35
D	25	20.33
E	6	4.88
<b>Crises vasoclusivas no último ano</b>		
Nenhuma	39	31.71
Uma	27	21.95
Duas	25	20.33
Três ou mais	32	26.02
<b>Trabeculado ósseo dos maxilares</b>		
Normal	22	17.89
Alterado	101	82.11
	<b>Média</b>	<b>Dp</b>
<b>Idade</b>	21.28	±9.20

n= valor absoluto; % = valor relativo; Dp= desvio-padrão.

**Tabela 2.** Índices de ajuste do modelo teórico do estudo (desfecho: alteração adaptativa da polpa).

<b>Índices de ajuste</b>	<b>Esperado</b>	<b>Ajuste do Modelo</b>
Nº de parâmetros livres		34
Graus de liberdade		5
$\chi^2$ <sup>a</sup>		1.488
P-valor do $\chi^2$	>0.05	0.91
RMSEA <sup>b</sup>	<0.05	<0.001
IC90% do RMSEA <sup>c</sup>	<0.08	0.0-0.047
CFI <sup>d</sup>	>0.95	1.00
TLI <sup>e</sup>	>0.95	1.00
WRMR <sup>f</sup>	<1.00	0.07

<sup>a</sup>Teste Qui-Quadrado –  $\chi^2$

<sup>b</sup>Root Mean Square Error of Approximation - RMSEA

<sup>c</sup>Intervalo de Confiança a 90%

<sup>d</sup>Comparative Fit Index – CFI

<sup>e</sup>Tucker Lewis Index – TFI

<sup>f</sup>Weighted Root Mean Square Residual – WRMR

**Tabela 3.** Efeitos totais e diretos das variáveis incluídas no modelo de equações estruturais sobre o desfecho (n=123).

AAP	EFEITOS TOTAIS			EFEITOS DIRETOS		
	CFP	EP	p-valor	CFP	EP	p-valor
HU	-0.451	0.195	<b>0.021*</b>	-0.451	0.279	0.106
Frequência de crises vasclusivas	0.205	0.225	0.362	0.077	0.278	0.781
Alterações do trabeculado ósseo	0.288	0.271	0.287	0.288	0.271	0.287
Variável latente “Série Vermelha”	-0.066	0.169	0.698	0.005	0.187	0.981
Idade	0.287	0.131	<b>0.028*</b>	0.179	0.169	0.289
CSE	-0.044	0.146	0.765	0.079	0.183	0.667

AAP, alteração adaptativa da polpa.

HU, hidroxuréia.

CSE, classe socioeconômica.

CFP, Cargas Fatoriais Padronizadas.

EP, erro padrão.

\*estatisticamente significante.

**Tabela 4.** Efeitos diretos das demais variáveis do estudo na análise de equações estruturais.

Variáveis	Modelo Teórico		
	CFP	EP	P – valor
<b>Variável latente “ Série Vermelha” by</b>			
Hematócrito	0.873	0.045	<0.001*
Hemoglobina	0.929	0.047	<0.001*
<b>Tempo de uso de HU on</b>			
CSE	0.364	0.117	0.002*
Idade	-0.168	0.121	0.164
<b>Alteração do trabeculado ósseo dos maxilares on</b>			
CSE	-0.002	0.158	0.990
Idade	0.222	0.137	0.107
Frequência de crises vasclusivas	0.443	0.144	0.002*
Variável latente “Série vermelha”	-0.144	0.143	0.311
Tempo de uso de HU	0.316	0.224	0.159
<b>Variável latente “Série Vermelha” on</b>			
CSE	0.075	0.109	0.489
Idade	0.032	0.095	0.737
Tempo de uso de HU	0.390	0.095	<0.001*
<b>Frequência de crises vasclusivas on</b>			
CSE	0.228	0.112	0.042*
Idade	-0.145	0.100	0.146
Variável latente “Série vermelha”	-0.139	0.108	0.197
Tempo de uso de HU	-0.316	0.129	0.014*

AAP, alteração adaptativa da polpa.

HU, hidroxúria.

Série vermelha, variável latente.

CSE, classe socioeconômica.

CFP, Cargas Fatoriais Padronizadas.

EP, erro padrão.

\*estatisticamente significativa.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo contribuiu para esclarecer os possíveis efeitos do uso da HU sobre as alterações pulparem em indivíduos com anemia falciforme. Foi observado um efeito protetor para a ocorrência das alterações adaptativas da polpa. Como este efeito não foi explicado pela redução das crises vasoclusivas, nem pela presença de alterações do padrão trabecular ósseo dos maxilares, levantamos mais uma hipótese de que outras crises falcêmicas, como as crises hemolíticas, possam contribuir para o acometimento do tecido pulpar em indivíduos HbSS. Nesta perspectiva, há necessidade de mais evidências para esclarecer qual mecanismo fisiopatológico da anemia falciforme seria capaz de afetar os tecidos pulparem.

## REFERÊNCIAS

- AKINYOOLA, A. L. et al. Risk factors for osteonecrosis of the femoral head in patients with sickle cell disease. **International Orthopaedics**, v. 33, n. 4, p. 923–926, 2009.
- AL-ISMAILI, Hilal; NASIM, Omar; BAKATHIR, Abdulaziz. Jaw osteomyelitis as a complication of sickle cell anaemia in three Omani patients: Case reports and literature review. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 17, n. 1, p. e93–e97, 2017.
- ALJUBURI, Ghida et al. Socio-economic deprivation and risk of emergency readmission and inpatient mortality in people with sickle cell disease in England: Observational study. **Journal of Public Health**, v. 35, n. 4, p. 510–517, 2013.
- ARAUJO, Juliane Piráquine et al. Bilateral mandibular osteomyelitis mimicking periapical cysts in a patient with sickle cell anemia. **Autopsy and Case Reports**, v. 5, n. 3, p. 55–60, 2015. Disponível em: <<http://doi.editoracubo.com.br/10.4322/acr.2015.013>>.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. Critério Brasil 2015 e atualização da distribuição de classes para 2016. **Critério de classificação econômica Brasil**, p. 1–6, 2016. Disponível em: <<http://www.abep.org/criterio-brasil>>.
- BALDANZI, Gabriel et al. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. **Clinics**, v. 66, n. 5, p. 801–805, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1807-59322011000500015&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322011000500015&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>.
- BYRNE, Barbara M. **Structural Equation Modeling with M plus. Basic Concepts, Applications, and Programming**. [S.l: s.n.], 2012.
- CARBONARE, Luca Dalle et al. Hypoxia-reperfusion affects osteogenic lineage and promotes sickle cell bone disease. **Blood**, v. 126, n. 20, p. 2320–2328, 2015.
- COLELLA, M. P. et al. Hydroxyurea is associated with reductions in hypercoagulability markers in sickle cell anemia. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 10, n. 9, p. 1967–

1970, 2012.

CONSOLARO, Alberto et al. Calcific metamorphosis and aseptic necrosis of the pulp : differential diagnosis of tooth discoloration. **Dental Press Endod**, v. 1, n. 2, p. 11–20, 2011.

CONSOLARO, Alberto; BERNARDINI, Rocha. Metamorfose cálcica da polpa e necrose pulpar asséptica no planejamento ortodôntico. **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**, v. 12, n. 6, p. 21–23, 2007.

COSTA, Cyrene Piazero Silva et al. Is sickle cell anemia a risk factor for severe dental malocclusion? **Brazilian oral research**, v. 29, n. 1, p. 1–7, 2015.

COSTA, Cyrene Piazero Silva; THOMAZ, Erika Bárbara Abreu Fonseca; SOUZA, Soraia De Fátima Carvalho. Association between sickle cell anemia and pulp necrosis. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 2, p. 177–181, 2013.

DARBARI, Deepika S. et al. Markers of severe vaso-occlusive painful episode frequency in children and adolescents with sickle cell anemia. **The Journal of Pediatrics**, v. 160, n. 2, p. 286–290, 2013.

DE CARVALHO, Halinna Larissa Cruz Correia et al. Are dental and jaw changes more prevalent in a Brazilian population with sickle cell anemia? **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 9, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212440317300950>>.

DEMIRBAŞ KAYA, A.; AKTENER, B. O.; ÜNSAL, C., Pulpal necrosis with sickle cell anaemia. **International Endodontic Journal**, v. 37, n. 9, p. 602–606, 2004.

DI NARDO DI MAIO, F. et al. Nitric oxide synthase in healthy and inflamed human dental pulp. **Journal of dental research**, v. 83, n. 4, p. 312–316, 2004. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=15044505>>.

FERNANDES, Thales Allyrio Araújo de Medeiros et al. Socioeconomic and demographic

characteristics of sickle cell disease patients from a low-income region of northeastern Brazil.

**Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 3, p. 172–177, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.03.013>>.

GLADWIN, Mark et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 116, n. 2, p. 436–444, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11841449>>.

GOGA, R.; CHANDLER, N. P.; OGinni, A. O. Pulp stones: A review. **International Endodontic Journal**, v. 41, n. 6, p. 457–468, 2008.

GULSAHI, A.; CEBECI, A. I.; ÖZDEN, S. A radiographic assessment of the prevalence of pulp stones in a group of Turkish dental patients. **International Endodontic Journal**, v. 42, n. 8, p. 735–739, 2009.

GUPTA, Renu; MAROUF, Rajaa; ADEKILE, Adekunle. Pattern of bone mineral density in sickle cell disease patients with the high-Hb F phenotype. **Acta Haematologica**, v. 123, n. 1, p. 64–70, 2009.

HAREL, Ofer et al. Multiple imputation for incomplete data in epidemiologic studies. **American Journal of Epidemiology**, v. 187, n. 3, p. 576–584, 2018.

KATO, Gregory J.; STEINBERG, Martin H.; GLADWIN, Mark T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 3, p. 750–760, 2017.

KAVADIA-TSATALA, Smaragda et al. Mandibular lesions of vasoocclusive origin in sickle cell hemoglobinopathy. **Odontology**, v. 92, n. 1, p. 68–72, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15490308>>.

KING, S. Bruce. Nitric oxide production from hydroxyurea. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 6, p. 737–744, 2004.

KLINe, Rex B. **Principles and practice of structural equation modeling**. [S.l.: s.n.], 2011. v.



156. Disponível em: <<http://www.guilford.com/companion-site/Principles-and-Practice-of-Structural-Equation-Modeling-Third-Edition%5Cnhttp://www.guilford.com/books/Principles-and-Practice-of-Structural-Equation-Modeling/Rex-B-Kline/9781606238769%5Cnhttp://www.psych.umass.edu/u>>.

LAL, Ashutosh et al. Bone mineral density in children with sickle cell anemia. **Pediatric Blood Cancer**, v. 47, p. 901–906, 2006.

LANZKRON, Sophie et al. Mortality rates and age at death from sickle cell disease: U.S., 1979-2005. **Public health reports**, v. 128, n. 2, p. 110–116, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23450875%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3560868>>.

\_\_\_\_\_. Systematic review: Hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. **Annals of Internal Medicine**, v. 148, n. 12, p. 939–955, 2008. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=rzh&AN=105765200&site=ehost-live>>.

LEMONNE, N; CHARLOT, K; WALTZ, X; BALLAS, S.K; LAMARRE, Y; LEE, K; HIERSO, R; CONNES, C; ETIENNE-JULAN, M; ROMANA, M; CONNES, P. Hydroxyurea treatment does not increase blood viscosity and improves red blood cell rheology in sickle cell anemia. **Haematologica**, v. 100, p. 383–386, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26137960>>.

LI, Xuejin et al. Patient-specific blood rheology in sickle-cell anaemia. **Interface focus**, v. 6, n. 1, p. 20150065, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26855752%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4686241>>.

LIU, Yifei et al. Quantitative assessment of microcirculation and diffusion in the bone marrow of osteoporotic rats using VCT, DCE-MRI, DW-MRI, and histology. **Acta Radiologica**, v. 54,

n. 2, p. 205–213, 2013.

MILLER, Redonda G. et al. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. **Am.J.Hematol.**, v. 81, n. 10, p. 236–241, 2006.

Disponível em:  
<[http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/ajh.20910/asset/20910\\_ftp.pdf?v=1&t=i2ylnkk8&s=7516833e97191503d582d811470963d5379fb9da](http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/ajh.20910/asset/20910_ftp.pdf?v=1&t=i2ylnkk8&s=7516833e97191503d582d811470963d5379fb9da)>.

MORSE, Donald R. Age related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. **Oral Surg Med Oral Pathol**, v. 72, p. 721–745, 1991.

MOURSHED, Farouk; TUCKSON, Coleman R. A study of the radiographic features of the jaws in sickle cell anemia. **American Academy of dental Radiology**, v. 37, n. 5, p. 812–819, 1974.

MUTHÉN, Linda K; MUTHÉN, Bengt O. User ' s Guide. [s.d.].

NEVES, Frederico Sampaio et al. Correlation between maxillofacial radiographic features and systemic severity as sickle cell disease severity predictor. **Clinical Oral Investigations**, v. 16, n. 3, p. 827–833, 2012.

NUNES, Luciana Neves; KLÜCK, Mariza Machado; FACHEL, Jandyra Maria Guimarães. Multiple imputations for missing data: a simulation with epidemiological data. **Cadernos de saude publica**, v. 25, n. 2, p. 268–278, 2009.

PAUL, Rabindra et al. Clinical correlates of acute pulmonary events in children and adolescents with sickle cell disease. **Eur J Haematol**, v. 91, n. 1, p. 62–68, 2013.

PIEL, Frédéric B.; STEINBERG, Martin H.; REES, David C. Sickle Cell Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 16, p. 1561–1573, 2017. Disponível em:  
<<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1510865>>.

PLATT, Orah S. et al. Pain in sickle cell disease: rates and risk factors. **The New England Journal of Medicine**, v. 325, n. 1, p. 11–16, 1991.

ROTHER, Russell P; BELL, Leonard; HILLMEN, Peter. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin. A Novel Mechanism of Human Disease. **JAMA**, v. 293, n. 13, p. 1653–1662, 2013.

SADAT-ALI, Mir et al. Does high serum iron level induce low bone mass in sickle cell anemia ? **BioMetals**, v. 24, n. 1, p. 19–22, 2011.

SAMS, Deirdre R; THORNTON, John B.; AMAMOO, Paul a. Managing the dental patient with sickle cell anemia : a review of the literature. **Pediatric Dentistry**, v. 12, n. 5, p. 316–320, 1990.

SARRAI, Mona et al. Bone mass density in adults with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 136, n. 4, p. 666–672, 2007.

SOUZA, Soraia de Fátima Carvalho et al. Association of sickle cell haemoglobinopathies with dental and jaw bone abnormalities. **Oral diseases**, v. 24, n. 03, p. 393–403, 2018.

SOUZA, Soraia de Fátima Carvalho; THOMAZ, Erika Bárbara Abreu Fonseca; COSTA, Cyrene Piazero Silva. Healthy Dental Pulp Oxygen Saturation Rates in Subjects with Homozygous Sickle Cell Anemia: A Cross-Sectional Study Nested in a Cohort. **Journal of Endodontics**, v. 43, n. 12, p. 1997–2000, 2017.

STEINBERG, Martin H. Overview of sickle cell anemia pathophysiology. **Springer, Cham**, p. 49–73, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-06713-1>>.

\_\_\_\_\_. The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: A 17.5 year follow-up. **American Journal of Hematology**, v. 85, n. 6, p. 403–408, 2010.

SUNDELL, John R.; STANLEY, Harold R.; WHITE, Carl L. The relationship of coronal pulp stone formation to experimental operative procedures. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 25, n. 4, p. 579–589, 1968.

TAYLOR, James G. et al. Chronic hyper-hemolysis in sickle cell anemia: association of vascular complications and mortality with less frequent vasoocclusive pain. **PLoS ONE**, v. 3,

n. 5, 2008.

TAYLOR, Lincoln B. et al. Sickle cell anemia: A review of the dental concerns and a retrospective study of dental and bony changes. **Special Care in Dentistry**, v. 15, n. 1, p. 38–42, 1995.

VON ELM, Erik et al. The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. **PLoS Medicine**, v. 4, n. 10, p. 1623–1627, 2007.

VOSKARIDOU, Ersi et al. The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes : results of a The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cel. **Blood**, v. 115, n. 12, p. 2354–2363, 2011.

WANG, Winfred C. et al. Hydroxycarbamide in very young children with sickle-cell anaemia: A multicentre, randomised, controlled trial (BABY HUG). **The Lancet**, v. 377, p. 1663–1672, 2011. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60355-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60355-3)>.

WOOD, Katherine C.; HSU, Lewis L.; GLADWIN, Mark T. Sickle cell disease vasculopathy: A state of nitric oxide resistance. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 8, p. 1506–1528, 2008.

YASUHARA, R et al. Nitric oxide in pulp cell growth , differentiation , and mineralization. **Journal of Dental Research**, v. 86, n. 2, p. 163–168, 2007.

YU, Tiffany et al. Symptomatic avascular necrosis: an understudied risk factor for acute care utilization by patients with SCD. **South Med J**, v. 109, n. 9, p. 519–524, 2016.

ZHANG, Dachuan et al. Neutrophils , platelets , and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. **Blood Journal**, v. 127, n. 7, p. 801–810, 2016. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/127/7/801.full.pdf>>.



## APÊNDICE A- FICHA CLÍNICA E QUESTIONÁRIO SOCIO-ECONÔMICO

Nº: \_\_\_\_\_ Examinador: \_\_\_\_\_ Data da avaliação: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

### ALTERAÇÕES RADIOGRÁFICAS DA MAXILA

#### ALTERAÇÕES

#### DENTES

1- No Grau de Trabeculação:        ( ) Não ( ) Sim

- Em escada \_\_\_\_\_
- “Teia de aranha” \_\_\_\_\_
- Fio de cabelo \_\_\_\_\_
- Outros \_\_\_\_\_

2 – Na Lâmina Dura:        ( ) Não ( ) Sim

- Perda parcial \_\_\_\_\_
- Perda total \_\_\_\_\_
- Espessamento \_\_\_\_\_
- Outras \_\_\_\_\_

3 – Câmara Pulpar:        ( ) Não ( ) Sim

- Atresia pulpar \_\_\_\_\_
- Calcificação pulpar \_\_\_\_\_
- Nódulos pulpare \_\_\_\_\_
- Taurodontismo \_\_\_\_\_
- Outras \_\_\_\_\_

### ALTERAÇÕES RADIOGRÁFICAS DA MANDÍBULA

#### ALTERAÇÕES

#### DENTES

1- No Grau de Trabeculação:        ( ) Não ( ) Sim

- Em escada \_\_\_\_\_
- “Teia de aranha” \_\_\_\_\_
- Fio de cabelo \_\_\_\_\_
- Outros \_\_\_\_\_

2 – Na Lâmina Dura:        ( ) Não ( ) Sim

- Perda parcial \_\_\_\_\_
- Perda total \_\_\_\_\_
- Espessamento \_\_\_\_\_
- Outras \_\_\_\_\_

3 – Câmara Pulpar:        ( ) Não ( ) Sim

- Atresia pulpar \_\_\_\_\_
- Calcificação pulpar \_\_\_\_\_
- Nódulos pulpare \_\_\_\_\_
- Taurodontismo \_\_\_\_\_
- Outras \_\_\_\_\_

## QUESTIONÁRIO SÓCIO-ECONÔMICO

n.º: \_\_\_\_\_

Data do preenchimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ (Idade: \_\_\_\_\_ anos)

Endereço: \_\_\_\_\_

Cidade/UF: \_\_\_\_\_

Telefone: ( ) \_\_\_\_\_

Gênero:

- Masculino  
 Feminino

Cor (auto-referida):

- Preta/Negra  
 Parda/Mulata/Cabocla/Morena  
 Branca  
 Amarela/Oriental  
 Indígena  
 Não sabe

Cor (classificada pelo

entrevistador):

- Preta/Negra  
 Parda/Mulata/Cabocla/Morena  
 Branca  
 Amarela/Oriental  
 Indígena  
 Não sabe

Itens	Quantidade de itens				
	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	2	2	2	2

**Qual é o Grau de Instrução da pessoa com maior renda?**

Analfabeto/ Até 3ª série Fundamental/ Até 3ª série 1º. Grau	0
Até 4ª série Fundamental / Até 4ª série 1º. Grau	1
Fundamental completo/ 1º. Grau completo	2
Médio completo/ 2º. Grau completo	4
Superior completo	8

TOTAL DE PONTOS: \_\_\_\_\_

Classe	PONTOS
A1	42-46
A2	35-41
B1	29-34
B2	23-28
C1	18-22
C2	14-17
D	8-13
E	0-7

Situação geral da saúde

## Doenças sistêmicas

Hipertensão	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Alergia	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Cardiopatias	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Doenças renais	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Doenças hepáticas	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Doenças ósseas	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Doenças metabólicas	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____
Outras	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Qual? _____

Fez uso recente ou está fazendo uso de alguma medicação?  Sim  Não

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

Hábitos de vida

## 1 Hábito de fumar

- Fumante Quanto fuma por dia? \_\_\_\_\_ Há quanto tempo fuma? \_\_\_\_\_
- Não fumante
- Ex-fumante Fumou por quanto tempo? \_\_\_\_\_ Há quanto tempo deixou de fumar? \_\_\_\_\_
- Quanto fumava por dia?  01 a 10  11 a 20  21 a 30  mais de 30

## 2 Ingestão de bebidas alcoólicas

- Bebe Com que frequência?  diariamente  2 a 3 vezes/semana  1 vez/semana
- 1 vez/mês  ocasionalmente
- Não bebe
- Já bebeu Deixou de beber há quanto tempo? \_\_\_\_\_
- Bebeu durante quanto tempo?  menos de 6 meses  de 6 meses a 1 ano
- de 1 a 5 anos  de 5 a 10 anos  mais de 10 anos
- Com que frequência bebia?  diariamente  2 a 3 vezes/semana  1 vez/semana
- 1 vez/mês  ocasionalmente

3 Já fez uso de alguma droga ilícita?  Sim  Não

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

Com que frequência?  Raramente  1 vez/semana  2 a 3 vezes/semana  Todo dia ou quase todo dia



## **APÊNDICE B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

### DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Título da pesquisa:

**EFEITOS DA HIDROXIURÉIA SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, ÓRGÃO PULPAR E PADRÃO TRABECULAR ÓSSEO DOS MAXILARES EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME**

Pesquisadora responsável: SORAIA DE FÁTIMA CARVALHO SOUZA

Instituição a que pertence à pesquisadora responsável: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA)

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa **EFEITOS DA HIDROXIURÉIA SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, ÓRGÃO PULPAR E PADRÃO TRABECULAR ÓSSEO DOS MAXILARES EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME.**

Pacientes com anemia falciforme apresentam com frequência alterações nos ossos da face, bem como alterações nos dentes. Essas alterações ocorrem em decorrência das crises de dor. A Hidroxiuréia é um medicamento comumente utilizado para tratamento da anemia falciforme por possuir uma série de benefícios, dentre eles a diminuição destas crises. Nossa pesquisa deseja saber se a utilização do medicamento Hidroxiuréia traz algum benefício para as alterações bucais encontradas em pacientes com anemia falciforme. E para saber se quem usa hidroxiuréia apresenta benefícios também nos ossos da face e nos dentes, precisaremos buscar informações sobre a severidade da sua doença por meio de consulta ao seu prontuário onde serão coletados os dados das medicações das quais você faz uso e os resultados dos seus exames de sangue. Este estudo é uma complementação da pesquisa “Associação entre Anemia Falciforme e severidade da doença periodontal: aspectos clínicos, radiográficos e níveis salivares de IgA” (CEP – UFMA protocolo nº 472.943) da qual você participou no período de agosto de 2012 a outubro de 2013. Os pesquisadores comprometem-se a manter todos os dados obtidos em sigilo e utilizá-los apenas para fins científicos garantindo que você não será, em hipótese alguma, identificado. Como benefício esta pesquisa trará à comunidade científica e a você conhecimentos sobre a relação entre a sua doença, o uso da hidroxiuréia e as alterações dentárias e ósseas. Esta pesquisa não coloca você sob qualquer tipo de risco, já que os pesquisadores garantem a confidencialidade dos dados. Caso você e o seu acompanhante tenham alguma despesa com a participação nessa pesquisa, estes valores serão ressarcidos pelo

pesquisador.

Após ser esclarecido sobre os objetivos da pesquisa, caso você deseje participar, você e o pesquisador deverão assinar duas vias desse Termo ao final e rubricar todas as páginas das duas vias. Uma via ficará com você e a outra ficará com o pesquisador.

AOS QUE ACEITAREM PARTICIPAR DESTA PESQUISA E QUE EM QUALQUER MOMENTO DESEJAREM SE RETIRAR, PODERÃO FAZÊ-LO SEM SOFRER NENHUM PREJUÍZO AO SEU TRATAMENTO E ACOMPANHAMENTO NA HEMOMAR.

**Esta pesquisa foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMA e se você tiver alguma reclamação, poderá procurar a coordenação desse comitê que fica na Avenida dos Portugueses, s/n, prédio do CEB velho (em frente ao auditório Multimídia da PPGI)- Campus Universitário do Bacanga da UFMA, telefone (98) 32728708.**

PESQUISADORA RESPONSÁVEL

Soraia de Fátima Carvalho Souza

Telefone:(98)3235-5299/ (98) 99190-1911

Eu, \_\_\_\_\_, CPF n° \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado e que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação. Assim, concordo em participar, como voluntário, na pesquisa acima descrita e confirmo que recebi uma via desse documento assinado e rubricado em todas as páginas pela pesquisadora responsável.

Assinatura do participante [ou impressão digital]:

\_\_\_\_\_

*ou*

Eu, \_\_\_\_\_, CPF n° \_\_\_\_\_, responsável legal por, \_\_\_\_\_, RG n° \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado e que entendi os objetivos, riscos e benefícios de participação do mesmo. Assim, concordo com a sua participação, como voluntário, na pesquisa acima descrita e confirmo que recebi uma cópia desse documento assinado e rubricado em todas as páginas pela pesquisadora responsável.

Assinatura do responsável:

\_\_\_\_\_

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

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

São Luís \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201 \_\_\_

---

Soraia de Fátima Carvalho Souza

Pesquisadora responsável

## ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFMA - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO MARANHÃO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITOS DA HIDROXIURÉIA SOBRE OS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, ÓRGÃO PULPAR E PADRÃO TRABECULAR ÓSSEO DOS MAXILARES EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME

**Pesquisador:** Soraia de Fátima Carvalho Souza

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 91090718.0.0000.5087

**Instituição Proponente:** FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.934.432

#### Apresentação do Projeto:

O objetivo deste estudo será verificar o impacto do uso da Hidroxiuréia (HU) sobre os parâmetros hematológicos e a presença de alterações distróficas do órgão pulpar e do padrão trabecular ósseo maxilo-mandibular em indivíduos com Anemia Falciforme (AF). Trata-se de um estudo transversal aninhado a uma coorte retrospectiva em que serão incluídos os 123 indivíduos com AF participantes do Projeto de Pesquisa "Associação entre Anemia Falciforme e severidade da doença periodontal: aspectos clínicos, radiográficos e níveis salivares de IgA" aprovado pelo CEP – UFMA parecer nº 472.943 (CAAE 14606713.6.0000.5087). Os indivíduos serão alocados segundo o uso de medicação em três grupos: Grupo 1: sem medicação; Grupo 2: em uso de ácido fólico; Grupo 3: em uso de hidroxiuréia. Para avaliação do padrão ósseo dos maxilares e alterações distróficas do órgão pulpar todos os sujeitos do estudo já foram submetidos a tomadas radiográficas por meio da técnica periapical do paralelismo. O número de crises falcêmicas por ano, dose e tempo de uso da HU, bem como os parâmetros hematológicos sistêmicos de 2007 a 2017 serão resgatados nos prontuários médicos eletrônicos no Departamento de Assistência Social da Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR) em São Luís, Brasil. O teste de Shapiro-Wilk será adotado para avaliar a normalidade das distribuições. A comparação das frequências entre os grupos será realizada pelo teste Qui-Quadrado e as médias pelos testes t-Student ou Man-Whitney. O nível de significância adotado será de 5%. Espera-se encontrar associação entre o uso

**Endereço:** Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho  
**Bairro:** Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética                      **CEP:** 65.080-040  
**UF:** MA                      **Município:** SAO LUIS  
**Telefone:** (98)3272-8708                      **Fax:** (98)3272-8708                      **E-mail:** cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 2.934.432

de HU e alterações do órgão pulpar e do padrão trabecular ósseo em indivíduos com AF, e que as possíveis alterações hematológicas induzidas pelo uso desse fármaco possam ser consideradas fatores preditores desta associação.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Verificar se existe associação entre os parâmetros hematológicos antes e após o uso de HU e a presença de alterações distróficas do órgão pulpar e do padrão trabecular ósseo maxilo-mandibular em indivíduos com AF.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

O risco inerente a esta pesquisa é mínimo e refere-se a confidencialidade dos dados obtidos. Os pesquisadores comprometem-se a utilizar os dados obtidos apenas para fins científicos, garantindo a confidencialidade dos indivíduos.

Benefícios:

Apointa-se como benefício do estudo o conhecimento gerado pelo resultado da pesquisa, já que até o momento se desconhece os efeitos adversos que o uso de HU pode ocasionar aos tecidos bucais.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa esta elaborada com todos os elementos necessários ao seu pleno desenvolvimento.

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

Todos os termos de apresentação obrigatórios foram entregues e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

**Recomendações:**

Não existem recomendações.

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

Todas as pendências foram acatadas e corrigidas pelo pesquisador e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho  
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 2.934.432

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_222147.pdf	27/08/2018 10:05:37		Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Resposta.docx	27/08/2018 10:05:16	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	27/08/2018 10:05:03	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	27/08/2018 10:04:54	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	27/08/2018 10:01:39	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	27/08/2018 10:01:02	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao.pdf	02/06/2018 08:25:26	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	02/06/2018 08:08:49	Soraia de Fátima Carvalho Souza	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO LUIS, 03 de Outubro de 2018

Assinado por:

**Flávia Castello Branco Vidal Cabral**  
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho  
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

## ANEXO B- AUTHOR'S GUIDELINES *International endodontics journal*

**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

**Useful Websites:** [Submission Site](#), [Articles published in \*International Endodontic Journal\*](#), [Author Services](#), [Wiley's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

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 Endodontic Journal* publishes original scientific articles, reviews, clinical articles and case reports in the field of Endodontology; the branch of dental sciences dealing with health, injuries to and diseases of the pulp and periradicular region, and their relationship with systemic well-being and health. Original scientific articles are published in the areas of biomedical science, applied materials science, bioengineering, epidemiology and social science relevant to endodontic disease and its management, and to the restoration of root-treated teeth. In addition, review articles, reports of clinical cases, book reviews, summaries and abstracts of scientific meetings and news items are accepted.

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

### 2. ETHICAL GUIDELINES

*International Endodontic Journal* adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

#### 2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript has been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal.

*International Endodontic Journal* adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE, authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

**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. Please find more information on the conflict of interest form in section 2.6.

#### 2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 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.

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

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study. The authors MUST upload a copy of the ethical approval letter when submitting their manuscript and a separate English translation. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

### 2.3 Clinical Trials

The International Endodontic Journal asks that authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following public clinical trials registries: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>, <http://isrctn.org/>. Other primary registries if named in the WHO network will also be considered acceptable. The clinical trial registration number and name of the trial register should be included in the Acknowledgements at the submission stage.

#### 2.3.1 Randomised control clinical trials

Randomised control clinical trials should be reported using the guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A CONSORT checklist and flow diagram (as a Figure) should also be included in the submission material.

#### 2.3.2 Epidemiological observational trials

Submitting authors of epidemiological human observations studies are required to review and submit a 'strengthening the reporting of observational studies in Epidemiology' (STROBE) checklist and statement. Compliance with this should be detailed in the materials and methods section. ([www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org))

### 2.4 Systematic Reviews

Systematic reviews should be reported using the PRISMA guidelines available at <http://prisma-statement.org/>. A PRISMA checklist and flow diagram (as a Figure) should also be included in the submission material.

### 2.5 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.

### 2.6 Conflict of Interest and Source of Funding

*International Endodontic Journal* 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 [iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk). 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 individually (do not combine the forms into one file) together with the manuscript on submission. The disclosure statement should be included under Acknowledgements. Please find the form below:

### **Conflict of Interest Disclosure Form**

#### **2.7 Appeal of Decision**

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

#### **2.8 Permissions**

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

#### **2.8 Copyright Assignment**

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. Your article cannot be published until this has been done.

#### **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 - No Derivs 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>.

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 Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

#### **2.9 OnlineOpen**

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](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](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.

### 3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/iej>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from [iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk).

#### 3.1. Getting Started

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

#### 3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your 'Author Centre', submit your manuscript by clicking 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.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
  - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
  - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
  - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

#### 3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the abstract, main text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures or Title page. The Title page should be uploaded as a separate file. In the main text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

#### 3.4. Blinded Review

Manuscript that do not conform to the general aims and scope of the journal will be returned immediately without review. All other manuscripts will be reviewed by experts in the field (generally two referees). International Endodontic Journal aims to forward referees' 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.

International Endodontic Journal uses double blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files.

Please upload:

- Your manuscript without title page under the file designation 'main document'
- Figure files under the file designation 'figures'
- The title page and Acknowledgements where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'

All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

### **3.5. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process**

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

### **3.6. E-mail Confirmation of Submission**

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

### **3.7. Manuscript Status**

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

### **3.8. Submission of Revised Manuscripts**

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

## **4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED**

**Original Scientific Articles:** must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original Scientific Articles must conform to the highest international standards in the field.

**Review Articles:** are accepted for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should generally include a clearly defined search strategy and take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work. Extensive or unbalanced citation of the authors' own publications is discouraged.

**Clinical Articles:** are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognised clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

**Case Reports:** illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but they must be of sufficiently high quality to be considered worthy of publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered. Illustrative material must be of the highest quality and healing outcomes, if appropriate, should be demonstrated.

**Supporting Information:** *International Endodontic Journal* encourages submission of adjuncts to printed papers via the supporting information website (see submission of supporting information below). It is encouraged that authors wishing to describe novel procedures or illustrate cases more fully with figures and/or video may wish to utilise this facility.

**Letters to the Editor:** are also acceptable.

**Meeting Reports:** are also acceptable.

## 5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

### 5.1. Format

**Language:** The language of publication is English. 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](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

**Presentation:** Authors should pay special attention to the presentation of their research findings or clinical reports so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and clearly explained where its use is unavoidable. Abbreviations should also be kept to a minimum, particularly those that are not standard. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Titles and abstracts especially should be written in language that will be readily intelligible to any scientist.

**Abbreviations:** *International Endodontic Journal* adheres to the conventions outlined in *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors*. When non-standard terms appearing 3 or more times in the manuscript are to be abbreviated, they should be written out completely in the text when first used with the abbreviation in parenthesis.

### 5.2. Structure

All manuscripts submitted to *International Endodontic Journal* should include Title Page, Abstract, Main Text, References and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate

**Title Page:** The title page should bear: (i) Title, which should be concise as well as descriptive; (ii) Initial(s) and last (family) name of each author; (iii) Name and address of department, hospital or institution to which work should be attributed; (iv) Running title (no more than 30 letters and spaces); (v) No more than six keywords (in alphabetical order); (vi) Name, full postal address, telephone, fax number and e-mail address of author responsible for correspondence.

**Abstract for Original Scientific Articles** should be no more than 300 words giving details of what was done using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the study and the main hypothesis tested, if any.
- **Methodology:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and statistical

tests.

- **Results:** Give the main results of the study, including the outcome of any statistical analysis.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study and their implications. Suggest areas for further research, if appropriate.

**Abstract for Systematic Review Articles** should be no more than 300 words giving details of what was done using the following structure where applicable:

- **Background:** Provide a brief introduction of the subject and why it is important.
- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the study and the main hypothesis tested, if any.
- **Data sources:** Describe the databases searched.
- **Study eligibility criteria, participants, and interventions:** Briefly describe the methods adopted including exclusion/inclusion criteria.
- **Study appraisal and synthesis methods:** Describe bias, study type and quality
- **Results:** Give the main results of the review, including the outcome of any statistical meta-analysis.
- **Limitations:** Highlight problems with the current review and research area
- **Conclusions and implications of key findings:** State the primary conclusions of the study and their implications. Suggest areas for further research, if appropriate.

**Abstract for Case Reports** should be no more than 300 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Summary:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and analysis if any.
- **Key learning points:** Provide up to 5 short, bullet-pointed statements to highlight the key messages of the report. All points must be fully justified by material presented in the report.

**Abstract for Clinical Articles** should be no more than 300 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Methodology:** Describe the methods adopted.
- **Results:** Give the main results of the study.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study.

**Main Text of Original Scientific Article** should include Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion

**Introduction:** should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and gaps in knowledge. Exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation, or hypothesis to be tested.

**Material and Methods:** must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced.

*(i) Clinical Trials* should be reported using the CONSORT guidelines available at [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). A [CONSORT checklist](#) and flow diagram (as a Figure) should also be included in the submission material.

*(ii) Experimental Subjects:* experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 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.

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

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

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

**Results:** should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. Data should not be duplicated in Tables and Figures.

**Discussion:** may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The Discussion section should progress with a review of the methodology before discussing the results in light of previous work in the field. The Discussion should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

**Conclusion:** should contain a summary of the findings.

**Main Text of Review Articles** should be divided into Introduction, Review and Conclusions. The Introduction section should be focused to place the subject matter in context and to justify the need for the review. The Review section should be divided into logical sub-sections in order to improve readability and enhance understanding. Search strategies must be described and the use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. The use of tabulated and illustrative material is encouraged. The Conclusion section should reach clear conclusions and/or recommendations on the basis of the evidence presented.

**Main Text of Clinical Reports and Clinical Articles** should be divided into Introduction, Report, Discussion and Conclusion,. They should be well illustrated with clinical images, radiographs, diagrams and, where appropriate, supporting tables and graphs. However, all illustrations must be of the highest quality

**Acknowledgements:** *International Endodontic Journal* requires that all sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Grant or contribution numbers may be acknowledged, and principal grant holders should be listed. Acknowledgments should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. See also above under Ethical Guidelines.

### 5.3. References

It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

We recommend the use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference

management and formatting. The EndNote reference style can be obtained upon request to the editorial office ([iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk)). Reference Manager reference styles can be searched for here: [www.refman.com/support/rmstyles.asp](http://www.refman.com/support/rmstyles.asp)

**In the text:** single or double authors should be acknowledged together with the year of publication, e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990). If more than two authors the first author followed by *et al.* is sufficient, e.g. (Tobias *et al.* 1991). If more than 1 paper is cited the references should be in year order and separated by ", " e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990, Tobias *et al.* 1991).

**Reference list:** All references should be brought together at the end of the paper in alphabetical order and should be in the following form.

(i) Names and initials of up to six authors. When there are seven or more, list the first three and add *et al.*

(ii) Year of publication in parentheses

(iii) Full title of paper followed by a full stop (.)

(iv) Title of journal in full (in italics)

(v) Volume number (bold) followed by a comma (,)

(vi) First and last pages

Examples of correct forms of reference follow:

**Standard journal article**

Bergenholtz G, Nagaoka S, Jontell M (1991) Class II antigen-expressing cells in experimentally induced pulpitis. *International Endodontic Journal* **24**, 8-14.

**Corporate author**

British Endodontic Society (1983) Guidelines for root canal treatment. *International Endodontic Journal* **16**, 192-5.

**Journal supplement**

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M (1979) Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood* **54** (Suppl. 1), 26a.

**Books and other monographs**

**Personal author(s)**

Gutmann J, Harrison JW (1991) *Surgical Endodontics*, 1st edn Boston, MA, USA: Blackwell Scientific Publications.

**Chapter in a book**

Wesselink P (1990) Conventional root-canal therapy III: root filling. In: Harty FJ, ed. *Endodontics in Clinical Practice*, 3rd edn; pp. 186-223. London, UK: Butterworth.

**Published proceedings paper**

DuPont B (1974) Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. *Proceedings of the Third Annual Meeting of the International Society for Experimental Rematology*; pp. 44-46. Houston, TX, USA: International Society for Experimental Hematology.

**Agency publication**

Ranofsky AL (1978) *Surgical Operations in Short-Stay Hospitals: United States-1975*. DHEW publication no. (PHS) 78-1785 (Vital and Health Statistics; Series 13; no. 34.) Hyattsville, MD, USA: National Centre for Health Statistics.8

**Dissertation or thesis**

Saunders EM (1988) *In vitro and in vivo investigations into root-canal obturation using thermally softened gutta-percha techniques* (PhD Thesis). Dundee, UK: University of Dundee.

**URLs**

Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text.

Smith A (1999) Select committee report into social care in the community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report015285.html> [accessed on 7 November 2003]

#### 5.4. Tables, Figures and Figure Legends

**Tables:** Tables should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

**Figures:** All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction, symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

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

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by a thin space (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

**Figure legends:** Figure legends should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

**Permissions:** If all or part of previously published illustrations are to be used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. This is the responsibility of the authors before submission.

**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 it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

### 5.5. Supporting Information

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting information, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted. It should be clearly stated at the time of submission that the supporting information is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the supporting information is such that it cannot be accommodated on the journal's website, the author agrees to make the supporting information available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Wiley Blackwell if the URL of the website where the supporting information is located changes. The content of the supporting information must not be altered after the paper has been accepted for publication.

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

**Preparation of Supporting Information:** Although provision of content through the web in any format is straightforward, supporting information is best provided either in web-ready form or in a form that can be conveniently converted into one of the standard web publishing formats:

- Simple word-processing files (.doc or .rtf) for text.
- PDF for more complex, layout-dependent text or page-based material. Acrobat files can be distilled from Postscript by the Publisher, if necessary.
- GIF or JPEG for still graphics. Graphics supplied as EPS or TIFF are also acceptable.
- MPEG or AVI for moving graphics.

Subsequent requests for changes are generally unacceptable, as for printed papers. A charge may be levied for this service.

**Video Imaging:** For the on-line version of the Journal the submission of illustrative video is encouraged. Authors proposing the use such media should consult with the Editor during manuscript preparation.

## 6. AFTER ACCEPTANCE

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

### 6.1. Figures

Hard copies of all figures and tables are required when the manuscript is ready for publication. These will be requested by the Editor when required. Each Figure copy should be marked on the reverse with the figure number and the corresponding author's name.

### 6.2 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the

following Web site: [www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html](http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html). This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

### **6.3 Early Online Publication Prior to Print**

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

### **6.4 Online Production Tracking**

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

### **6.5 Author Material Archive Policy**

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

### **6.6 Offprints**

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via Author Services only. Please therefore sign up for Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: [Offprint Cosprinters](#). If you have queries about offprints please email [offprint@cosprinters.com](mailto:offprint@cosprinters.com)

The corresponding author will be sent complimentary copies of the issue in which the paper is published (one copy per author).

### **6.7 Author Services**

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

### **6.8 Note to NIH Grantees:** Pursuant to NIH mandate, Wiley Blackwell will post the accepted

version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see [www.wiley.com/go/nihmandate](http://www.wiley.com/go/nihmandate)

### **7. Guidelines for reporting of DNA microarray data**

The *International Endodontic Journal* gives authors notice that, with effect from 1st January 2011, submission to the *International Endodontic Journal* requires the reporting of microarray data to conform to the MIAME guidelines. After this date, submissions will be assessed according to MIAME standards. The complete current guidelines are available at [http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame\\_2.0.html](http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame_2.0.html). Also, manuscripts will be published only after the complete data has been submitted into the public repositories, such as GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) or ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/microarray/submissions/overview.html>), in MIAME compliant format, with the data accession number (the identification number of the data set in the database) quoted in the manuscript. Both databases are committed to keeping the data private until the associated manuscript is published, if requested.

Prospective authors are also encouraged to search for previously published microarray data with relevance to their own data, and to report whether such data exists. Furthermore, they are encouraged to use the previously published data for qualitative and/or quantitative comparison with their own data, whenever suitable. To fully acknowledge the original work, an appropriate reference should be given not only to the database in question, but also to the original article in which the data was first published. This open approach will increase the availability and use of these large-scale data sets and improve the reporting and interpretation of the findings, and in increasing the comprehensive understanding of the physiology and pathology of endodontically related tissues and diseases, result eventually in better patient care.