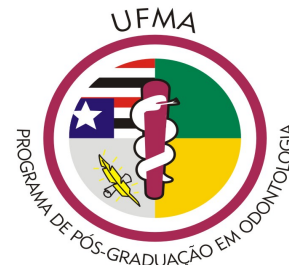
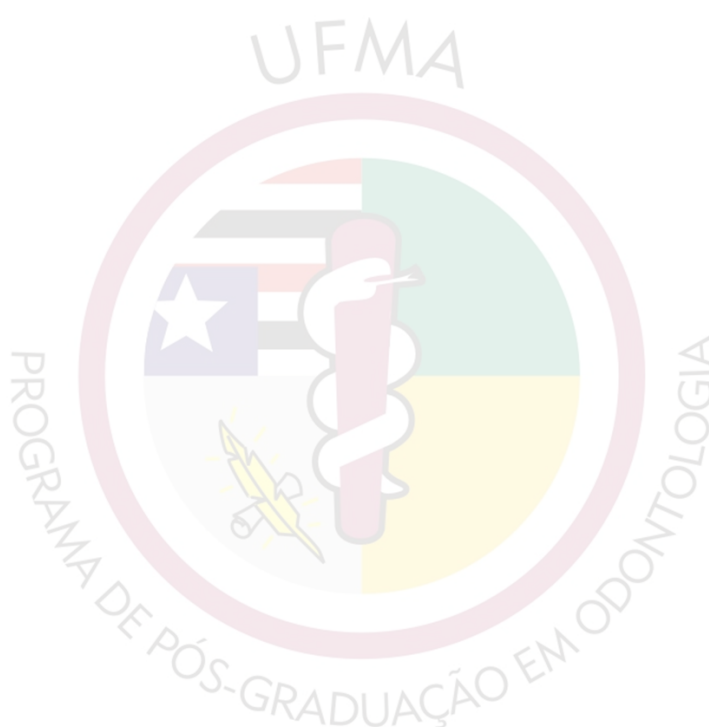




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA



**ANÁLISE DO FLUXO SALIVAR E DO
PERFIL DE CITOCINAS
INFLAMATÓRIAS EM ADULTOS
COM ACROMEGALIA**



**SÃO LUÍS
2024**

RENATA CARVALHO CAMPELO

**Análise do fluxo salivar e do perfil de citocinas inflamatórias em
adultos com acromegalia**

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

Orientador: Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues.

SÃO LUÍS

2024

CAMPELO, Renata Carvalho.

Análise do fluxo salivar e do perfil de citocinas inflamatórias em adultos com acromegalia. / Renata Carvalho Campelo –2024.

129 f.

Orientador: Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues.

Tese (Doutorado em Odontologia) – Programa de Pós-graduação em Odontologia/CCBS, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil, 2024.

1. Acromegalia. 2. Saliva. 3. Citocinas. 4. Inflamação. 5. Hormônio de crescimento. I. Rodrigues, Vandilson Pinheiro. II. Título.

RENATA CARVALHO CAMPELO

**Análise do fluxo salivar e do perfil de citocinas inflamatórias em adultos com
acromegalia**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho de Doutorado em Odontologia, em
sessão pública realizada no dia 17/12/2024, considerou a candidata:

() APROVADO

() REPROVADO

Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues

Universidade Federal do Maranhão
(Orientador)

Prof. Dr. Moan Jéfter Fernandes Costa

Universidade de Pernambuco

Prof. Dr. Pedro Henrique Sette de Souza

Universidade de Pernambuco

Profa. Dra. Meire Coelho Ferreira

Universidade CEUMA

Prof. Dr. Marcos José Custódio Neto da Silva

Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Danila Lorena Nunes dos Santos

Hospital Universitário UFMA

(Suplente)

Profa. Dra. Cadidja Dayane Sousa do Carmo

Universidade Federal do Maranhão

(Suplente)

À minha família, pelo amor incondicional, pelo apoio constante e pela confiança que sempre depositaram em mim. Vocês são a base da minha vida e a fonte de toda a minha força!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à **Deus**, fonte de toda sabedoria e força, por me guiar em cada passo dessa jornada. Pela coragem nos momentos de dificuldade, pela luz nos momentos de incerteza e por me conceder o privilégio de realizar sonhos. Sem a Sua bênção, nada disso seria possível.

Aos meus pais, **Fernando Campelo e Herlane Campelo**, pela confiança e amor incondicional. Vocês foram minha base emocional e me proporcionaram tudo o que foi necessário para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha filha, **Laís Campelo**, que foi minha maior fonte de motivação. Agradeço pela paciência e compreensão nos momentos em que precisei estar ausente ou focada em minha pesquisa. Você é meu maior tesouro e, mesmo tão jovem, me ensinou a importância da perseverança, do amor e da alegria em cada momento. Este trabalho é, em parte, dedicado a você, pois sua presença ilumina e dá sentido a tudo o que faço.

Ao **Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues**, meu orientador, pela orientação impecável, pelos valiosos ensinamentos e por sua tranquilidade ao longo de todo o processo. Seu conhecimento, dedicação e generosidade intelectual foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus **amigos e familiares**, por estarem ao meu lado em cada fase desse processo, oferecendo apoio, companheirismo e boas risadas, que tornaram os momentos difíceis muito mais leves.

Aos professores do quadro do **Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA)** e convidados, pelas infinitas contribuições para minha formação científica e profissional.

À **Universidade Federal do Maranhão**, por meio do reitor Prof. Dr. Natalino Salgado Filho, por minha formação e amparo profissional.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão**, na pessoa do coordenador Prof. Dr. José Roberto De Oliveira Bauer, pela solicitude e competência.

Ao **Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA)**, por meio do Prof. Dr. Gilvan Nascimento, pelo auxílio e disponibilidade na coleta de dados dos pacientes com acromegalia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta tese, meu sincero agradecimento. Cada gesto de apoio, cada palavra de incentivo teve um impacto imenso e me motivou a seguir em frente. Muito obrigada!

*"Tudo o que fizerdes, fazei-o de todo o coração,
como para o Senhor, e não para os
homens."*

Colossenses 3:23-24

RESUMO

Introdução: A acromegalia é uma doença endócrina rara causada pela hipersecreção do hormônio de crescimento e da insulina-símile tipo 1, decorrente de um tumor hipofisário. A exposição crônica ao excesso desses hormônios leva a mudanças físicas, corporais e orofaciais, e mudanças sistêmicas, cardiológicas, metabólicas, respiratórias, musculoesqueléticas, neurológicas, neoplásicas e imunológicas. Apesar de todo impacto negativo na qualidade de vida desses indivíduos com acromegalia, pouco se sabe sobre o impacto dessas alterações em sua saúde bucal. **Objetivos:** Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar o fluxo salivar e os biomarcadores inflamatórios presentes na saliva dos pacientes com acromegalia. No capítulo I, tivemos como objetivo investigar o nível do fluxo salivar não estimulado (FSN) e estimulado (FSE) em pacientes com acromegalia e identificar possíveis fatores clínicos associados ao aumento do fluxo pacientes nesta população. Enquanto no capítulo II, o objetivo deste estudo foi investigar os níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva de adultos com acromegalia. **Método:** Um estudo caso-controle foi conduzido com dois grupos: um grupo formado por pacientes com diagnóstico de acromegalia e um grupo controle. Foram coletadas variáveis para caracterização sociodemográficas, hábitos de vida e diagnóstico de diabetes. As medidas antropométricas índice de massa corporal (IMC), circunferência cervical (CC) e circunferência abdominal (CA) também foram coletadas, assim como amostras de saliva foram obtidas para quantificação de citocinas (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α e TNF- α). As variáveis FSN e FSE foram mensuradas e analisados como variável desfecho. O teste T independente, a correlação de Pearson e modelos de regressão multivariado foram incluídos na análise estatística, adotando um nível de significância de 5%. Para análise dos biomarcadores inflamatórios foi realizada análise estatística utilizando os testes de Mann-Whitney, correlação de Spearman e curva ROC. **Resultados:** Ao avaliar o fluxo salivar foi observado que o nível do FSN foi mais elevado no grupo acromegalia do que nos controles (0,50 ml/min versus 0,22 ml/min, $P < 0,001$). O FSE apresentou uma correlação diretamente proporcional com a medida CC ($r = 0,470$, $P = 0,010$). A acromegalia foi associada ao maior FSN mesmo após o ajustamento para fatores confundidores (Coeficiente = 0,903, $P < 0,001$). Em relação aos biomarcadores inflamatórios, os resultados mostraram que os pacientes

com acromegalia apresentaram níveis significativamente mais elevados de IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TGF- α e TNF- α na saliva, quando comparados aos controles ($P < 0,001$). Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de IL-1 β e IL-22. A análise das razões de citocinas, como IL-22/IL-4 ($P < 0,001$), IL-1 β /IL-10 ($P = 0,023$) e IL-22/IL-10 ($P = 0,003$), indicou um perfil inflamatório mais pronunciado nos pacientes com acromegalia em comparação aos controles. Observou-se também uma forte correlação positiva entre IL-4 e IL-22 ($Rho = 0,933$; $P < 0,001$) e entre IL-6 e TNF- α ($Rho = 0,826$; $P < 0,001$) no grupo acromegalia. As diferenças nos níveis de citocinas anti-inflamatórias se mantiveram significativas após o ajuste para variáveis de confusão, como idade, sexo e diabetes. **Conclusão:** Foram observadas mudanças quantitativas e qualitativas na saliva dos pacientes com acromegalia, o que pode gerar repercussão na saúde bucal e geral desses pacientes. Assim, faz-se necessário desenvolver mais estudos, para que tais informações possam servir de estratégia para um monitoramento clínico mais eficaz desses pacientes.

Palavras-chave: Acromegalia. Saliva. Citocinas. Inflamação. Hormônio de crescimento.

ABSTRACT

Introduction: Acromegaly is a rare endocrine disorder caused by the hypersecretion of growth hormone and insulin-like growth factor 1, resulting from a pituitary tumor. Chronic exposure to excessive levels of these hormones leads to physical, body, and orofacial changes, as well as systemic, cardiological, metabolic, respiratory, musculoskeletal, neurological, neoplastic, and immunological alterations. Despite the significant negative impact on the quality of life of these individuals, little is known about how these changes affect the oral health of acromegalic patients. **Objectives:** Therefore, this study aimed to evaluate the salivary flow and inflammatory biomarkers present in the saliva of patients with acromegaly. In Chapter I, the goal was to investigate the levels of unstimulated (USF) and stimulated salivary flow (SSF) in acromegalic patients and identify possible clinical factors associated with increased salivary flow in this population. In Chapter II, the objective was to investigate the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in the saliva of adults with acromegaly. **Method:** A case-control study was conducted with two groups: one consisting of patients diagnosed with acromegaly and the other as a control group. Sociodemographic variables, lifestyle habits, and diabetes diagnosis were collected. Anthropometric measurements, including body mass index (BMI), cervical circumference (CC), and abdominal circumference (AC), were also recorded, along with saliva samples for cytokine quantification (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α , and TNF- α). USF and SSF were measured and analyzed as outcome variables. Independent T-tests, Pearson's correlation, and multivariate regression models were used in statistical analysis, adopting a significance level of 5%. For the analysis of inflammatory biomarkers, Mann-Whitney tests, Spearman's correlation, and ROC curve analysis were performed. **Results:** When evaluating salivary flow, it was observed that the USF level was significantly higher in the acromegaly group compared to the controls (0.50 ml/min vs. 0.22 ml/min, $P < 0.001$). SSF showed a direct correlation with CC measurements ($r = 0.470$, $P = 0.010$). Acromegaly was associated with higher USF even after adjusting for confounding factors (Coefficient = 0.903, $P < 0.001$). Regarding inflammatory biomarkers, the results showed that acromegalic patients had significantly higher levels of IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TGF- α , and TNF- α in their saliva compared to controls ($P < 0.001$). No significant differences were observed for IL-1 β and IL-22 levels. The analysis of cytokine ratios, such as IL-

22/IL-4 ($P < 0.001$), IL-1 β /IL-10 ($P = 0.023$), and IL-22/IL-10 ($P = 0.003$), indicated a more pronounced inflammatory profile in patients with acromegaly compared to controls. A strong positive correlation was also observed between IL-4 and IL-22 ($Rho = 0.933$; $P < 0.001$) and between IL-6 and TNF- α ($Rho = 0.826$; $P < 0.001$) in the acromegaly group. The differences in anti-inflammatory cytokine levels remained significant after adjusting for confounding variables such as age, gender, and diabetes.

Conclusion: Quantitative and qualitative changes in the saliva of patients with acromegaly were observed, which may have implications for their oral and general health. Therefore, further studies are needed so that this information can serve as a strategy for more effective clinical monitoring of these patients.

Keywords: Acromegaly. Saliva. Cytokines. Inflammation. Growth hormone.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1.INTRODUÇÃO	13
1.1 Acromegalia	13
1.2 Saliva	14
1.3 Biomarcadores	15
2. CAPÍTULO I	18
3. CAPÍTULO II	35
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
REFERÊNCIAS	60
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	63
APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	65
APÊNDICE C – PRODUÇÕES ASSOCIADAS	71
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	76
ANEXO B – DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS NA ORAL	86
ANEXO C – DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS NA ORAL	113

1. INTRODUÇÃO

1.1 Acromegalia

A acromegalia é uma doença endócrina rara que apresenta incidência de 11 casos a cada 1 milhão de pessoas no mundo e prevalência de 2,8 a 14 por 100.000 habitantes (Burton *et al.*, 2016). Na maioria dos casos, a acromegalia é decorrente de uma exposição excessiva aos hormônio de crescimento (GH) e da insulina símile tipo-1 (IGF-1), causada por um adenoma hipofisário de diagnóstico tardio. Apesar da benignidade da maioria dos tumores, a acromegalia está associada com o aumento da morbidade e mortalidade devido às comorbidades que podem acompanhar a doença, que são totalmente ou parcialmente irreversíveis mesmo com tratamento (Schilbach; Strasburguer; Bidlingmaier, 2017).

A presença elevada do GH leva a alterações clínicas de forma direta ou indireta, como sinais sutis de crescimento das extremidades, alterações nas articulações, cefaleia, alterações visuais, hiperprolactinemia tumoral, apneia, cetoacidose diabética, complicações respiratórias, hipertensão grave, insuficiência cardíaca, artropatias, etc (Caron *et al.*, 2019; Vilar *et al.*, 2016). Apesar de ser uma doença com alta taxa de morbimortalidade, devido a sérias complicações sistêmicas, e com repercussão negativa na qualidade de vida (Campelo *et al.*, 2023; Coopmans *et al.*, 2022), seu diagnóstico geralmente acontece de maneira tardia, apresentando um intervalo de cerca de 8 a 10 anos desde os primeiros sintomas até o diagnóstico final (Quinkler *et al.*, 2017; Vilar *et al.*, 2016).

O diagnóstico da acromegalia é realizado através da avaliação dos níveis de IGF-1 e GH. No entanto, fatores biológicos podem influenciar nos níveis hormonais investigados, já que idade, sexo e índice de massa corporal podem alterar a secreção pulsátil do GH (Roelfsema; Veldhuis, 2016), assim como jejum prolongado, má nutrição, obesidade podem reduzir os níveis de IGF-1 (Bartz *et al.*, 2014; Stanley *et al.*, 2014). Além da biologia, a disponibilidade de diferentes tipos de testes para medir GH e IGF-1, com padronização e especificidades variadas torna difícil uma comparação dos estudos.

Diversas doenças também alteram a concentração de GH e IGF-1 circulantes. A insuficiência renal crônica aumenta a secreção do GH, enquanto

o IGF-1 permanece inalterado ou até diminui (Kamenicky *et al.*, 2014). Em pacientes com diabetes mellitus e resistência insulínica a supressão da liberação de GH pela glicose é prejudicada, resultando em maiores concentrações de GH em comparação com pacientes com sensibilidade normal à insulina (Hannon; Thompson; Sherlock, 2017). Em casos de inflamação sistêmica, doença crônica do fígado e cirrose ocorre uma dissociação entre GH e IGF-1, com aumento do GH e diminuição do IGF-1 (Chishima *et al.*, 2017).

1.2 Saliva

A saliva é composta por uma mistura de fluidos secretados pelas glândulas salivares maiores, parótida, submandibular e sublingual, assim como pelas glândulas salivares menores espalhadas pela mucosa bucal, além de fluido gengival, transudato da mucosa oral, muco da cavidade nasal e faringe (Inoue *et al.*, 2008; Stokes Jr e Davies, 2007). Apresenta pH levemente ácido, entre 6 e 7, mas podendo ser encontradas variações de acordo com a quantidade do fluxo salivar (Zhang *et al.*, 2016).

A secreção salivar é controlada por núcleos medulares e é influenciada, principalmente, por três fatores: estímulo mecânico, como o ato da mastigação; estímulo gustatório, sendo o sabor ácido o mais estimulante e o sabor doce o menos estimulante; e o estímulo olfativo, que é um estímulo reduzido. Portanto, a taxa de fluxo salivar apresenta grande variabilidade tanto no mesmo indivíduo quanto entre indivíduos diferentes. O valor considerado normal para a saliva não estimulada é acima de 0.1 ml/min, podendo alcançar 7 ml/min quando a saliva é estimulada (Humphrey; Williamson, 2001; Nunes; Mussavira; Bindhu, 2015).

Nos acromegálicos é observado aumento do volume da glândula submandibular em 87,5% dos pacientes com acromegalia (Manetti *et al.*, 2002). No entanto, na literatura não observamos informações se esse aumento de volume gera mudança no fluxo salivar e na concentração de moléculas na saliva.

Os componentes salivares possuem funções múltiplas que somados irão conferir diversas propriedades à saliva. A lubrificação e a proteção são garantidas pelas mucinas que são caracterizadas por alta viscosidade e alta elasticidade, protegendo os tecidos moles durante a mastigação, fala e deglutição. A capacidade tampão é realizada por bicarbonatos, fosfatos, ureia,

enzimas e proteínas, que, conseqüentemente, estão envolvidos na manutenção da integridade dental devido à capacidade de regular o pH da placa dental, auxiliando no processo de des/remineralização. A atividade antibacteriana é realizada por componentes não imunológicos (proteínas, mucinas, peptídeos e enzimas) e imunológicos (IgA, IgG e IgM). Já a hipotonicidade da saliva melhora a capacidade de degustar alimentos e lubrifica o bolo alimentar para facilitar a deglutição, enquanto que a amilase e as enzimas salivares iniciam o processo de digestão na cavidade bucal (Humphrey; Williamson, 2001).

Além de suas inúmeras propriedades, a saliva vem sendo cada vez mais utilizada no diagnóstico precoce e controle de várias condições sistêmicas, como câncer, infecções, desordens cardiovasculares ou alterações endócrinas. Isso é possível devido à secreção de diversas substâncias na saliva que podem ser orgânicas, como peptídeos, proteínas, incluindo enzimas; inorgânicas, como cálcio, magnésio, sódio, potássio e fosfatos; celulares, como leucócitos, bactérias e células epiteliais e outros marcadores, como anticorpos e interleucinas (Chojnowska *et al.*, 2018).

Doenças relacionadas a alterações hormonais já tem se beneficiado do uso da análise da saliva como coadjuvante no diagnóstico precoce e acompanhamento das evoluções clínicas, tais como doença de Addison (SMANS *et al.*, 2013), doença de Cushing (Ceccato; Boscaro, 2016), doença renal crônica (Yajamanam *et al.*, 2016) e o diabetes mellitus tipo 2 (Wang *et al.*, 2017).

1.3 Biomarcadores

Os biomarcadores podem ser considerados como instrumentos capazes de fornecer informações sobre o estado fisiológico do indivíduo, através de anticorpos, DNA, RNA, lipídios, metabólitos e proteínas. Além disso, eles são medidores e indicadores que avaliam de forma objetiva os processos biológicos, os processos patogênicos ou as respostas farmacológicas, por isso são importantes na detecção, avaliação de risco, diagnóstico, prognóstico e monitoramento de doenças (Ilyin; Belkowski; Plata-Salamán, 2004; Silberring; Ciborowski, 2010).

Dentre os biomarcadores analisados na saliva, existem os marcadores inflamatórios que são citocinas pró-inflamatórias responsáveis por desencadear a cascata inflamatória, que é uma resposta natural do sistema imunológico frente às agressões dos tecidos corporais. Dentre elas temos as interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-8), fator tumoral necrosante alfa, quimiocinas, interferon, etc. (Boshtam *et al.*, 2016).

A interleucina-6 é uma glicoproteína que tem importante papel na ativação do sistema imune e na otimização da resposta inflamatória, também podendo apresentar ação anti-inflamatória. A interleucina-1beta, que faz parte da mesma família da IL-6, também induz reações inflamatórias, induz efeitos catabólicos, podendo, ainda, se combinar com outros mediadores. Juntamente com a IL-1 β , o fator de necrose tumoral alfa é considerado uma citocina chave no processo inflamatório (Wojdasiewicz; Poniatowski; Szukiewicz, 2014).

A presença dessas citocinas pró-inflamatórias tem sido relacionada com o estado inflamatório crônico presente em algumas doenças, sendo o nível de concentração presente na saliva comparável ao do sangue (Costa *et al.*, 2010; Monea *et al.*, 2014).

Dentre as doenças que tem sido relacionada com essas citocinas pró-inflamatórias, temos a diabetes que é uma doença metabólica crônica, na qual elevados níveis de biomarcadores inflamatórios levam ao aumento da resistência insulínica e à quebra da homeostase da glicose, sendo as principais citocinas inflamatórias encontradas em níveis aumentados nesses pacientes: proteína C reativa, TNF- α , IL-6 e IL-1 β (Morohoshi *et al.*, 1996; Xu *et al.*, 2003).

Da mesma forma tem sido proposto que as citocinas pró-inflamatórias e outras substâncias endógenas estão envolvidas na patogênese de diferentes tipos de doenças cardiovasculares, sugerindo um papel fundamental no desenvolvimento da hipertensão, isquemia cardíaca e infarto do miocárdio (Bartekova *et al.*, 2018; Feldman *et al.*, 2000). O TNF- α , por exemplo, é encontrado em maior concentração nos casos de insuficiência cardíaca, estando relacionado com a etiologia e severidade dessa doença, além de estar envolvido na hipertrofia e dilatação ventricular (Eskandari *et al.*, 2017; Fang *et al.*, 2017).

Deste modo, torna-se plausível inferir que pacientes acromegálicos possam apresentar mudanças quantitativas e qualitativas na saliva decorrentes do aumento da secreção de GH e IGF-1. Neste contexto a presente tese objetiva avaliar alterações no fluxo salivar estimulado e não estimulado de adultos com acromegalia e verificar as possíveis associações com os fatores clínicos e medicações utilizadas (Capítulo I) e investigar o nível de marcadores inflamatórios na saliva deste grupo de pacientes (Capítulo II). Estes achados podem auxiliar no melhor entendimento das repercussões salivares relacionadas à acromegalia, o que poderá estar associada a atividade da doença. Estes achados parecem novos na literatura, visto que não identificamos investigações prévias de biomarcadores salivares, além de GH e IGF-1, que possam estar associados a acromegalia. Foi encontrada apenas a associação entre a alteração de níveis salivares e séricos de GH e IGF-1, no entanto não houve informação quanto aos ajustes relacionados com os fatores biológicos e doenças associadas (HALIMI *et al.*, 1994). Maffezzoni *et al.* (2020) enfatizam, ainda, que até a presente data não foi possível identificar biomarcadores confiáveis que reflitam adequadamente a atividade da acromegalia.

2. CAPÍTULO I

Artigo publicado no periódico *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*

<https://doi.org/10.1016/j.oooo.2024.08.009>

Fator de Impacto JCR 2023 (Clarivate Analytics): 2.0

Classificação Qualis/CAPES: A2 (Odontologia)

Fatores clínicos associados ao fluxo salivar em adultos com acromegalia

Renata C. Campelo, DDS, MSc,^a Bruno B. Benatti, DDS, PhD,^a Joana A. B. de Sousa, DDS, MSc,^a Gilvan C. Nascimento, MD, PhD,^{b,c} Rossana S. S. Azulay, MD, PhD,^{b,c} Manuel dos S. Faria, MD, PhD,^b Marcelo Magalhães, PhD,^b Vandilson Rodrigues, DDS, PhD,^{a,b}

¹Dentistry Graduate Program, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil.

²Research Group in Clinical and Molecular Endocrinology and Metabology, University Hospital of the Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

Resumo

Objetivo: Investigar o nível do fluxo salivar não estimulado (FSN) e estimulado (FSE) em pacientes com acromegalia e identificar possíveis fatores clínicos associados ao aumento do fluxo pacientes nesta população. **Métodos:** Um estudo caso-controle foi conduzido com dois grupos: um grupo formado por pacientes com diagnóstico de acromegalia e um grupo controle. Foram coletadas variáveis para caracterização sociodemográficas, hábitos de vida e diagnóstico de diabetes. As medidas antropométricas índice de massa corporal (IMC), circunferência cervical (CC) e circunferência abdominal (CA) também foram coletadas. As variáveis FSN e FSE foram mensuradas e analisados como variável desfecho. O teste T independente, a correlação de Pearson e modelos de regressão multivariado foram incluídos na análise estatística, adotando um nível de significância de 5%. **Resultados:** O nível do FSN foi mais elevado no

grupo acromegalia do que nos controles (0,50 ml/min versus 0,22 ml/min, $P < 0,001$). O FSE apresentou uma correlação diretamente proporcional com a medida CC ($r = 0,470$, $P = 0,010$). A acromegalia foi associada ao maior FSN mesmo após o ajustamento para fatores confundidores (Coeficiente = 0,903, $P < 0,001$). **Conclusão:** Os achados sugerem que pacientes com acromegalia apresentam aumento do fluxo salivar, o que pode estar relacionado com o aumento de estruturas orofaciais. É necessário realizar futuros estudos para investigar se ocorre alteração qualitativa na saliva e alterações na morfologia das glândulas salivares nesses indivíduos.

Palavras-chave: Acromegalia. Saliva. Antropometria. Saúde bucal.

Abstract

Objective: To investigate the level of unstimulated (NSF) and stimulated (SSF) salivary flow in patients with acromegaly and to identify possible clinical factors associated with increased patient flow in this population. **Methods:** A case-control study was conducted with two groups: a group composed of patients diagnosed with acromegaly and a control group. Variables for sociodemographic characterization, lifestyle habits, and diabetes diagnosis were collected. Anthropometric measurements of body mass index (BMI), cervical circumference (CC) and abdominal circumference (AC) were also collected. FSN and FSE variables were measured and analyzed as outcome variables. Independent T-test, Pearson's correlation, and multivariate regression models were used in the statistical analysis, with a significance level of 5%. **Results:** NSF was higher in the acromegaly group than in the controls (0.50 ml/min versus 0.22 ml/min, $P < 0.001$). SSF showed a directly proportional correlation with CC measurement ($r = 0.470$, $P = 0.010$). Acromegaly was associated with higher NSF even after adjustment for confounders (coefficient = 0.903, $P < 0.001$). **Conclusions:** The results suggest that patients with acromegaly have increased salivary flow, which may be related to the enlargement of orofacial structures. Future studies are needed to investigate whether there are qualitative changes in saliva and changes in gland morphology.

Keywords: Acromegaly; Saliva; Anthropometry; Oral health.

INTRODUÇÃO

O excesso de produção do hormônio de crescimento (GH) e insulina-símile tipo 1 (IGF-1) causado pela presença de um adenoma hipofisário pode levar à acromegalia (COLAO et al., 2019; HOSSAIN; DRAKE, 2017), que é uma doença que gera impacto negativo significativo na qualidade de vida dos indivíduos (CAMPELO et al., 2023; COOPMANS et al., 2022) por estar relacionada a diversas comorbidades, que levam ao aumento da mortalidade desses indivíduos (FLESERIU et al., 2022)

As alterações clínicas observadas de forma direta ou indireta, podem levar a complicações respiratórias, hipertensão grave, insuficiência cardíaca, artropatias e hipertrofia visceral (CARON et al., 2019; VILAR et al., 2016). Além disso, ocorre proliferação tecidual e hipertrofia corporal, incluindo mudanças nos tecidos duros e moles da região orofacial (BAVBEEK et al., 2016; WAGENMAKERS et al., 2015), podendo ocorrer, ainda, aumento do volume da glândulas submandibulares dos pacientes com acromegalia (MANETTI et al., 2002), assim como aumento da próstata, rins, fígado, coração e tireoide (PAROLIN et al., 2020).

No entanto, são escassos os estudos que investigaram a relação da acromegalia com alterações no fluxo salivar. A importância deste tipo de investigação está baseada na compreensão que alterações no volume e composição da saliva podem interferir em suas funções como lubrificação e proteção da mucosa, digestão, defesa físico-química, reparação de feridas, atividade microbiana e manutenção da saúde oral (DAWES et al., 2015). A saliva também tem sido utilizada para o diagnóstico precoce de doenças, pois é fluido biológico capaz de refletir as condições locais e sistêmicas inerentes a cada indivíduo (WANG et al., 2017), o que poderia ser utilizado como um recurso valioso para diagnóstico e monitoramento, já que a acromegalia apresenta diagnóstico tardio.

Deste modo, torna-se plausível inferir que pacientes acromegálicos possam apresentar mudanças quantitativas na saliva decorrentes do aumento da secreção de GH e IGF-1 e possíveis repercussões na morfologia das glândulas salivares. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi investigar o nível do fluxo salivar não estimulado (FSN) e estimulado (FSE) em pacientes

com acromegalia e identificar possíveis fatores clínicos associados ao aumento do fluxo pacientes nesta população.

MÉTODOS

Desenho e amostra do estudo

Um estudo caso-controle foi conduzido na cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. Inicialmente este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (número do parecer: 4.228.546, CAAE: 33124820.6.0000.5086) e foi conduzido de acordo com a diretrizes da Declaração de Helsinki. Todos os participantes foram informados sobre os objetivos e procedimentos do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Adicionalmente, todos os participantes receberam orientações sobre prevenção, procedimentos de higiene bucal e tratamento de doenças bucais.

O Grupo Caso foi formado por pacientes com diagnóstico de acromegalia, confirmado através do teste oral de tolerância à glicose (TOTG), triados no Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), unidade de saúde na qual estes pacientes realizavam o monitoramento clínico e tratamento da acromegalia. O Grupo Controle foi formado por indivíduos sem diagnóstico e sinais clínicos de acromegalia triados entre pacientes de um Curso de Odontologia e HUUFMA. Os controles foram pareados aos casos considerando os fatores sexo e idade com um intervalo de até ± 5 anos.

Foram incluídos em ambos os grupos indivíduos de ambos os sexos, idade igual ou maior que 18 anos. Todos os pacientes estavam sob tratamento no Serviço de Endocrinologia do HUUFMA. Foram excluídos pacientes sob internação hospitalar, mulheres gestantes, mulheres em terapia de reposição hormonal com estrógenos, indivíduos com índice de massa corporal (IMC) abaixo de 18,5, atuais fumantes, com presença de sinais clínicos de afecções infecciosa e/ou inflamatória de glândulas salivares.

Para o cálculo amostral, adotou-se a estatística Z para aproximar a estatística T (Hulley et al., 2013). A proposta foi detectar diferenças nas médias

dos valores do fluxo salivar entre os grupos Caso e Controle, considerando os seguintes parâmetros: nível de significância de 5%, poder do estudo de 80%, proporção dos grupos de 1:1, tamanho do efeito de 0,5, e desvio-padrão de 0,75. Dessa, obteve-se o tamanho mínimo requerido de 29 unidades participantes por grupo.

Coleta de variáveis de caracterização geral e medidas antropométricas

A fase inicial do estudo envolveu fazer perguntas verbais com base em um questionário semiestruturado que incluía variáveis sociodemográficas e hábitos de vida do paciente, como sexo, idade, estado civil, nível de escolaridade, renda pessoal mensal e tabagismo. Após o preenchimento do questionário, os registros médicos eletrônicos foram revisados para coletar informações sobre diagnósticos de comorbidade e tempo desde o diagnóstico de acromegalia. A circunferência abdominal (CA), a circunferência cervical (CC), o peso (em quilogramas) e a altura (em metros) foram medidos para calcular o índice de massa corporal (IMC em kg/m^2). O número e o tipo de medicamentos usados regularmente pelos participantes foram registrados. Os oito medicamentos mais comuns foram incluídos na análise comparativa do fluxo salivar.

Avaliação do fluxo salivar

Duas medidas do fluxo salivar foram coletadas: fluxo salivar não estimulado (FSN) e fluxo salivar estimulado (FSE) (DAWES, 1987). O paciente foi orientado a não comer ou escovar os dentes 60 minutos antes da coleta. Durante a coleta o participante inclinava a cabeça para frente e foi instruído a não falar ou engolir a saliva, depois cuspiu em tubo plástico coletor graduado tipo Falcon de 50mL. Para a coleta de FSN, os participantes foram instruídos a evitar engolir sua saliva durante 5 min e cuspir toda a saliva coletada em um receptor graduado a cada 60 segundos. Para a coleta do FSE durante a estimulação, os pacientes receberam uma lâmina de parafina Parafilm M® (Heathrow Scientific, Vernon Hills, IL, USA) e foram instruídos a mastigar até que se torne macio o suficiente para uma mastigação confortável, por pelo menos 1 min. Após este procedimento inicial, o mesmo procedimento descrito

anteriormente foi aplicado para a coleta de saliva durante a mastigação, sendo o tempo de coleta de 5 min. O fluxo salivar foi calculado através do peso em balança de precisão e foi convertido na unidade ml/min.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando os recursos dos softwares R versão 4.4.2 (R-CoreTeam, 2022) e GraphPad Prism versão 9 (GraphPad Software, San Diego, USA). A estatística descritiva foi realizada utilizando medidas de frequência, média e de desvio-padrão. Os testes qui-quadrado ou exato de Fisher foram utilizados para a análise comparativa das frequências entre os grupos Caso e Controle.

A normalidade da distribuição amostral foi aferida através do teste Shapiro-Wilk. O teste T de Student independente foi utilizado para a análise comparativa das variáveis contínuas entre os grupos Caso e Controle. O coeficiente de Pearson (r) foi utilizado para analisar a correlação entre as medidas contínuas e o fluxo salivar. Modelos de regressão linear multivariado foram construídos para avaliar a carga dos fatores acromegalia, diabetes, sexo masculino e idade sobre o nível do fluxo salivar. O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5% ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Descrição dos grupos do estudo

O estudo incluiu 58 participantes, sendo 29 casos e 29 controles, com uma distribuição de gênero semelhante de 55,2% mulheres e 44,8% homens. No grupo caso, a média de tempo desde o diagnóstico de acromegalia foi de $12,1 \pm 7,5$ anos. Não houve diferenças significativas de idade entre o grupo caso ($50,2 \pm 16,8$ anos) e o grupo controle ($54,3 \pm 16,2$ anos, $P = 0,358$). Em ambos os grupos, a maioria dos participantes se identificou como parda (69% no grupo caso versus 55,2% no grupo controle, $P = 0,320$), tinha mais de 8 anos de escolaridade (79,3% versus 75,9%, $P = 0,753$) e eram solteiros (65,5% versus 48,3%, $P = 0,385$). A porcentagem de pacientes diagnosticados com diabetes foi

de 55,2% no grupo caso e 51,7% no grupo controle ($P = 0,792$). Além disso, a média da circunferência cervical foi maior no grupo caso do que no grupo controle, mas a diferença não foi estatisticamente significativa ($P = 0,064$). O grupo acromegálico teve uma probabilidade estatisticamente maior de estar usando 4 ou mais medicamentos (75,9% versus 6,9%) (Tabela 1).

Tabela 1. Distribuição das variáveis de caracterização sociodemográfica entre os grupos caso e controle.

Variáveis	Caso (n=29)		Controle (n=29)		P
Sexo [n, (%)]					1,000
Feminino	16	(55,2)	16	(55,2)	
Masculino	13	(44,8)	13	(44,8)	
Idade em anos [média, $\pm$ dp]	50,2	$\pm 16,8$	54,3	$\pm 16,2$	0,358
Cor da pele autodeclarada [n, (%)]					0,320
Branca	6	(20,7)	5	(17,2)	
Preta	3	(10,3)	8	(37,6)	
Parda	20	(69,0)	16	(55,2)	
Escolaridade [n, (%)]					0,753
Até 8 anos de estudo	6	(20,7)	7	(24,1)	
Mais que 8 anos de estudo	23	(79,3)	22	(75,9)	
Estado civil [n, (%)]					0,185
Com companheiro	10	(34,5)	15	(51,7)	
Sem companheiro	19	(65,5)	14	(48,3)	
Renda familiar mensal [n, (%)]					0,180
Até 1 salário mínimo	14	(48,3)	9	(31,0)	
Mais que 1 salário mínimo	15	(51,7)	20	(69,0)	
Diabetes [n, (%)]					0.792
Não	13	(44,8)	14	(48,3)	
Sim	16	(55,2)	15	(51,7)	
Body measures [mean, $\pm$ sd]					
Circunferência cervical (CC)	38.5	± 4.6	36.1	± 2.4	0.064
Circunferência abdominal (CA)	99.0	± 13.1	96.3	± 10.4	0.979
Índice de massa corporal (IMC)	28.2	± 4.9	26.9	± 5.1	0.461
Quantidade de medicações [n, (%)]					<0.001
0–1	2	(6,9)	18	(62,1)	
2–3	5	(17,2)	9	(31,0)	
≥ 4	22	(75,9)	2	(6,9)	
Usuários de estatinas [n, (%)]					0.008
Não	12	(41,4)	22	(75,9)	
Sim	17	(58,6)	7	(24,1)	
Usuários de metformina [n, (%)]					<0.001
Não	10	(34,5)	24	(82,8)	
Sim	19	(65,5)	5	(17,2)	
Usuários de octreotide [n, (%)]					<0.001
Não	9	(31,0)	29	(100)	
Sim	20	(69,0)	0	(0)	
Usuários de carbegolina [n, (%)]					<0.001

Não	15	(51.7)	29	(100)	
Sim	14	(48.3)	0	(0)	
Usuários de losartana [n, (%)]					0.010
Não	18	(62.1)	27	(93.1)	
Sim	11	(37.9)	2	(6.9)	
Usuários de insulina [n, (%)]					0.345
Não	24	(82.8)	21	(72.4)	
Sim	5	(17.2)	8	(27.6)	
Usuários de hidroclorotiazida [n, (%)]					0.179
Não	21	(72.4)	26	(89.7)	
Sim	8	(27.6)	3	(16.3)	
Usuários de levotiroxina [n, (%)]					<0.001
Não	19	(65.5)	29	(100)	
Sim	10	(34.5)	0	(0)	

±sd = standard deviation. BMW = Brazilian minimum wage. In 2020, the Brazilian minimum wage (BMW) was R\$ 1,045 in Brazilian Reais Current, equivalent to US\$ 202.9 based on average values.

Comparação do fluxo salivar entre os grupos

A análise comparativa do fluxo salivar entre os grupos caso e controle está mostrada na Figura 1. A análise revela que o grupo caso apresentou um nível de fluxo salivar não estimulado (FSN) estatisticamente mais alto do que o grupo controle (média = 0,50 ml/min, SEM = 0,05 versus média = 0,22 ml/min, SEM = 0,04, $P < 0,001$, Cohen's $d = 1,06$, Figura 1B). No entanto, não houve diferenças significativas no fluxo salivar estimulado (FSE) entre os grupos ($P = 0,578$, Cohen's $d = 0,15$, Figura 1A). Em ambos os grupos, FSE > 0,7 ml/min foi o mais comum (44,9% no grupo caso e 37,9% no grupo controle, Figura 1C). Enquanto isso, FSN > 0,5 ml/min foi mais comum no grupo caso (44,9%), e FSN < 0,3 foi a categoria de FSN mais comum no grupo controle (65,5%) ($P = 0,006$, Figura 1D).

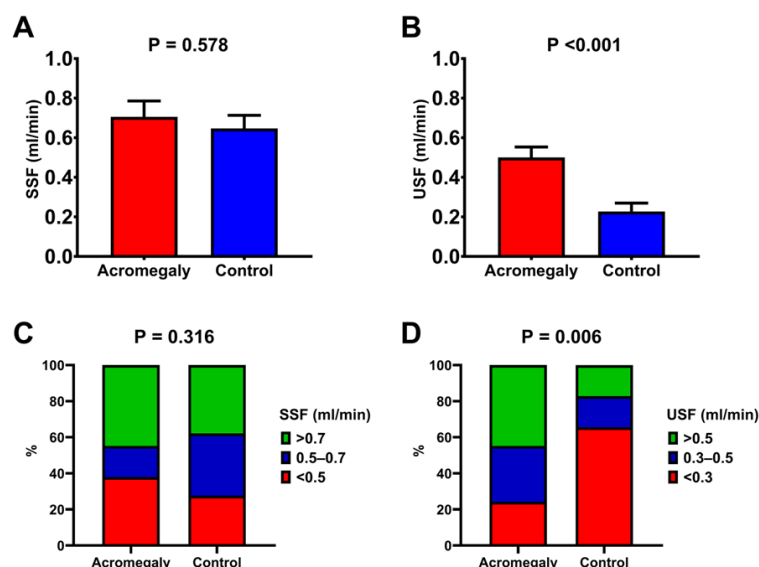


Fig. 1. Análise comparativa do fluxo salivar estimulado (A) e não estimulado (B) entre os grupos caso e controle. FSE = fluxo salivar estimulado. FSN = fluxo salivar não estimulado. As barras representam os valores médios e as barras de erro representam o erro padrão da média (SEM). As diferenças entre os grupos foram calculadas pelo teste t não pareado.

Matriz de correlação linear

A análise mostrou correlações diretas significativas entre medidas antropométricas como circunferência cervical (CC), circunferência abdominal (CA) e índice de massa corporal (IMC) em ambos os grupos. Além disso, as medições de fluxo salivar estimulado e não estimulado também exibiram fortes correlações diretas. No grupo acromegálico, uma maior medida da circunferência cervical foi associada a um maior volume de FSE ($r = 0,470$, $P = 0,010$). Os resultados do estudo mostraram uma correlação inversa entre a idade e o fluxo salivar estimulado ($r = -0,413$; $P = 0,026$) no grupo controle. Também houve correlação direta entre CC e FSE ($r = 0,507$, $P = 0,005$), assim como entre CC e FSN ($r = 0,484$, $P = 0,008$) no grupo controle (Tabela 2). No grupo acromegálico, não houve correlação significativa entre o tempo de diagnóstico da doença e FSE ($r = 0,191$, $P = 0,383$) ou FSN ($r = -0,146$, $P = 0,507$).

Tabela 2. Medidas estimada na análise de correlação linear de Pearson entre as variáveis idade, dados antropométricos e fluxo salivar nos grupos Caso e Controle.

Variáveis	medidas	Idade	CC	CA	IMC	FSE	FSN
Grupo Caso							
Idade	r de Pearson	1,000	-0,031	-0,023	-0,355	0,104	0,128
	P valor		0,875	0,908	0,069	0,598	0,516
CC	r de Pearson	-0,031	1,000	0,776	0,717	0,470	0,341
	P valor	0,875		<0,001*	<0,001*	0,010*	0,070
CA	r de Pearson	-0,023	0,776	1,000	0,685	0,240	0,145
	P valor	0,908	<0,001*		<0,001*	0,228	0,469
IMC	r de Pearson	-0,355	0,717	0,685	1,000	0,357	0,189
	P valor	0,069	<0,001*	<0,001*		0,062	0,336
FSE	r de Pearson	0,104	0,470	0,240	0,357	1,000	0,713
	P valor	0,598	0,010*	0,228	0,062		<0,001*
FSN	r de Pearson	0,128	0,341	0,145	0,189	0,713	1,000
	P valor	0,516	0,070	0,469	0,336	<0,001*	
Grupo Controle							
Idade	r de Pearson	1,000	-0,130	0,068	-0,224	-0,413	-0,315
	P valor		0,500	0,724	0,253	0,026*	0,096
CC	r de Pearson	-0,130	1,000	0,570	0,561	0,507	0,484
	P valor	0,500		0,001*	0,002*	0,005*	0,008*
CA	r de Pearson	0,068	0,570	1,000	0,650	0,083	-0,009
	P valor	0,724	0,001*		<0,001*	0,667	0,962
IMC	r de Pearson	-0,224	0,561	0,650	1,000	0,361	0,187
	P valor	0,253	0,002*	<0,001*		0,059	0,341
FSE	r de Pearson	-0,413	0,507	0,083	0,361	1,000	0,848
	P valor	0,026*	0,005*	0,667	0,059		<0,001*
FSN	r de Pearson	-0,315	0,484	-0,009	0,187	0,848	1,000
	P valor	0,096	0,008*	0,962	0,341	<0,001*	

CC = Circunferência cervical. CA = Circunferência abdominal. FSE = Fluxo salivar estimulado. FSN = Fluxo salivar não estimulado. ***P <0,05**.

Análise dos dados de medicação

A Figura 2 mostra a frequência de uso de medicamentos na amostra e uma análise comparativa do fluxo salivar. Os três medicamentos mais comumente utilizados regularmente na amostra total foram estatinas (41,4%), metformina (41,4%) e octreotide (34,5%). Não houve diferenças estatisticamente significativas no FSE entre usuários e não usuários dos medicamentos estudados. Por outro lado, observou-se um FSN mais alto em usuários de octreotide ($P = 0,037$, Cohen's $d = 0,589$), losartan ($P = 0,028$, Cohen's $d = 0,709$) e levotiroxina ($P = 0,013$, Cohen's $d = 0,897$). Um FSN mais baixo foi observado em usuários de insulina regular ($P = 0,040$, Cohen's $d = -0,663$).

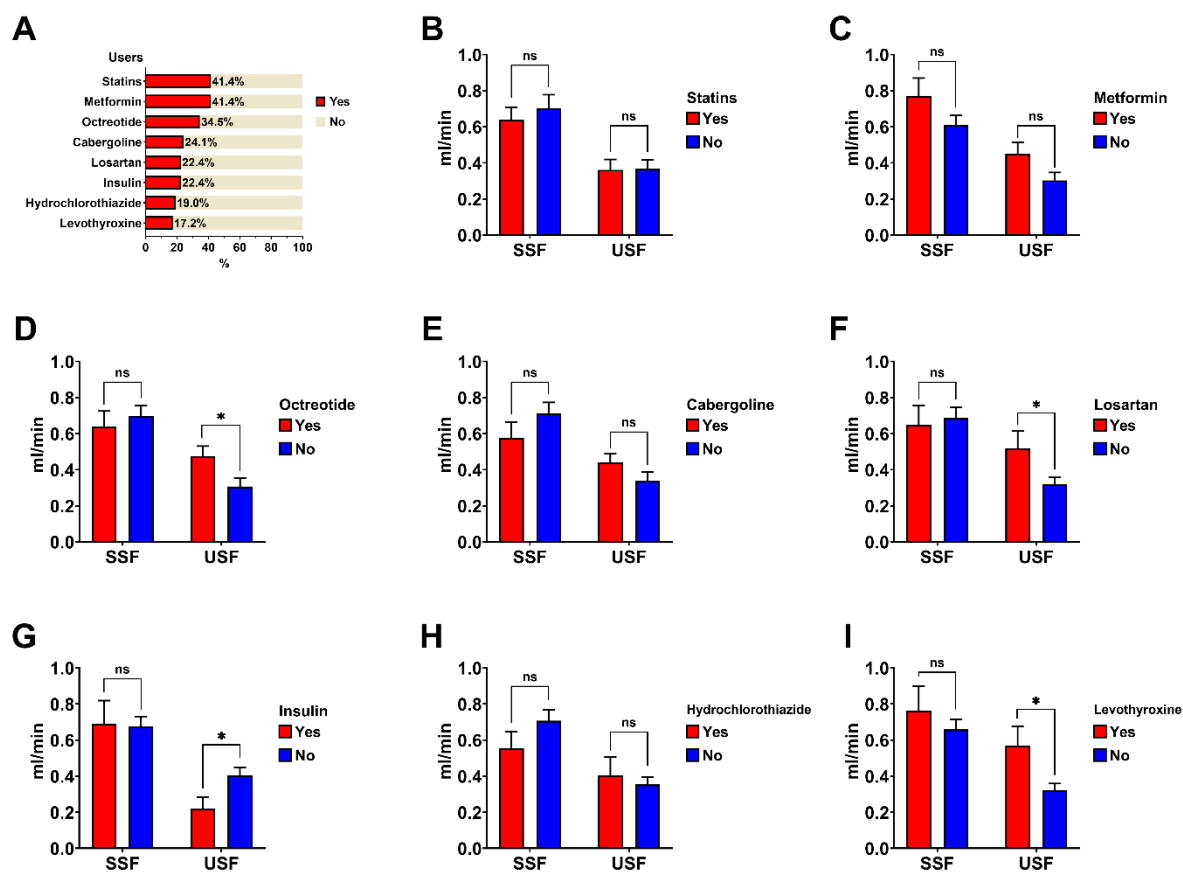


Fig. 2. Frequência do uso de medicamentos e análise comparativa do fluxo salivar estimulado e não estimulado de acordo com o tipo de medicamento: estatinas (B), metformina (C), octreotida (D), cabergolina (E), losartan (F), insulina (G), hidroclorotiazida (H) e levotiroxina (I). FSE = fluxo salivar estimulado. FSN = fluxo salivar não estimulado. As barras representam os valores médios e as barras de erro representam o erro padrão da média (SEM). ns = não significativo. * $P < 0.05$. As diferenças entre os grupos foram calculadas pelo teste t não pareado.

Fatores relacionados ao fluxo salivar

A Tabela 3 mostra os coeficientes dos modelos de regressão multivariada. De acordo com o modelo, homens tiveram maior fluxo salivar estimulado na análise multivariada (coeficiente padronizado = 0,680, IC 95% = 0,101 a 1,260, $P = 0,022$). A acromegalia foi associada a um aumento do fluxo salivar não estimulado, mesmo após ajuste estatístico (coeficiente padronizado = 0,780, IC 95% = 0,041 a 1,520, $P = 0,039$). Além disso, a idade foi inversamente

relacionada ao FSN (coeficiente padronizado = -0,333, IC 95% = -0,677 a -0,072, P = 0,013) e os usuários de losartan foram associados a um FSN mais alto (coeficiente padronizado = 0,738, IC 95% = 0,104 a 1,372, P = 0,021).

Table 3. Modelos de regressão multivariada para estimar o fluxo salivar na amostra.

Fatores	SC	CI 95%		P
		Inferior	Superior	
Modelo 1 (desfecho: FSE)				
Acromegalia	0,312	-0,545	1,170	0,467
Diabetes	0,352	-0,323	1,027	0,299
Idade	-0,193	-0,501	0,114	0,213
Sexo masculino	0,680	0,101	1,260	0,022*
Insulina	-0,266	-1,064	0,532	0,505
Octreotide	-0,520	-1,323	0,282	0,198
Losartana	0,088	-0,656	0,832	0,813
Levothyroxina	0,200	-0,587	0,988	0,612
Modelo 2 (desfecho: FSN)				
Acromegalia	0,780	0,041	1,520	0,039*
Diabetes	-0,096	-0,677	0,483	0,739
Idade	-0,333	-0,593	-0,072	0,013*
Sexo masculino	0,141	-0,355	0,639	0,569
Insulina	-0,466	-1,183	0,185	0,157
Octreotide	-0,409	-1,103	0,283	0,241
Losartana	0,738	0,104	1,372	0,021*
Levothyroxina	0,243	-0,435	0,922	0,475

SC = coeficiente padronizado CI 95% = Intervalo de confiança a 95%. FSE = fluxo salivar estimulado FSN = fluxo salivar não estimulado. * P <0,05.

DISCUSSÃO

Para o nosso melhor conhecimento, este estudo parece ser o primeiro a avaliar o fluxo salivar estimulado e não estimulado em indivíduos com acromegalia, comparado com indivíduos sem acromegalia. Os achados do presente estudo sugerem que indivíduos com acromegalia apresentam aumento no fluxo salivar mesmo sem o estímulo fisiológico. Além disso, indivíduos com maior circunferência cervical, medida que apresenta incremento na acromegalia apresentam maior volume salivar estimulado.

A saliva é produzida pelas glândulas salivares maiores, parótida, submandibular e sublingual, assim como pelas glândulas salivares menores

espalhadas pela mucosa bucal. A presença da saliva na cavidade oral é fator indispensável para a manutenção da saúde dos tecidos moles e tecidos duros, funcionando como mantenedora da mineralização dentária, promovendo proteção e lubrificação da mucosa e interagindo e modificando a microbiota oral. Para tanto, é necessário que haja produção suficiente de saliva para que suas funções sejam desempenhadas satisfatoriamente (PROCTOR e SHAALAN, 2021). O funcionamento das glândulas salivares pode ser afetado por várias doenças sistêmicas, levando à redução do volume salivar, como acontece na síndrome de Jögren, doença de Parkinson e diabetes, contribuindo para o desenvolvimento de boca seca, candidíase, cárie e dificuldade na fala e para engolir (HOSEINI et al., 2017).

O processo de envelhecimento é um reconhecido fator associado à redução do fluxo salivar devido mecanismos relacionados a função das glândulas salivares (AFFOO et al., 2015). Entretanto, apesar de ser esperada uma diminuição do fluxo salivar com o aumento da idade (HUANG et al., 2021; XU et al., 2019), como foi observado no grupo controle, os indivíduos com acromegalia, no presente estudo, não apresentaram essa variação. Este achado pode ser explicado pela exposição dos tecidos glandulares aos níveis elevados de IGF-1 e GH, típicos da acromegalia (MANETTI et al., 2002), o que pode ter contribuído para manter a hiperfunção salivar mesmo nos pacientes mais idosos no grupo caso do presente estudo.

O fluxo salivar também pode ser afetado pelos níveis de hormônios sexuais femininos, sendo comum redução em algumas fases da gestação (MIGLIARIO et al., 2021; FORATORI-JUNIOR et al., 2023), redução no fluxo também é percebida durante a menopausa (LAGO et al., 2015; CIESIELSKA et al., 2021). No presente estudo, os homens apresentaram fluxo salivar estimulado mais elevado, mesmo considerado o ajustamento para acromegalia, idade e diabetes. Este achado pode indicar que o fator sexual interfere no volume salivar sob estímulo, mesmo nos pacientes com acromegalia.

Como esperado as medidas IMC, CC e CA estão relacionados entre si, mas podemos destacar a relação direta e significativa entre o CC e o FSE em ambos os grupos, assim como o CC e o FSN no grupo controle. Estes achados sugerem que a maior dimensão na região cervical pode estar correlacionada à maior volume de estruturas orofaciais, como as glândulas salivares, o que

poderia ser responsável pela produção de um maior volume salivar. Um estudo anterior indica que pacientes com acromegalia apresentam um aumento do volume das glândulas salivares submandibulares, mesmo em condições de inatividade da doença (MANETTI et al., 2002). Estas evidências podem sinalizar que repercussão da acromegalia sobre as glândulas salivares pode ser permanentes, apresentando alterações mesmos após o controle terapêutico da doença. Entretanto, estes mecanismos poderão ser melhor investigados em estudos futuros que avaliem a dimensões das glândulas salivares através de exames de imagem utilizando um desenho longitudinal com prologado seguimento dos pacientes.

Um outro fator associação a alterações no fluxo salivar é a presença de diabetes (MARQUES et al., 2022). Evidências têm mostrado que o diabetes apresenta diversos sinais e sintomas clínicos na cavidade bucal, como queixas de boca seca, dificuldades mastigatórias, lesões orais decorrentes da diminuição de fluxo salivar, infecções fúngicas oportunistas, além de aumentar o risco para o desenvolvimento e exacerbação da periodontite (POUDEL et al., 2022; MAURI-OBRAIDORS et al., 2017). O diabetes é uma complicação clínica secundária comum da acromegalia devido ao excesso de GH induzido à um estado de resistência insulínica e outras interações metabólicas (FRARA et al., 2016; HANON et al., 2017). Embora o diabetes ser frequente na acromegalia e estar associado à redução do fluxo salivar, este fator não foi associado à alteração no fluxo salivar no presente estudo.

Um ponto forte do presente estudo foi o pareamento dos grupos por sexo e idade, além disso, não foram detectadas diferenças significantes entre para os outros fatores caracterização geral entre os pacientes com acromegalia e controles. O uso destes critérios tornou os grupos comparáveis, podendo ter reduzido o risco de vieses de seleção de amostra. Um outro ponto forte que merece ser destacado é a análise multivariada que pode ter reduzido o viés de confusão, especialmente relacionado ao efeito de comorbidades como o diabetes, envelhecimento, fatores relacionados aos hormônios sexuais sobre a taxa de fluxo salivar. Por outro lado, o que pode ter limitado o poder da análise em detectar outras associações. Contudo é importante destacar que a acromegalia é uma doença rara com baixa prevalência populacional, o que dificulta a condução de estudo com grande volume amostral nesta população.

Dessa forma, recomenda-se o desenvolvimento de estudos futuros com amostras e seguimentos maiores, além da investigação do volume tecidual das glândulas, através de exame de imagem e avaliação da composição da saliva.

CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo indicam que a acromegalia pode promover um aumento do fluxo salivar, especialmente no fluxo salivar não estimulado, o que pode estar relacionado com alterações no volume das glândulas salivares. É necessário realizar futuros estudos para investigar se ocorre também modificações na composição molecular na saliva desses indivíduos. Estas informações poderão auxiliar no entendimento das repercussões da acromegalia sobre a saúde bucal e direcionar medidas para um melhor monitoramento clínico destes pacientes.

REFERÊNCIAS

- Affoo, R. H., Foley, N., Garrick, R., Siqueira, W. L., & Martin, R. E. (2015). Meta-analysis of salivary flow rates in young and older adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, 63(10), 2142-2151.
- BAVBK, N. et al. Cephalometric assessment of soft tissue morphology of patients with acromegaly. *Australian orthodontic journal*, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 48–54, 2016.
- CARON, et al. Signs and symptoms of acromegaly at diagnosis: the physician's and the patient's perspectives in the ACRO-POLIS study. *Endocrine* [Internet]. Springer US; 2019;63:120–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-018-1764-4>
- Ciesielska, A., Kusiak, A., Ossowska, A., & Grzybowska, M. E. (2021). Changes in the oral cavity in menopausal women—A narrative review. *International journal of environmental research and public health*, 19(1), 253.
- COLAO, A. et al. Acromegaly. *Nature Reviews Disease Primers*, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 480–483, 2019.

DAWES, C. et al. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol.* 2015;60(6):863–74.

Foratori-Junior, G. A., Ventura, T. M. O., Grizzo, L. T., Jesuino, B. G., Castilho, A. V. S. S., Buzalaf, M. A. R., & Sales-Peres, S. H. D. C. (2023). Is there a difference in the proteomic profile of stimulated and unstimulated saliva samples from pregnant women with/without obesity and periodontitis?. *Cells*, 12(10), 1389.

Frara, S., Maffezzoni, F., Mazziotti, G., & Giustina, A. (2016). Current and emerging aspects of diabetes mellitus in acromegaly. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 27(7), 470-483.

GUO, X. et al. et al. 3D Facial Analysis in Acromegaly: Gender-Specific Features and Clinical Correlations. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018;9:1–8. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00722/full>

Hannon, A. M., Thompson, C. J., & Sherlock, M. (2017). Diabetes in patients with acromegaly. *Current Diabetes Reports*, 17, 1-8.

HOSSAIN, B.; DRAKE, W. Acromegaly. *Medicine*, [s. l.], v. 45, n. 8, p. 480–483, 2017.

HUANG, X; DRAKE, Y; WEI, Y. Gustatory Function and Salivary Flow Rate in Healthy Adults. *Laryngoscope*. 2022 Apr;132(4):844-848. doi: 10.1002/lary.29998. Epub 2021 Dec 22. PMID: 34936101.

Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Newman TB. *Designing clinical research : an epidemiologic approach*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. Appendix 6A, page 73.

Lago, M. L. F., de Oliveira, A. E. F., Lopes, F. F., Ferreira, E. B., Rodrigues, V. P., & Brito, L. M. O. (2015). The influence of hormone replacement therapy on the salivary flow of post-menopausal women. *Gynecological Endocrinology*, 31(2), 109-112.

MANETTI, L. et al. Submandibular salivary gland volume is increased in patients with acromegaly. *Clinical Endocrinology*, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 97–100, 2002.

Marques, R. C. R., da Silva, J. R., Lima, C. P. V., Stefani, C. M., & Dame-Teixeira, N. (2022). Salivary parameters of adults with diabetes mellitus: a systematic

review and meta-analysis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 134(2), 176-189.

Mauri-Obradors E, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, Viñas M, López-López J. Oral manifestations of Diabetes Mellitus. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017; 22:e586-e594.

Migliario, M., Bindi, M., Surico, D., De Pedrini, A., & Minsenti, S. (2021). Changes in salivary flow rate and pH in pregnancy. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 25(4).

PAROLIN, M. et al. Acromegaly and ultrasound: how, when and why? *J Endocrinol Invest* . 2020; v. 43, n. 3, p. 279-287.

Poudel P, Griffiths R, Wong VW, Arora A, Flack JR, Khoo CL, George A. Oral health knowledge, attitudes and care practices of people with diabetes: a systematic review. *BMC Public Health*. 2018; 18:577.

VILAR, L. et al. Acromegaly: clinical features at diagnosis. *Pituitary*, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 22–32, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11102-016-0772-8>>

WAGENMAKERS, M. et al. Three-dimensional facial analysis in acromegaly: a novel tool to quantify craniofacial characteristics after long-term remission. *Pituitary* [Internet]. 2015;18:126–34. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11102-014-0565-x>

WANG, B. et al. Evaluation of parotid salivary glucose level for clinical diagnosis and monitoring type 2 diabetes mellitus patients. *BioMed Research International*, [s. l.], p. 1–5, 2017.

XU, F. et al. Aging-related changes in quantity and quality of saliva: Where do we stand in our understanding? *J Texture Stud*. 2019; v.50, n.1,p. 27-35.

3. CAPÍTULO II

Artigo formatado conforme as normas do periódico *Oral Diseases*.

Fator de Impacto (JCR 2023): 2.9.

Classificação Qualis/CAPEs: A1 (Odontologia).

Perfil Salivar de Citocinas Pró- e Anti-Inflamatórias Associado à Acromegalia

Salivary signature of pro- and anti-inflammatory cytokines in acromegaly

Renata Carvalho Campelo¹; Vandilson Pereira Rodrigues²

¹ Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

² Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão, Brasil.

Autor de Correspondência:

Vandilson Rodrigues, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Avenida dos Portugueses, 1966, Universidade Federal do Maranhão, 65080-805, São Luís, Brasil.

Email: vandilson.rodrigues@ufma.br

Telefone: +55 98981415836

Resumo

Introdução: A acromegalia é uma condição caracterizada pela hipersecreção crônica de hormônio de crescimento (GH) e IGF-1, que pode desencadear alterações no sistema imunológico e influenciar o perfil de citocinas no organismo. No entanto, até o momento, não existem estudos que investiguem o perfil de citocinas salivares em pacientes com acromegalia. O objetivo deste estudo é investigar os níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva de adultos com acromegalia. **Métodos:** Foi conduzido um estudo caso-controle com 25 pacientes diagnosticados com acromegalia e 25 controles pareados por idade e sexo. Foram coletados dados demográficos e informações sobre a saúde geral dos participantes. Amostras de saliva foram obtidas para quantificação de citocinas (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α e TNF- α). A análise estatística foi realizada utilizando os testes de Mann-Whitney, correlação de Spearman e curva ROC. **Resultados:** Os resultados mostraram que os pacientes com acromegalia apresentaram níveis significativamente mais elevados de IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TGF- α e TNF- α na saliva, quando comparados aos controles ($P < 0,001$). Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de IL-1 β e IL-22. A análise das razões de citocinas, como IL-22/IL-4 ($P < 0,001$), IL-1 β /IL-10 ($P = 0,023$) e IL-22/IL-10 ($P = 0,003$), indicou um perfil inflamatório mais pronunciado nos pacientes com acromegalia em comparação aos controles. Observou-se também uma forte correlação positiva entre IL-4 e IL-22 ($Rho = 0,933$; $P < 0,001$) e entre IL-6 e TNF- α ($Rho = 0,826$; $P < 0,001$) no grupo acromegalia. As diferenças nos níveis de citocinas anti-inflamatórias se mantiveram significativas após o ajuste para variáveis de confusão, como idade, sexo e diabetes. **Conclusão:** Os achados sugerem que pacientes com acromegalia apresentam um perfil salivar com predominância de citocinas inflamatórias, incluindo mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios. Esses resultados indicam que a acromegalia pode estar associada a uma modulação imunológica que favorece um ambiente inflamatório local, com potenciais implicações para a patogênese e manejo clínico da doença e comorbidades.

Palavras-chave: Acromegalia. Saliva. Citocinas. Inflamação.

Salivary signature of pro- and anti-inflammatory cytokines in acromegaly

Abstract

Introduction: Evidence suggests that hormonal dysregulation induced by acromegaly may modulate serum cytokine levels. However, to our knowledge, there have been no previous investigations of the salivary cytokine signature in

adults with acromegaly. The objective of the study was to identify the signature of pro- and anti-inflammatory cytokines associated with acromegaly in adults.

Methods: A case-control study was conducted with 25 patients with acromegaly and 25 controls. Demographic and general health data were collected. Saliva samples were collected to quantify the concentration of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α and TNF- α . Mann-Whitney test, Spearman's correlation and ROC curve analysis were used for statistical analysis. **Results:** The results showed that patients with acromegaly had higher salivary levels of IL4, IL-6, IL-10, IL-17A, TGF- α and TNF- α ($P < 0.001$). There were no significant differences for isolated IL-1 and IL-22. Comparative analysis of IL-22/IL-4 ($P < 0.001$), IL-1 β /IL-10 ($P = 0.023$) and IL-22/IL-10 ($P = 0.003$) ratios showed that adults with acromegaly had a more pro-inflammatory profile than controls. There was a strong direct correlation between IL-4 and IL-22 ($Rho = 0.933$, $P < 0.001$) and between IL-6 and TNF- α ($Rho = 0.826$; $P < 0.001$) in the acromegaly group. The differences in the levels of anti-inflammatory markers remained after adjustment for age, sex and diabetes. **Conclusion:** The results suggest that patients with acromegaly seem to stimulate the production of salivary markers with a more anti-inflammatory profile.

Keywords: Acromegaly, Saliva, Cytokines, Inflammation.

1. INTRODUÇÃO

A acromegalia é uma doença rara, geralmente causada por um tumor benigno na glândula pituitária, que resulta na produção excessiva de hormônio de crescimento (GH) e fator de crescimento insulina-símile tipo 1 (IGF-1). Embora o tumor seja benigno, a acromegalia tem um impacto significativo na saúde geral dos indivíduos, sendo frequentemente associada a uma ampla gama de comorbidades metabólicas, cardiovasculares, respiratórias, musculoesqueléticas, neurológicas e neoplásicas (Caron et al., 2019; Vilar et al., 2016). Além disso, ela prejudica a qualidade de vida, inclusive a saúde bucal (Campelo et al., 2024). Na região orofacial, os pacientes com acromegalia apresentam alterações como prognatismo mandíbula, macroglossia (Dostálová et al., 2003; Lima et al., 2009; Guo et al., 2018) aumento do volume das glândulas salivares (Manetti et al., 2012) e aumento do fluxo salivar (Campelo et al., 2024).

Essas comorbidades podem induzir um quadro de inflamação sistêmica, caracterizado por níveis elevados de citocinas séricas, que são mediadores fundamentais nas respostas imunológicas tanto fisiológicas quanto patológicas. Dependendo do contexto, as citocinas podem exercer efeitos tanto benéficos quanto deletérios ao organismo (Bartekova et al., 2018). A mensuração dessas citocinas em diversos biomateriais, incluindo a saliva, tem sido investigada devido à sua relevância diagnóstica e prognóstica. A saliva apresenta correlação significativa com os níveis séricos dessas moléculas inflamatórias, o que a torna um fluido biológico promissor para a avaliação do status inflamatório de pacientes (Tvarijonaviciute, 2019; Costa et al., 2010; Monea et al., 2014).

As citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , entre outras, desempenham um papel crucial na indução da cascata inflamatória, uma resposta fisiológica do sistema imunológico frente a lesões teciduais (Boshtam et al., 2017). Além disso, a análise de biomarcadores salivares tem se consolidado como uma ferramenta valiosa tanto no diagnóstico quanto no monitoramento de doenças, proporcionando dados cruciais para a intervenção precoce e preventiva. A coleta de saliva é uma abordagem não invasiva, de baixo custo, com boa estabilidade e facilidade de obtenção, tornando-a ideal para práticas clínicas em diversas condições, como diabetes mellitus, doenças vasculares, síndrome de Sjögren, alguns tipos de câncer, infecções virais, entre outras (Huang et al., 2019; Chojnowska et al., 2018; Nunes, Mussavira, Bindhu, 2015; Zhang et al., 2016).

Apesar da crescente evidência sobre as alterações bucais na acromegalia, como o aumento do volume das glândulas salivares e outras manifestações orais (Slagboom et al., 2023), poucos estudos investigaram o perfil de citocinas salivares nesse contexto. Considerando as alterações orais associadas à acromegalia, que podem afetar a qualidade da saliva e refletir o status inflamatório, o interesse em estudar esses biomarcadores na saliva de pacientes com acromegalia tem aumentado.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi investigar o perfil de citocinas pró- e anti-inflamatórias (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α e TNF- α) na saliva de pacientes com acromegalia, com a hipótese de que esses biomarcadores podem estar relacionados ao quadro inflamatório associado à

doença. Os resultados poderão contribuir para a identificação de moléculas salivares que não apenas ajudem na avaliação da atividade da doença, mas também no monitoramento do status inflamatório e da resposta ao tratamento.

2. METODOLOGIA

2.1. Desenho do estudo

Foi conduzido um estudo caso-controle com um grupo acromegalia e um grupo controle na cidade de São Luís, Maranhão, Brasil. Inicialmente, o projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (CEP-HUUFMA) sob o número do parecer: 4.228.546, CAAE: 33124820.6.0000.5086. Todos os participantes foram informados sobre os objetivos e procedimentos envolvidos no estudo, e após seu completo entendimento, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Adicionalmente, todos os participantes receberam orientações sobre prevenção, procedimentos de higiene bucal e tratamento de doenças bucais, além de encaminhados, quando necessário, para tratamento odontológico nas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão.

2.2. Amostra

O grupo acromegalia foi constituído de pacientes, de ambos os sexos, com idade igual ou maior que 18 anos, com diagnóstico confirmado de acromegalia pela equipe médica através do teste oral de tolerância à glicose (TOTG), e que eram monitorados no Ambulatório de Endocrinologia do HUUFMA. Foram excluídos pacientes sob internação hospitalar, mulheres gestantes, mulheres em terapia de reposição hormonal com estrógenos, indivíduos com índice de massa corporal (IMC) abaixo de 18,5, atuais fumantes ou ex-fumante a menos de 5 anos, presença de sinais de afecções infecciosa e/ou inflamatória de glândulas salivares.

Enquanto que o grupo controle foi formado por indivíduos não-acromegálicos, atendidos nas Disciplinas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão. Foram incluídos neste grupo, indivíduos sistemicamente saudáveis, de ambos os sexos, com idade igual ou maior de 18

anos. Foram excluídos indivíduos que estavam fazendo uso de medicamentos antibióticos e/ou anti-inflamatórios nos últimos 3 meses, diabetes não compensado, mulheres gestantes, mulheres em terapia de reposição hormonal com estrógenos, indivíduos com índice de massa corporal (IMC) abaixo de 18,5, atuais fumantes ou ex-fumantes a menos de 5 anos, presença de sinais de afecções infecciosa e/ou inflamatória de glândulas salivares. Para minimizar os vieses da pesquisa o grupo controle foi pareado com o grupo caso, levando em consideração a idade (4 anos para mais ou para menos) e o gênero dos participantes (masculino ou feminino).

2.3. Coleta de dados de caracterização geral

Uma entrevista foi conduzida com perguntas realizadas de forma verbal guiadas por um questionário semiestruturado, contendo questões para caracterização sociodemográfica do participante. Após a conclusão do questionário, no grupo caso, foi consultado o prontuário do paciente para coleta de dados médicos (presença ou ausência de comorbidades como hipertensão arterial, diabetes, cardiopatia, doença renal crônica, artrite e doença hepática).

2.4. Coleta de saliva

Foram coletadas amostras de saliva não estimulada (DAWES, 1987). O paciente não poderia comer ou escovar os dentes 60 minutos antes da coleta. Durante o teste o paciente inclinou a cabeça para frente e foi instruído a não falar ou engolir a saliva, depois cuspiu o volume em tubo coletor graduado tipo Falcon de 50mL. Para a coleta de da saliva, os participantes foram instruídos a evitar engolir sua saliva durante 5 minutos e cuspir toda a saliva coletada em um receptor graduado a cada 60 segundos. Após a coleta, as amostras foram congeladas e armazenadas a -40°C até a quantificação dos marcadores.

2.5. Nível salivar de citocinas

As análises dos níveis salivares (em pg/ml) de interleucina (IL)-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17a, IL-22, fator de crescimento transformador (TGF)- α e fator de

necrose tumoral (TNF)- α (em pg/ml) foram processadas em duplicata pela metodologia multiplex nas amostras. A metodologia multiplex é baseada em um teste de imunoensaio que utiliza a citometria de fluxo, na qual anticorpos de captura específicos para cada analito estão ligados a microesferas que são codificadas por cores. Um painel personalizado MILLIPLEX[®] Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Based Panel (HCYTA-60K-08, Merck, Darmstadt, Alemanha), foi utilizado para a quantificação simultânea das oito moléculas. Os ensaios foram conduzidos de acordo com as instruções do fabricante.

2.6. Análise estatística

Os dados foram analisados usando os softwares R versão 4.4.2 (R-CoreTeam, 2022) e o GraphPad Prism versão 10 (GraphPad Software, San Diego, EUA). As estatísticas descritivas foram calculadas usando medidas de frequência absoluta, relativa, média, mediana, amplitude interquartílica (AIQ) e desvio padrão ($\pm$ SD). O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foi usado para comparar as frequências das variáveis categóricas entre os grupos. A normalidade da distribuição da amostra foi avaliada com o teste de Shapiro-Wilk. Após este processamento, o teste Mann-Whitney foi utilizado para comparar nível salivar das citocinas entre os grupos. O coeficiente de correlação de Spearman (ρ) foi estimado para analisar a correlação entre as medidas.

A análise da curva ROC (Receiver Operating Characteristic) foi realizada para avaliar a capacidade das características texturais (escore do componente principal 1) de identificar pacientes com alterações morfológica, e a área sob a curva (AUC), sensibilidade e especificidade foram calculadas. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. Além disso, a regressão da análise de componentes principais (PCA) foi performada para identificar as citocinas relacionadas a acromegalia, considerando a interação entre elas e os fatores sexo, idade e diabetes. O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5% ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS

3.1. Caracterização dos grupos

Um total de 50 adultos foram incluídos no presente estudo (25 com acromegalia e 25 controles). Ambos os grupos foram formados por 15 mulheres (60%) e 10 homens (40%). A média de idade foi de $51,1 \pm 15,8$ anos para os casos e $49,1 \pm 14,1$ anos para os controles ($P = 0,632$). Não houve diferenças estatisticamente significantes para a presença de comorbidades, com exceção da diabetes, que apresentou frequência de 56% no grupo acromegalia e nenhum caso no grupo controle ($P < 0,001$). A média de IMC foi de $28,2 \pm 4,9$ kg/m² para casos e $27,8 \pm 4,8$ para controles ($P = 0,829$). E a média do tempo de diagnóstico da acromegalia foi de $10,1 \pm 7,8$ anos (**TABELA 1**).

TABELA 1. Caracterização geral dos grupos de estudo.

Variáveis	Grupo Acromegalia		Grupo Controle		P
Sexo [n (%)]					1,000
Feminino	15	(60,0)	15	(60,0)	
Masculino	10	(40,0)	10	(40,0)	
Idade [média $\pm$ dp]	51,1	$\pm 15,8$	49,1	$\pm 14,1$	0,632
Comorbidades					
Hipertensão arterial	12	(48,0)	7	(28,0)	0,145
Diabetes tipo 2	14	(56,0)	0	(0)	<0,001*
Doença renal crônica	1	(4,0)	0	(0)	1,000
Tabagismo					0,702
Nunca fumou	20	(80,0)	22	(88,0)	
Ex-fumante	5	(20,0)	3	(12,0)	
IMC [média $\pm$ dp]	28,2	$\pm 4,9$	27,8	$\pm 4,8$	0,829
Tempo de diagnóstico [média $\pm$ dp]	10,1	$\pm 7,8$	—	—	

$\pm$ dp = desvio-padrão. IMC = índice de massa corporal. *Diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$).

3.2. Perfil salivar de citocinas na acromegalia

A **FIGURA 1** apresenta a análise comparativa do nível salivar das citocinas pró- e anti-inflamatórias. O grupo acromegalia apresentou níveis mais altos do que os controles para as citocinas pró-inflamatórias IL-6 ($P < 0,001$), IL-17A ($P = 0,029$), TGF- α ($P < 0,001$) e TNF- α ($P < 0,001$). Também foram detectados níveis mais elevados para as citocinas anti-inflamatórias IL-4 ($P < 0,001$) e IL-10 ($P < 0,001$) no grupo acromegalia. Não houve diferenças significantes entre os grupos para IL-1 β e IL-22 isolados.

As análises das curvas ROC (**FIGURA 2** e **TABELA 2**) indicam que as assinaturas mais forte para a classificação da acromegalia foram observadas para IL-10 (AUC = 0,832; cutoff >1,04 pg/mL; sensibilidade = 96% e especificidade 77,3%), TGF- α (AUC = 0,821; cutoff >16,2 pg/mL; sensibilidade = 76%; especificidade = 77,3%), IL-4 (AUC = 0,793; cutoff = >7,82 pg/mL; sensibilidade = 72%; especificidade = 86,4%), IL-6 (AUC 0,792; cutoff = >4,23; sensibilidade = 92%; especificidade = 54,5%) e TNF- α (AUC = 0,780; cutoff = >74,8 pg/mL; sensibilidade = 64%; especificidade 81,8%).

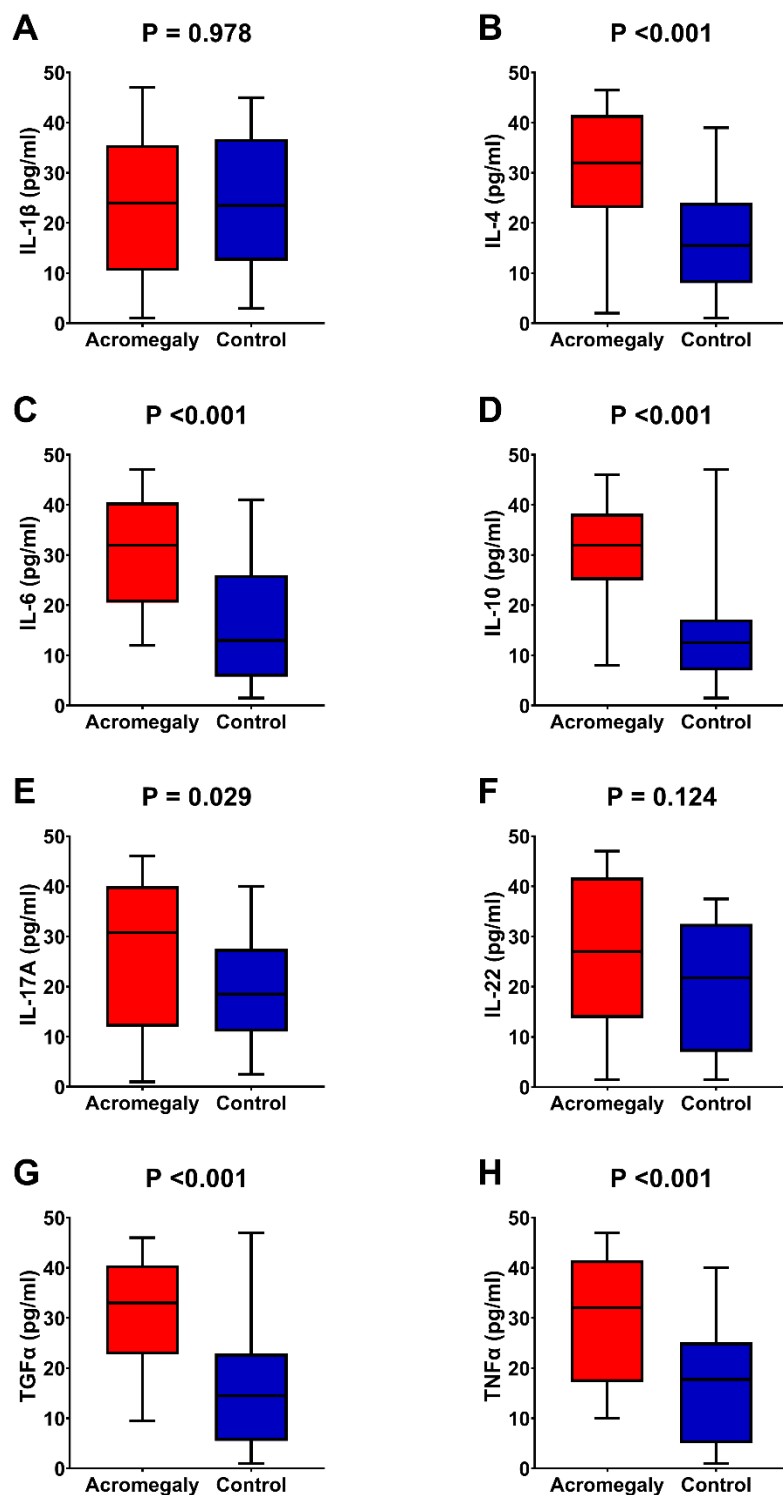


FIGURA 1. A análise comparativa dos níveis salivares de IL-1 β (A), IL-4 (B), IL-6 (C), IL-10 (D), IL-17A (E), IL-22 (F), TGF- α (G) e TNF- α (H). Os Box-plots expressam a amplitude total (whisker) e os 1º, 2º e 3º quartis (box) da síntese descritiva de cada grupo.

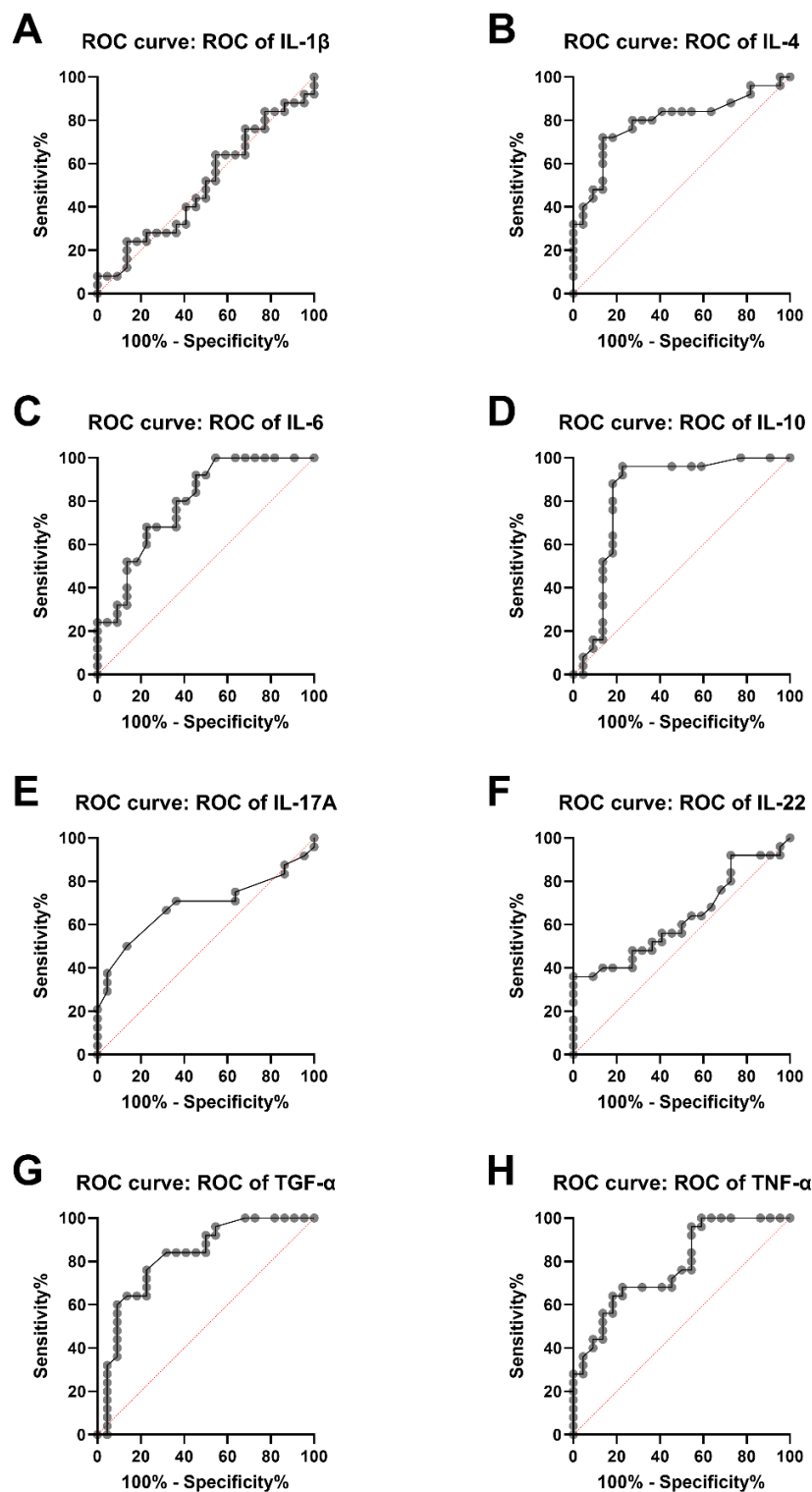


FIGURA 2. Análise de curva ROC (Receiver Operating Characteristic) Para classificação de acromegalia a partir dos níveis salivares de dos níveis salivares de IL-1 β (A), IL-4 (B), IL-6 (C), IL-10 (D), IL-17A (E), IL-22 (F), TGF- α (G) e TNF- α (H).

TABELA 2. Parâmetros da análise de curva ROC para classificação de acromegalia a partir do nível de citocinas salivares.

Citocinas	Cutoff	Sensibilidade	IC95%	Especificidade	IC95%	AUC	IC95%
IL-1 β	<15,6	24,0%	11,5%–43,4%	86,4%	66,7%–95,3%	0,503	0,335–0,670
IL-4	>7,82	72,0%	52,4%–85,7%	86,4%	66,7%–95,3%	0,793	0,660–0,926
IL-6	>4,23	92,0%	75,0%–98,6%	54,5%	34,7%–73,1%	0,792	0,662–0,922
IL-10	>1,04	96,0%	80,5%–99,8%	77,3%	56,6%–89,9%	0,832	0,693–0,970
IL-17A	>0,25	50,0%	31,4%–68,6%	86,4%	66,7%–95,3%	0,686	0,526–0,845
IL-22	>240	36,0%	20,2%–55,5%	100%	85,1%–100%	0,632	0,472–0,792
TGF- α	>16,2	76,0%	56,6%–88,5%	77,3%	56,6%–89,9%	0,821	0,696–0,946
TNF- α	>74,8	64,0%	44,5%–79,8%	81,8%	61,5%–92,7%	0,780	0,649–0,911

AUC = Area under the ROC curve. IC 95% = Intervalo de confiança a 95%.

3.1. Razão entre citocinas pró/anti-inflamatórias

A análise comparativa das razões entre IL-22/IL-4 ($P < 0,001$), IL-1 β /IL-10 ($P = 0,023$) e IL-22/IL-10 ($P = 0,003$) mostraram que adultos com acromegalia apresentam um perfil mais anti-inflamatório que os controles, visto que denominador contribuiu para o valor da mediana. As demais razões não apresentam diferenças significantes entre os grupos. Estes achados significam um possível desequilíbrio da produção destas citocinas, em especial IL-22, IL-4 e IL-10 (**TABELA 3**).

TABELA 3. Análise comparativa das razões (ratio) entre as citocinas pró/anti-inflamatórias entre os grupos acromegalia e controle.

pró/anti	Grupo Acromegalia		Grupo Controle		Tamanho do efeito	P
	med	AIQ	med	AIQ		
IL-1 β /IL-4	9,72	19,1	12,8	34,9	0,287	0,094
IL-6/IL-4	1,69	4,85	1,17	2,18	0,243	0,158
IL-17A/IL-4	0,01	0,15	0,02	0,02	0,068	0,703
IL-22/IL-4	9,64	9,39	30,7	36,5	0,614	<0,001*
TGF- α /IL-4	1,72	4,4	2,19	3,77	0,116	0,505
TNF- α /IL-4	8,49	9,63	9,87	17,3	0,156	0,368
IL-1β/IL-10	22,2	48,1	46,5	152	0,385	0,023*
IL-6/IL-10	5,61	5,51	2,1	6,88	0,298	0,082
IL-17A/IL-10	0,08	0,11	0,11	0,11	0,077	0,660
IL-22/IL-10	37,7	52,2	140	144	0,494	0,003*
TGF- α /IL-10	6,71	6,99	7,78	8,59	0,094	0,587
TNF- α /IL-10	20,6	28,9	41,2	53,1	0,163	0,343

med = mediana. AIQ = amplitude interquartilica. *Diferenças estatisticamente significantes ($P < 0,05$).

3.4. Correlação entre os níveis salivares das citocinas

A **FIGURA 3** e **TABELA 4** apresentam a análise de correlação entre as citocinas em cada grupo. A maior parte dos padrões de correlação foram semelhantes entre os grupos, como podemos observar nas correlações de TNF- α com as demais citocinas. As medidas de correlação direta mais fortes no grupo acromegalia foram entre IL-4 e IL-22 ($Rho = 0,933$, $P < 0,001$) e entre IL-6 e TNF- α ($Rho = 0,826$; P

<0,001). Diferenças no grupo acromegalia foram identificadas para a correlação direta entre IL-1 β e IL-6 (Rho = 0,675; P <0,001), IL-1 β e IL-17A (Rho = 0,528; P = 0,008), IL-1 β e TGF- α (Rho = 0,542; P = 0,005), TGF- α e IL-17A (Rho = 0,463; P = 0,030). A correlação significativa entre IL-4 e IL-10 não foi identificada no grupo acromegalia.

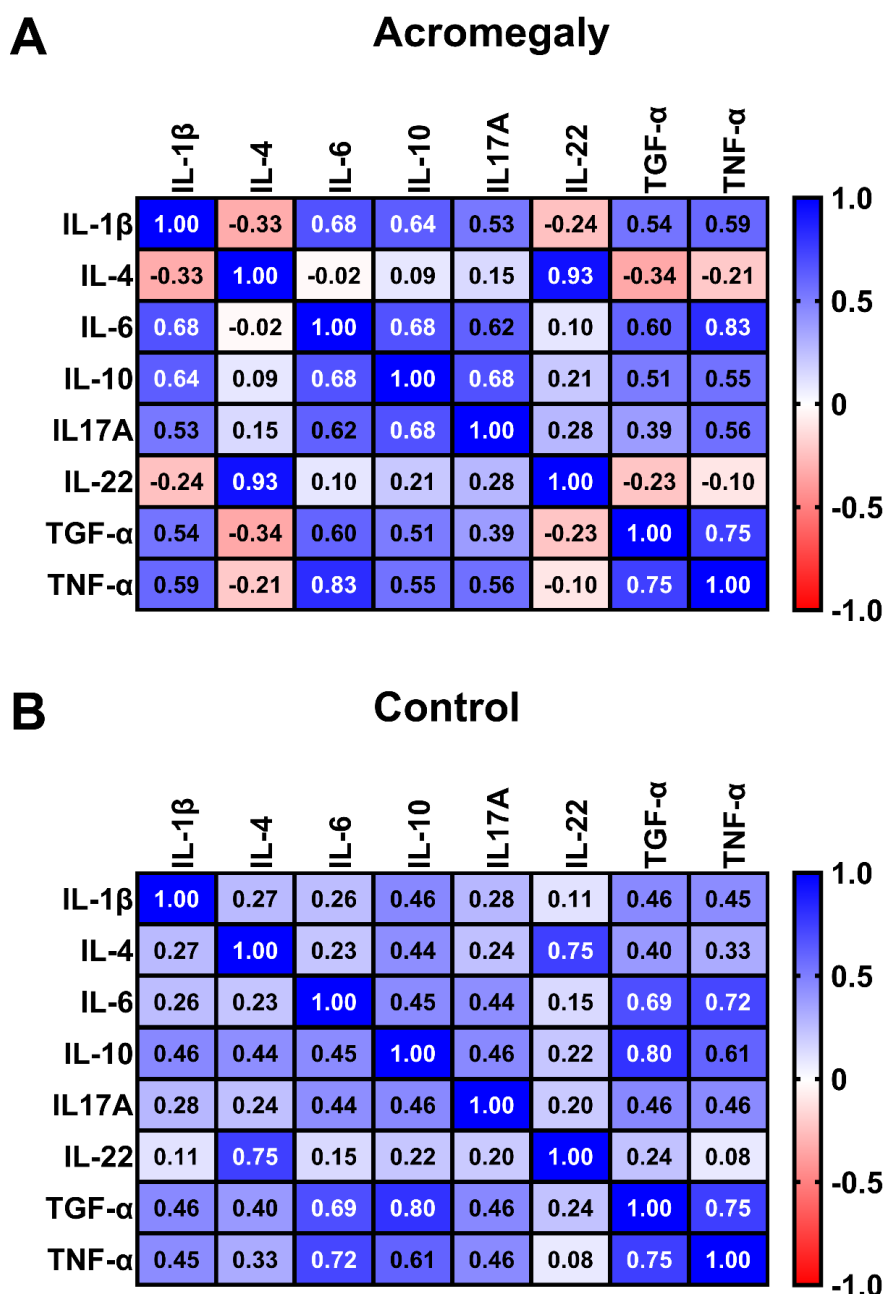


FIGURA 3. Mapa de calor expressando os coeficientes de correlação de Spearman do nível salivar das citocinas nos grupos acromegalia (A) e controle (B).

TABELA 4. Matriz de correlação de Spearman do nível salivar das citocinas nos grupos acromegalia e controle.

	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-10	IL-17A	IL-22	TGF- α
Variáveis	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho
	P	P	P	P	P	P	P
Grupo acromegalia							
IL-4	-0,327	—					
	0,111	—					
IL-6	0,675	-0,024	—				
	<0,001	0,908	—				
IL-10	0,635	0,094	0,676	—			
	<0,001	0,656	<0,001	—			
IL-17A	0,528	0,147	0,617	0,681	—		
	0,008	0,493	0,001	<0,001	—		
IL-22	-0,244	0,933	0,097	0,215	0,282	—	
	0,240	<0,001	0,646	0,302	0,183	—	
TGF- α	0,542	-0,343	0,605	0,513	0,387	-0,228	—
	0,005	0,094	0,001	0,009	0,062	0,274	—
TNF- α	0,588	-0,214	0,826	0,550	0,560	-0,100	0,752
	0,002	0,304	<0,001	0,004	0,004	0,633	<0,001
Grupo Controle							
IL-4	0,269	—					
	0,225	—					
IL-6	0,257	0,225	—				
	0,248	0,314	—				
IL-10	0,463	0,441	0,451	—			

	0,030	0,040	0,035	—			
IL-17	0,279	0,244	0,443	0,462	—		
	0,209	0,273	0,039	0,030	—		
IL-22	0,113	0,750	0,146	0,220	0,205	—	
	0,616	<0,001	0,518	0,325	0,360	—	
TGF- α	0,462	0,397	0,694	0,801	0,463	0,238	—
	0,030	0,067	<0,001	<0,001	0,030	0,286	—
TNF- α	0,449	0,329	0,724	0,608	0,456	0,085	0,754
	0,036	0,135	<0,001	0,003	0,033	0,707	<0,001

Rho = coeficiente de correlação de Spearman. Negrito indica correlações estatisticamente significantes (P <0,05).

3.5. Análise multivariada PCA

Baseado nas interações entre as citocinas e no possível efeito confundidor dos fatores idade, sexo e diabetes, foi executado uma análise multivariada para identificar os fatores que permaneceram relacionados à acromegalia. A análise multivariada indicou que IL-4 (P = 0,009) IL-6 (P = 0,001), IL-17A (P = 0,001), IL-22 (P = 0,005) e TNF- α (P = 0,021) permaneceram associados a acromegalia, mesmo considerando os efeitos dos confundidores.

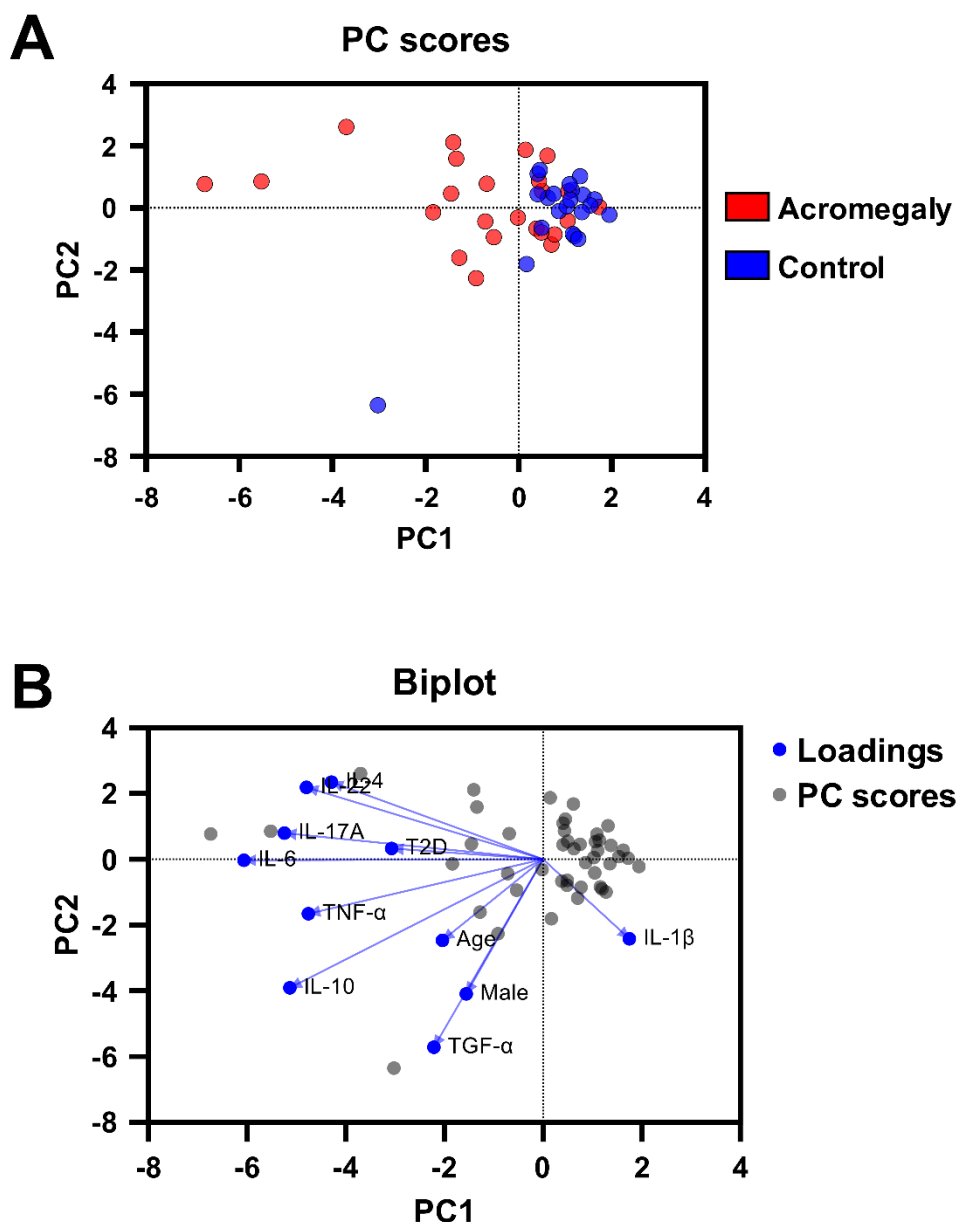


FIGURA 4. Gráfico de distribuição dos escores da análise de componentes principais 1 e 2 (A) e carga das variáveis (B).

TABELA 5. Coeficientes beta para o modelo de regressão dos componentes principais associados a acromegalia.

fatores	beta	SE	t	P value
Intercepto	0.2313	0.1206	1.917	0.061
IL-1 β	0.0000	0.0000	1.289	0.204

IL-4	0.0038	0.0014	2.723	0.009
IL-6	0.0010	0.0003	3.329	0.001
IL-10	0.0029	0.0023	1.278	0.208
IL-17A	0.0049	0.0014	3.527	0.001
IL-22	0.0006	0.0002	2.902	0.005
TGF- α	-0.0001	0.0002	0.328	0.744
TNF-α	0.0004	0.0002	2.391	0.021
Idade	0.0004	0.0008	0.547	0.586
Sexo masculino	-0.0129	0.0376	0.343	0.733
DT2	0.0668	0.0188	3.542	0.001

beta = coeficiente de regressão. SE = erro padrão. DT2 = diabetes tipo 2. Negrito indica fatores com associação significativa com a acromegalia (P <0,05).

4. DISCUSSÃO

Para melhor entendimento, este parece ser o primeiro estudo a investigar o nível salivar de citocinas em adultos com acromegalia. Os principais achados deste estudo sugerem que a acromegalia pode estar associada a alterações nos níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva. Mesmo após o ajuste para variáveis de confusão, observamos que a acromegalia estava relacionada a níveis elevados das citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-17, IL-22 e TNF- α , bem como a um aumento nos níveis da citocina anti-inflamatória IL-4.

Um perfil elevado de citocinas pró-inflamatórias pode ter consequências negativas para a resposta imunológica dos indivíduos, especialmente quando há um desequilíbrio entre as citocinas pró- e anti-inflamatórias, levando a uma inflamação crônica (Frimpong et al., 2020). Na acromegalia, é bem documentado que os pacientes apresentam um quadro de inflamação sistêmica, mais prevalente em pacientes com a doença ativa, mas ainda presente em pacientes tratados (Wolters et al., 2020). Os resultados do presente estudo mostram que, apesar da presença de citocinas anti-inflamatórias elevadas, o padrão das razões pró/anti-inflamatórias indica uma ativação da via anti-inflamatória, sugerindo um mecanismo compensatório para mitigar os efeitos da produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias.

Entre as citocinas elevadas na saliva dos pacientes com acromegalia, destaca-se a interleucina 6 (IL-6), uma citocina pró-inflamatória que, quando em níveis elevados, pode promover uma resposta inflamatória exacerbada. Esse fenômeno é preocupante, pois a inflamação crônica está associada a diversas condições patológicas (Desai et al., 2020). No entanto, a concentração de IL-6 em pacientes com acromegalia ainda é tema de debate. Alguns estudos não encontraram diferenças significativas entre os pacientes com acromegalia e os controles (Arikan et al., 2009; Ueland et al., 2010; Wolters et al., 2019), enquanto outros destacam essa discrepância, sugerindo que as altas concentrações de GH e IGF-1 poderiam suprimir a IL-6 circulante (Andreassen, 2007; Jain et al., 2020).

Outra citocina com níveis elevados na saliva dos pacientes com acromegalia neste estudo foi a interleucina 17 (IL-17). A IL-17 exerce efeitos pró-inflamatórios, especialmente quando associada a outras citocinas, como TNF- α , IL-1 β e IL-22, e desempenha um papel central na resposta imune, conectando as respostas inata e adaptativa (Onishi & Gaffen, 2010). A IL-17 e a IL-22 têm efeitos sinérgicos, embora suas funções possam divergir: enquanto a IL-17 é essencial para a defesa contra infecções, a IL-22 contribui para a homeostase e também pode ter efeitos pró-inflamatórios durante inflamação (Aksakal & Gorgun, 2024). O desequilíbrio entre essas duas citocinas pode contribuir para inflamação crônica em doenças como artrite e psoríase (Eyerich, Di Martino & Cavani, 2017; Kagmi et al., 2010; Zenewicz, 2008). O aumento salivar de IL-17 e IL-22 observado neste estudo, combinado com diferenças significativas nas razões entre IL-10, pode sugerir que a acromegalia contribui para a desregulação da interação entre esses mediadores inflamatórios, o que poderia gerar reações inflamatórias anormais neste grupo.

Em relação ao TNF- α , uma citocina crucial na regulação da resposta inflamatória e em várias doenças autoimunes (Bradley, 2008), a concentração elevada de TNF- α observada na saliva dos pacientes com acromegalia corrobora dados de estudos anteriores que também identificaram níveis elevados dessa citocina em amostras sanguíneas de indivíduos com acromegalia. Isso pode sugerir uma associação entre a acromegalia e o estado inflamatório sistêmico desses pacientes. Esse aumento poderia ser uma resposta compensatória à exposição crônica ao excesso de GH nos hepatócitos (Arikan, 2009). No entanto, Longobardi et al. (1998) relataram níveis sanguíneos normais de TNF- α tanto em pacientes com acromegalia

quanto no grupo controle, o que sugere que a relação entre a acromegalia e TNF- α pode depender do contexto clínico.

A citocina anti-inflamatória IL-4, que desempenha um papel na inibição de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 e TNF- α , também foi encontrada em níveis elevados na saliva dos pacientes com acromegalia. A IL-4 contrabalança a resposta inflamatória, um papel bem documentado em doenças como psoríase (Hahn & Ghoreschi, 2017) e diabetes tipo 1 (Shariff et al., 2011), e pode também estar associada à artrite inflamatória (Iwaszko, Biały, & Bogunia-Kubik, 2021). Esses achados reforçam a hipótese de que a IL-4 pode exercer um efeito regulatório na resposta imune desses pacientes.

O desequilíbrio entre as citocinas pró- e anti-inflamatórias observado neste estudo, evidenciado pelas razões entre elas, sugere um perfil pró-inflamatório na saliva dos pacientes com acromegalia. Tal desregulação pode comprometer a resposta imunológica e pode estar associada a um maior risco de comorbidades, incluindo doenças cardiovasculares, hepáticas e alterações endoteliais, além de contribuir para o aumento da mortalidade (Wolters et al., 2019; Lee et al., 2012; Wolkers et al., 2021).

Considerando o perfil desequilibrado de citocinas observada neste estudo, sugerimos que novos estudos sejam realizados para investigar a relação entre esses achados e o desenvolvimento de quadros inflamatórios e possíveis danos teciduais, tanto em estruturas bucais quanto em órgãos à distância. Esses dados podem fornecer suporte para a viabilidade do uso da saliva como biomarcador para o monitoramento do status inflamatório de pacientes com acromegalia.

Um ponto forte do presente estudo foi a estratégia estatística adotada com o uso de técnicas multivariadas. Esta abordagem permitia avaliar as possíveis interações entre as moléculas inflamatórias, mimetizar melhor o comportamento biológico destes fatores. Entretanto, considerando a inflamação um processo complexo, estudos novos devem incluir novas moléculas, que possam ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na relação da acromegalia e alterações inflamatórias. Uma limitação do presente estudo foi o reduzido tamanho amostral pois a acromegalia é uma doença rara, no entanto, esta limitação foi reduzida para pareamento dos controles por fatores demográficos. Dessa forma, sugerimos estudos

futuros com amostras maiores e adotando desenho de estudos longitudinais para permitir a inferência causal para os fatores investigados.

5. CONCLUSÃO

Os achados deste estudo sugerem que pacientes com acromegalia apresentam um desequilíbrio significativo nos níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva, com destaque para IL-4, IL-6, IL-17A, IL-22 e TNF- α . Esse desequilíbrio inflamatório pode contribuir para uma resposta imunológica deficiente, favorecendo a persistência da inflamação sistêmica e aumentando o risco de comorbidades associadas à acromegalia, incluindo doenças cardiovasculares e hepáticas, além de comprometer a saúde bucal e geral desses indivíduos.

REFERÊNCIAS

- Aksakal S, Gorgun S. The Protective Role of IL-17 and IL-22 in COVID-19 Infection. **Iran J Immunol**. 2024 Jun 26;21(3):225-233. doi: 10.22034/iji.2024.100909.2721. Epub ahead of print. PMID: 38920022.
- Andreassen M, Vestergaard H, Kristensen LØ. Concentrations of the acute phase reactants high-sensitive C-reactive protein and YKL-40 and of interleukin-6 before and after treatment in patients with acromegaly and growth hormone deficiency. **Clin Endocrinol (Oxf)**. 2007 Dec;67(6):909-16. doi: 10.1111/j.1365-2265.2007.02986.x. Epub 2007 Aug 28. PMID: 17727678.
- Arikan S, Bahceci M, Tuzcu A, Gokalp D. Serum tumour necrosis factor-alpha and interleukin-8 levels in acromegalic patients: acromegaly may be associated with moderate inflammation. **Clin Endocrinol**. 2009;70(3):498-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2008.03362.x>.
- Bartekova M, Radosinska J, Jelemensky M, Dhalla NS. Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. **Heart Fail Rev**. 2018 Sep;23(5):733-758. doi: 10.1007/s10741-018-9716-x. PMID: 29862462.
- Boshtam M, Asgary S, Kouhpayeh S, Shariati L, Khanahmad H. Aptamers Against Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines: A Review. **Inflammation**. 2017 Feb;40(1):340-349. doi: 10.1007/s10753-016-0477-1. PMID: 27878687.

- Bradley, J.R. TNF-Mediated inflammatory disease. **J. Pathol.** 2008, 214, 149–160.
- Campelo RC, Benatti BB, de Sousa JAB, Nascimento GC, Azulay RSS, Faria MDS, Magalhães M, Rodrigues VP. Clinical factors associated with salivary flow rate in adults with acromegaly. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.** 2024 Dec;138(6):735-744. doi: 10.1016/j.oooo.2024.08.009. Epub 2024 Aug 16. PMID: 39277444.
- Campelo RC, da Silva MLM, Nascimento GC, Azulay RSS, Rocha VCC, Damiane SSP, Magalhães M, Faria MDS, Rodrigues VP. Orofacial traits related to oral health-related quality of life in Brazilian acromegaly patients. **Oral Dis.** 2024 Apr;30(3):1652-1659. doi: 10.1111/odi.14511. Epub 2023 Feb 19. PMID: 36654191.
- CARON, P. et al. Signs and symptoms of acromegaly at diagnosis: the physician's and the patient's perspectives in the ACRO-POLIS study. **Endocrine**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 120–129, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-018-1764-4>.
- CHOJNOWSKA, S. et al. Human saliva as a diagnostic material. **Advances in Medical Sciences**, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 185–191, 2018.
- Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. **J Periodontol.** 2010 Mar;81(3):384-91. doi: 10.1902/jop.2009.090510. PMID: 20192865.
- DESAI, P. et al. The clinical utility of salivary biomarkers in the identification of type 2 diabetes risk and metabolic syndrome. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, [s. l.], v. 13, p. 3587–3599, 2020.
- Eyerich K, Dimartino V, Cavani A. IL-17 and IL-22 in immunity: Driving protection and pathology. **European journal of immunology.** 2017;47(4):607-14.
- Frimpong A, Amponsah J, Adjokatseh AS, Agyemang D, Bentum-Ennin L, Ofori EA, Kyei-Baafour E, Akyea-Mensah K, Adu B, Mensah GI, Amoah LE, Kusi KA. Asymptomatic Malaria Infection Is Maintained by a Balanced Pro- and Anti-inflammatory Response. **Front Microbiol.** 2020 Nov 17;11:559255. doi: 10.3389/fmicb.2020.559255. Erratum in: *Front Microbiol.* 2021 May 19;12:686435.
- Hahn M., Ghoreschi K. The role of IL-4 in psoriasis. **Expert Rev. Clin. Immunol.** 2017;13:171–173. doi: 10.1080/1744666X.2017.1279054.

HUANG, T. et al. A network analysis of biomarkers for type 2 diabetes. **Diabetes**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 281–290, 2019.

Iwaszko M, Biały S, Bogunia-Kubik K. Significance of Interleukin (IL)-4 and IL-13 in Inflammatory Arthritis. **Cells**. 2021 Nov 3;10(11):3000. doi: 10.3390/cells10113000. PMID: 34831223; PMCID: PMC8616130.

Jain A, Gupta S, Bhansali A, Gupta M, Jain A, Bhaskar N, Kaur RK. Impact of concurrent diabetes on periodontal health in patients with acromegaly. **Sci Rep**. 2020 Nov 5;10(1):19170. doi: 10.1038/s41598-020-76067-5. PMID: 33154456; PMCID: PMC7645583.

Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. **The Journal of investigative dermatology**. 2010;130(5):1373-83.

Koezuka Y., Delovitch T.L., Gombert J.-M. Activation of natural killer T cells by α -galactosylceramide treatment prevents the onset and recurrence of autoimmune type 1 diabetes. **Nat. Med.** 2001;7:1057–1062.

Longobardi S, Di Somma C, Di Rella F, Angelillo N, Ferone D, Colao A, et al. Bone mineral density and circulating cytokines in patients with acromegaly. **J Endocrinol Investig**. 1998;21(10):688–93.

MANETTI, L. et al. Submandibular salivary gland volume is increased in patients with acromegaly. **Clinical Endocrinology**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 97–100, 2002.

MONEA, A. et al. Saliva and Serum Levels of Tnf-A and Il- 6 in a Sample of Romanian Adult Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease. **European Scientific Journal, ESJ**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 350–359, 2014. Disponível em: <<http://eujournal.org/index.php/esj/article/view/3067>>

NUNES, L.; MUSSAVIRA, S.; BINDHU, O. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. **Biochemia Medica**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 177–92, 2015. Disponível em: <http://jebch.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jebch.2003.018085>

Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. **Immunology** 2010;129(3):311–21.

Sharif S., Arreaza G.A., Zucker P., Mi Q.-S., Sondhi J., Naidenko O.V., Kronenberg M., Chen Z., Bozec A., Ramming A., Schett G. Anti-inflammatory and immune-

regulatory cytokines in rheumatoid arthritis. **Nat. Rev. Rheumatol.** 2019;15:9–17. doi: 10.1038/s41584-018-0109-2.

Slagboom TNA, van Bunderen CC, De Vries R, Bisschop PH, Drent ML. Prevalence of clinical signs, symptoms and comorbidities at diagnosis of acromegaly: a systematic review in accordance with PRISMA guidelines. **Pituitary.** 2023 Aug;26(4):319-332. doi: 10.1007/s11102-023-01322-7. Epub 2023 May 20. PMID: 37210433; PMCID: PMC10397145.

Tvarijonaviciute A, Martinez-Lozano N, Rios R, Marcilla de Teruel MC, Garaulet M, Cerón JJ. Saliva as a non-invasive tool for assessment of metabolic and inflammatory biomarkers in children. **Clin Nutr.** 2020 Aug;39(8):2471-2478. doi: 10.1016/j.clnu.2019.10.034. Epub 2019 Nov 7. PMID: 31787367.

Ueland T, Fougner SL, Godang K, Lekva T, Schurgers LJ, Scholz H, et al. Associations between body composition, circulating interleukin-1 receptor antagonist, osteocalcin, and insulin metabolism in active acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab.** 2010;95(1):361–8. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0422>.

VILAR, L. et al. Acromegaly: clinical features at diagnosis. *Pituitary*, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 22–32, 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11102-016-0772-8>

Wolters TLC, Netea MG, Riksen NP, Hermus ARMM, Netea-Maier RT. Acromegaly, inflammation and cardiovascular disease: a review. **Rev Endocr Metab Disord.** 2020 Dec;21(4):547-568. doi: 10.1007/s11154-020-09560-x. PMID: 32458292; PMCID: PMC7560935.

Wolters TLC, van der Heijden C, van Leeuwen N, Hijmans-Kersten BTP, Netea MG, Smit JW, et al. Persistent inflammation and endothelial dysfunction in patients with treated acromegaly. **Endocrine connections.** 2019. <https://doi.org/10.1530/EC-19-0430>.

Wolters TLC, van der Heijden CDCC, Pinzariu O, Hijmans-Kersten BTP, Jacobs C, Kaffa C, Hoischen A, Netea MG, Smit JWA, Thijssen DHJ, Georgescu CE, Riksen NP, Netea-Maier RT. The association between treatment and systemic inflammation in acromegaly. **Growth Horm IGF Res.** 2021 Apr-Jun;57-58:101391. doi: 10.1016/j.ghir.2021.101391. Epub 2021 Apr 30. PMID: 33964727.

ZHANG, C. Z. et al. Saliva in the diagnosis of diseases. **International Journal of Oral Science**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 133–137, 2016. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1038/ijos.2016.38>>

Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Stevens S, Flavell RA. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease. **Immunity**. 2008;29(6):947-57.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em nosso estudo em pacientes com acromegalia foi possível identificar um aumento no fluxo salivar desses indivíduos, especialmente no fluxo salivar não estimulado, o que pode estar associado ao aumento do volume de glândulas salivares. Além disso, foi observado um desequilíbrio nos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias nesses pacientes, com destaque para IL-4, IL-6, IL-17A, IL-22 e TNF- α , o que pode comprometer a resposta imunológica e favorecer a persistência de um estado inflamatório sistêmico. Para aprofundar o entendimento sobre as possíveis relações causais dos fatores investigados, faz-se necessário desenvolver mais estudos, para que tais informações possam servir de estratégia para um monitoramento clínico mais eficaz desses pacientes.

REFERÊNCIAS

- BARTEKOVA, M. et al. **Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease.** Heart Failure Reviews, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 733–758, 2018.
- BARTZ, S. et al. Severe acute malnutrition in childhood: **Hormonal and metabolic status at presentation, response to treatment, and predictors of mortality.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 2128–2137, 2014.
- Boshtam M, Asgary S, Kouhpayeh S, Shariati L, Khanahmad H. **Aptamers Against Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines: A Review.** Inflammation. 2017 Feb;40(1):340-349. doi: 10.1007/s10753-016-0477-1. PMID: 27878687.
- Burton T, Le Nestour E, Neary M, Ludlam WH. **Incidence and prevalence of acromegaly in a large US health plan database.** Pituitary. 2016 Jun;19(3):262-7. doi: 10.1007/s11102-015-0701-2. PMID: 26792654; PMCID: PMC4858553.
- Campelo RC, da Silva MLM, Nascimento GC, Azulay RSS, Rocha VCC, Damianse SSP, Magalhães M, Faria MDS, Rodrigues VP. **Orofacial traits related to oral health-related quality of life in Brazilian acromegaly patients.** Oral Dis. 2024 Apr;30(3):1652-1659. doi: 10.1111/odi.14511. Epub 2023 Feb 19. PMID: 36654191.
- CARON, et al. **Signs and symptoms of acromegaly at diagnosis: the physician's and the patient's perspectives in the ACRO-POLIS study.** Endocrine [Internet]. Springer US; 2019;63:120–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-018-1764-4>
- CECCATO, F.; BOSCARO, M. Cushing's syndrome: screening and diagnosis. **High Blood Pressure and Cardiovascular Prevention**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 209–215, 2016.
- CHISHIMA, S. et al. **The relationship between the growth hormone/insulin-like growth factor system and the histological features of nonalcoholic fatty liver disease.** Internal Medicine, [s. l.], v. 56, n. 5, p. 473–480, 2017.
- CHOJNOWSKA, S. et al. **Human saliva as a diagnostic material.** Advances in Medical Sciences, [s. l.], v. 63, n. 1, p. 185–191, 2018.
- Coopmans EC, Andela CD, Claessen KMJA, Biermasz NR. **Evaluating the Impact of Acromegaly on Quality of Life.** Endocrinol Metab Clin North Am. 2022 Dec;51(4):709-725. doi: 10.1016/j.ecl.2022.04.004. Epub 2022 Sep 22. PMID: 36244688.
- COSTA, P. P. et al. **Salivary Interleukin-6, Matrix Metalloproteinase-8, and Osteoprotegerin in Patients With Periodontitis and Diabetes.** Journal of Periodontology, [s. l.], v. 81, n. 3, p. 384–391, 2010. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2009.090510>
- Eskandari V, Amirzargar AA, Mahmoudi MJ, Rahnemoon Z, Rahmani F, Sadati S, Rahmati Z, Gorzin F, Hedayat M, Rezaei N. **Gene expression and levels of IL-6 and TNF α in PBMCs correlate with severity and functional class in patients with chronic heart failure.** Ir J Med Sci. 2018 May;187(2):359-368. doi: 10.1007/s11845-017-1680-2. Epub 2017 Sep 9. PMID: 28889349.
- FANG, L. et al. **Systemic inflammation is associated with myocardial fibrosis,**

diastolic dysfunction, and cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. American Journal of Translational Research, [s. l.], v. 9, n. 11, p. 5063–5073, 2017.

FELDMAN, A.; COMBES, A.; WAGNER, D.; KADAKOMI, T.; KUBOTA, T.; LI, Y.; MCTIERNAN, C. **The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure.** Journal of the American College of Cardiology, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 189–197, 2000.

HALIMI, D. et al. **Measurement of salivary insulin-like growth factor-I in acromegaly: comparison with serum insulin-like growth factor-I and growth hormone concentrations.** European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, [s. l.], v. 32, n. 9, p. 705–707, 1994.

HANNON, A.; THOMPSON, C.; SHERLOCK, M. **Diabetes in patients with acromegaly.** Current Diabetes Reports, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 1–8, 2017.

HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. **A review of saliva: Normal composition, flow, and function.** The Journal of Prosthetic Dentistry, [s. l.], v. 85, n. 2, p. 162–169, 2001.

Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022391301540329>>

ILYIN, S. E.; BELKOWSKI, S. M.; PLATA-SALAMÁN, C. R. **Biomarker discovery and validation: Technologies and integrative approaches.** Trends in Biotechnology, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 411–416, 2004.

Inoue, Hiroko & Ono, Kentaro & Masuda, Wataru & Inagaki, Tomohiro & Yokota, Makoto & Inenaga, Kiyotoshi. **Rheological Properties of Human Saliva and Salivary Mucins.** Journal of Oral Biosciences. 50. 134-141. 10.2330/joralbiosci.50.134.

KAMENICKÝ, P. et al. **Growth hormone, insulin-like growth factor-1, and the kidney: Pathophysiological and clinical implications.** Endocrine Reviews, [s. l.], v. 35, n. 2, p. 234–281, 2014.

MAFFEZZONI, F. et al. **Biomarkers of Acromegaly and Growth Hormone Action.** Protein & Peptide Letters, [s. l.], v. 27, n. 12, p. 1231–1245, 2020.

MANETTI, L. et al. **Submandibular salivary gland volume is increased in patients with acromegaly.** Clinical Endocrinology, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 97–100, 2002.

MONEA, A. et al. **Saliva and Serum Levels of Tnf- α and IL-6 in a Sample of Romanian Adult Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus and Periodontal Disease.** European Scientific Journal, ESJ, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 350–359, 2014. Disponível em: <http://ejournal.org/index.php/esj/article/view/3067>

MOROHOSHI, M. et al. **Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro.** Diabetes, [s. l.], v. 45, n. 3 SUPPL., p. 954–959, 1996.

NUNES, L.; MUSSAVIRA, S.; BINDHU, O. **Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review.** Biochemia Medica, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 177–92, 2015. Disponível em: <http://jebch.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jebch.2003.018085>

QUINKLER, M. et al. Accepted Preprint first posted on 29 November 2017 as Manuscript EJE-17-0788. [s. l.], n. November, p. 1–19, 2017.

ROELFSEMA, F.; VELDHUIS, J. **Growth hormone dynamics in healthy adults are related to age and sex and strongly dependent on body mass index.**

Neuroendocrinology, [s. l.], v. 103, n. 3–4, p. 335–344, 2016.

SCHILBACH, K.; STRASBURGER, C. J.; BIDLINGMAIER, M. **Biochemical investigations in diagnosis and follow up of acromegaly**. Pituitary, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 33–45, 2017.

SILBERRING, J.; CIBOROWSKI, P. **Biomarker discovery and clinical proteomics**. Trends in Analytical Chemistry, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 128–140, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2009.11.007>>

STANLEY, T. L. et al. **Discordance of IGF-1 and GH stimulation testing for altered GH secretion in obesity**. Growth Hormone and IGF Research, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 10–15, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ghir.2013.11.001>>

STOKES, JR; DAVIES, G.A. **Viscoelasticity of human whole saliva collected after acid and mechanical stimulation**. Biorheology, 2007; 44: 141-160 [PMID: 17851164]

VILAR, L. et al. **Acromegaly: clinical features at diagnosis**. Pituitary, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 22–32, 2016. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11102-016-0772-8>

WANG, B. et al. **Evaluation of parotid salivary glucose level for clinical diagnosis and monitoring type 2 diabetes mellitus patients**. BioMed Research International, [s. l.], p. 1–5, 2017.

WOJDASIEWICZ, P.; PONIATOWSKI, Ł. A.; SZUKIEWICZ, D. **The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis**. Mediators of Inflammation, [s. l.], v. 2014, 2014.

XU, H. et al. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance**. Journal of Clinical Investigation, [s. l.], v. 112, n. 12, p. 1821–1830, 2003.

YAJAMANAM, N. et al. **Utility of saliva as a sample to assess renal function and estimated glomerular filtration rate**. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 312, 2016.

ZHANG, C. Z. et al. **Saliva in the diagnosis of diseases**. International Journal of Oral Science, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 133–137, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ijos.2016.38>>

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Prezado Senhor(a), você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a) da pesquisa sobre:

“AVALIAÇÃO DE MARCADORES SALIVARES, CONDIÇÃO PERIODONTAL, MORFOLOGIA FACIAL E QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE BUCAL EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM ACROMEGALIA”

Caso você concorde em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador(a) ou penalização e sem prejuízo ao seu cuidado.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador(a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação antes e durante a pesquisa.

Justificativa da pesquisa: Pacientes diagnosticados com acromegalia podem ter várias doenças associadas e precisam realizar acompanhamento constante. Portanto, é importante pesquisar outras formas de diagnóstico e acompanhamento para reduzir os custos do tratamento, reduzir as chances de doenças associadas e melhorar a qualidade de vida dos acromegálicos.

Objetivo da pesquisa: Avaliar se há relação entre as alterações das substâncias do sangue e substâncias da saliva.

Procedimentos: O Sr. (Sra.) fornecerá informações através de uma entrevista a respeito da sua situação social e econômica, será atendido por um cirurgião-dentista para coletar amostra de sua saliva, e serão coletados alguns dados de seu prontuário (dados de exames realizados durante o seu tratamento na endocrinologia).

Seleção da amostra: Para a realização desse trabalho serão avaliados os pacientes do grupo caso (pacientes com acromegalia) que são acompanhados no Centro de Pesquisa Clínica – CEPEC do HUPD-UFMA e o grupo controle (pacientes saudáveis) que são acompanhados nas Disciplinas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão.

Desconfortos, riscos possíveis: Não há riscos ao paciente relacionado aos procedimentos desse estudo.

Benefícios: Os pacientes receberão informações sobre acromegalia, instrução de higiene bucal e encaminhados, quando necessário, para tratamento nas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão. A partir da identificação de alterações relacionadas com a acromegalia através da saliva será possível realizar o diagnóstico e acompanhamento dessa doença de forma segura, mais barata, menos invasiva e de fácil coleta. E, ainda, contribuir para a redução da morbidade e mortalidade e melhora da qualidade de vida desses indivíduos.

Plano de divulgação dos resultados e garantia do sigilo: Conhecendo as normas que regulamentam os aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 196/96-CNS) e em respeito aos voluntários desta pesquisa, todo e qualquer resultado, favorável ou não, só será tornado público após a aceitação do voluntário. Caso isto ocorra, os resultados serão utilizados na elaboração de trabalhos científicos, jornadas e congressos e publicações em revistas e periódicos odontológicos, sendo garantido o sigilo que assegura a privacidade do paciente, quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

▪ **São Luís** _____ **de** _____ **2020**

Ciente _____ e _____ de
acordo: _____

Renata Carvalho Campelo

Vandilson

Pinheiro

Rodrigues

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues

Endereço: Departamento de Odontologia II – Campus do Bacanga - São Luís -MA

Telefone: (98) 2109-8575

Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Universitário UFMA (HUUFMA)

Rua Barão de Itapary, 227 – Centro Telefone: 21091250

APÊNDICE B – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

FICHA DE COLETA DE DADOS

1. Perfil Sócio Econômico

Data da coleta: _____		Nº da ficha: _____	
Nome: _____		Prontuário: _____	
Data de nascimento: ____/____/____ Idade: ____		Gênero: [] Masculino [] Feminino	
Estado civil: [] Solteiro [] União consensual (Mora junto) [] Casado [] Divorciado, separado [] Viúvo [] não sabe		Cidade que reside: [] São Luís [] Interior do MA [] Fora do MA	
		Filhos: [] Não [] Sim. Quantidade: ____	
Escolaridade: [] Não sabe ler/ não sabe escrever [] Alfabetizado [] Ensino Fundamental incompleto [] Ensino Fundamental (1º grau) [] Ensino Médio incompleto [] Ensino Médio (2º grau) [] Ensino Superior [] não sabe		Quantos membros da sua família moram com você? ____	
		Qual a sua relação de trabalho? [] Não trabalha/ desempregado [] Aposentado/ Pensão/ Auxílio (Governo) [] Trabalha por conta própria [] Assalariado ou empregado [] Faz bico [] Não sabe	
Qual a cor da sua pele? [] branca [] negra/preta [] parda/mulata/cabocla/morena [] indígena [] amarela/ oriental [] não sabe		Você ou alguém da sua família é beneficiário de algum programa social? [] Não [] Sim	
		Renda mensal individual: R\$ _____	
		Renda mensal familiar: R\$ _____	

2. Dados de Saúde

Comorbidades: Hipertensão arterial [] Sim [] Não Diabetes mellitus [] Sim [] Não Lupus [] Sim [] Não Artrite reumatoide [] Sim [] Não AVC [] Sim [] Não Hipocortisolismo [] Sim [] Não Hipogonadismo [] Sim [] Não Hipotireoidismo [] Sim [] Não HIV [] Sim [] Não Outros _____		Coronariopatia (stent / revascular./ICC):	
		Dç Renal Crônica (Estágio/3A/Dialítico):	
		Dç Hepática (Esteatose/Wash/Cirrose):	
		Diagnóstico da acromegalia: Mês _____ / Ano _____	
		Início do tratamento medicamentoso: Mês _____ / Ano _____	
		Altura (em metros):	
Morfologia tiroide [] Normal [] Alterado			
Tumor hipofisário [] Não [] Sim		Peso (em kg):	
Circunferência cervical (cm):		Tabagismo: [] Não [] Atual [] Ex	
Circunferência abdominal (cm):		Consumo de álcool: [] Não [] Atual [] Ex	

Biomarcadores séricos (POUCOS DADOS)			
Glicemia:	Data	HbA1C:	Data
Cortisol:	Data	TSH	Data
GH:	Data	T4 Livre	Data
IGF-1:	Data	Homens:	Data
Insulina:	Data	Testosterona:	Data
Leptina:	Data		Data
HOMA-IR:	Data:		Data:
PCR:	Data		Data

3. Dados salivares

Data da coleta:		Código do tubo:	
Volume Salivar			
Volume saliva estimulada (ml):		Tempo (min.):	
Volume saliva não estimulada (ml):		Tempo (min.):	
Análise ultrassom das glândulas salivares			
Parótida (Volume):		Achados Parótida:	
Calcificações Parótica: [] Sim [] Não			
Submandibular (Volume):		Achados Submandibular:	
Calcificações Submand: [] Sim [] Não			
Sublingual (Volume):		Achados Sublingual:	
Calcificações Sublingual: [] Sim [] Não			
Código Tubo Falcon: _____			
Biomarcadores salivares:			
Cálcio:	Sódio:	Albumina:	
Fósforo:	Insulina:	GH:	
Potássio:	PCR:	IGF-1:	
Ferro:	Glicemia:	Cortisol:	

4. Medidas faciais:

Data da coleta:			
Largura da face (Bi-Zi)		Altura facial (N-Gn)	

Largura da mandíbula (Go-Go)		Altura da face superior (Tr-G)	
Largura do nariz		Altura da face inferior (Sn-Gn)	
Espessura dos lábios		Índice facial	

5. Exame morfológico intraoral:

Data da coleta:	
Macroglossia [] Sim [] Não	Mordida aberta anterior [] Sim [] Não
Relação molar (Angle) [] Classe I [] Classe II [] Classe III	Mordida cruzada anterior [] Sim [] Não
	Mordida cruzada posterior [] Sim [] Não
	Diastema [] Sim [] Não
	Apinhamento [] Sim [] Não
Protrusão facial Maxilar: [] Sim [] Não Mandibular: [] Sim [] Não	Linha média coincidente [] Sim [] Não
	Assimetria facial [] Sim [] Não
	Face [] Braqui [] Meso [] Dólico

6. Odontograma

Data _____

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

7. Análise Periodontal

Data _____

Índice de Placa Visível

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Índice de Sangramento gengival

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

Periograma

	Profundidade de sondagem						Recessão gengival							Profundidade de sondagem						Recessão gengival					
	DL	L	ML	DV	V	MV	DL	L	ML	DV	V	MV		DL	L	ML	DV	V	MV	DL	L	ML	DV	V	MV
18													38												
17													37												
16													36												
15													35												
14													34												
13													33												
12													32												
11													31												
21													41												
22													42												
23													43												
24													44												
24													45												
26													46												
27													47												
28													48												

8. Questionário STOP-BANG

Item	SIM	NÃO
Você ronca alto (alto o suficiente que pode ser ouvido através de portas fechadas ou seu companheiro cutuca você à noite para parar de roncar)?		

Você frequentemente se sente cansado, exausto ou sonolento durante o dia (como, por exemplo, adormecer enquanto dirige)?		
Alguém observou que você para de respirar ou engasga/fica ofegante durante o seu sono?		
Você tem ou está sendo tratado para pressão sanguínea alta?		
Índice de massa corporal maior que 35 kg/m ² ? IMC =		
Idade acima de 50 anos?		
O pescoço é grosso? (Medida em volta do pomo de Adão) <i>Para homens, o colarinho da sua camisa é de 43 cm ou mais? Para mulheres, o colarinho da sua camisa é de 41 cm ou mais?</i>		
Sexo = Masculino?		
Pontuação:		

9. Questionário OHIP

Através das perguntas desse questionário buscamos saber a influência da Acromegalia na saúde bucal. Gostaríamos de saber com que frequência você observou cada um dos problemas listados nos últimos 30 dias.

Item	Nunca	Raramente	Às vezes	Frequentemente	Sempre
1. Você teve problemas para falar alguma palavra?					
2. Você sentiu que o sabor dos alimentos mudou?					
3. Você sentiu dores na sua boca ou dentes?					
4. Você se sentiu incomodado ao comer?					
5. Você ficou preocupado?					
6. Você se sentiu estressado?					
7. Sua alimentação ficou prejudicada?					
8. Você teve que parar suas refeições?					
9. Você encontrou dificuldade para relaxar?					

10. Você se sentiu envergonhada?					
11. Você ficou irritada com outras pessoas?					
12. Você teve dificuldade para realizar suas atividades diárias?					
13. Você sentiu que a vida em geral ficou pior?					
14. Você ficou totalmente incapaz de fazer suas atividades?					

APÊNDICE C – PRODUÇÕES ASSOCIADAS

• Artigos

Received: 4 November 2022 | Revised: 7 January 2023 | Accepted: 15 January 2023
DOI: 10.1111/odi.14511

ORIGINAL ARTICLE

ORAL DISEASES WILEY

Orofacial traits related to oral health-related quality of life in Brazilian acromegaly patients

Renata C. Campelo¹ | Maria L. M. da Silva¹ | Gilvan C. Nascimento^{2,3} |
Rossana S. S. Azulay^{2,3} | Viviane C. C. Rocha^{2,3} | Sabrina S. P. Damiane^{2,3} |
Marcelo Magalhães³ | Manuel dos S. Faria^{2,3} | Vandilson P. Rodrigues^{1,3}

¹School of Dentistry, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

²Service of Endocrinology, Presidente Dutra University Hospital, São Luís, Brazil

³Research Group in Clinical and Molecular Endocrinology and Metabolism (ENDOCIM), São Luís, Brazil

Correspondence

Vandilson Rodrigues, School of Dentistry, Avenida dos Portugueses, 1966, Federal University of Maranhão, São Luís 65080-805, Brazil.
Email: vandilson.rodrigues@ufma.br

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão

Abstract

Objective: To investigate orofacial traits and general factors related to oral health-related quality of life in acromegaly patients.

Materials and Methods: A cross-sectional study with 34 acromegaly patients was conducted. The OHIP-14 questionnaire was used to assess oral health-related quality of life scores. To assess orofacial and occlusion morphology, an oral evaluation was performed. Correlation measures, multiple linear regression and a structural equation model (SEM) were used in the statistical analysis.

Results: The presence of arthrosis (SC = 0.467, SE = 0.155, $p = 0.003$) and smoking history (SC = 0.459, SE = 0.206, $p = 0.026$) were associated with a negative impact on oral health-related quality of life. Mandibular protrusion was related to physical pain ($\beta = 2.74$, $p = 0.029$). Anterior open bite ($\beta = 4.44$, $p = 0.004$) and anterior crossbite ($\beta = 2.61$, $p = 0.026$) were related to psychological disability. Diastema was related to social disability ($\beta = 3.42$, $p = 0.037$) and handicap ($\beta = 2.74$, $p = 0.044$).

Conclusion: The findings suggest that smoking, arthrosis and orofacial alterations (mandibular protrusion, open bite, crossbite and diastema) have a negative impact on oral health-related quality of life in acromegaly patients.

KEYWORDS

acromegaly, malocclusion, prognathism, quality of life

1 | INTRODUCTION

Acromegaly is a rare chronic endocrine disorder characterised by increased growth hormone (GH) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) production (Melmed et al., 2018). Epidemiological data show that it is more common in people between the ages of 30 and 50 years, with no sexual predilection, and that it is caused by a GH-secreting pituitary adenoma in 95% of cases. Furthermore, hereditary syndromes such as Type 1 multiple endocrine neoplasia and Carney complex can give rise to acromegaly (Colao et al., 2019).

The presence of elevated GH causes clinical changes that are either direct or indirect, such as subtle signs of extremity growth, joint

changes, headache, visual changes, tumour hyperprolactinemia, apnoea, diabetic ketoacidosis, respiratory complications, severe hypertension, heart failure, arthropathies and other acromegaly-related manifestations (Caron et al., 2019; Rolla et al., 2021). Despite being a disease with a high morbidity and mortality rate, severe systemic complications and negative effects on quality of life, the diagnosis of acromegaly is usually delayed due to the time lag between the onset of symptoms and the final diagnosis (Esposito et al., 2020).

Significant dental changes, such as craniofacial changes, prognathism, mandibular growth, macroglossia, everted lips, malocclusions, diastema, tooth loss, increased lip thickness, change in height and width nose proportions and others, can

Clinical factors associated with salivary flow rate in adults with acromegaly



Renata C. Campelo, DDS, MSc,^a Bruno B. Benatti, DDS, PhD,^a Joana A.B. de Sousa, DDS, MSc,^a Gilvan C. Nascimento, MD, PhD,^{b,c} Rossana S.S. Azuly, MD, PhD,^{b,c} Manuel dos S. Faria, MD, PhD,^b Marcelo Magalhães, PhD,^b and Vandilson P. Rodrigues, DDS, PhD^{a,b}

Objective. To investigate the stimulated salivary flow (SSF) and unstimulated salivary flow (USF) in adults with acromegaly and to identify possible clinical factors associated with salivary flow.

Study design. A case-control study was conducted with a group composed of adults diagnosed with acromegaly ($n = 29$, mean age = 50.2 years) and a control group ($n = 29$, mean age = 54.3 years). Variables for socio-demographic characterization, lifestyle habits, and diabetes diagnosis, body mass index (BMI), cervical circumference (CC) and abdominal circumference (AC) were collected. USF and SSF variables were analyzed as outcomes. Unpaired t-test, Pearson's correlation, and multivariate regression models were used for statistical analysis.

Results. Both groups were 44.8% male and 55.2% female. Diabetes was present in 55.2% of the acromegaly group and in 51.7% of the controls ($P = .792$). The acromegaly group had a higher USF than the control group (0.50 mL/min versus 0.22 mL/min). SSF showed a direct correlation with CC ($r = 0.470$, $P = .010$). Acromegaly was associated with higher USF (standardized coefficient = 0.780, $P = .039$), and age was inversely related to USF (standardized coefficient = -0.333, $P = .013$).

Conclusions. The findings suggest that adults with acromegaly have an increased USF and that being older is associated with a decrease in USF. (Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2024;138:735–744)

The presence of a pituitary adenoma can cause excess production of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor type 1 (IGF-1), leading to acromegaly.^{1,2} Acromegaly is a disease that significantly impacts the quality of life of individuals due to various comorbidities that increase morbidity and mortality.^{3–5}

Acromegaly can cause respiratory complications, severe hypertension, heart failure, arthropathies, and visceral hypertrophy, as well as tissue proliferation and body hypertrophy, including changes in the hard and soft tissues of the orofacial region.^{6–9} Pieces of evidence have suggested that there is a relationship between acromegaly and an increase in gland size in various parts of the body. Studies have shown an increase in the size of the prostate, kidneys, liver, heart, thyroid,¹⁰ and lacrimal gland.¹¹ Furthermore, patients with acromegaly also may experience an increase in the volume of their submandibular glands.¹²

Few studies have investigated the relationship between acromegaly and changes in salivary flow, despite the possible effects on the size of salivary glands. Research in this area is crucial as alterations in saliva volume and composition may interfere with its functions, such as lubricating and protecting the oral mucosa, digestion, physicochemical defence, wound repair, microbial activity, and maintaining oral health.¹³ Saliva has also been used for early disease diagnosis as it reflects an individual's oral and systemic conditions.¹⁴ Salivary analysis could provide a valuable resource for diagnosing and monitoring diseases, including acromegaly, which is often diagnosed late.

It is plausible to infer that patients with acromegaly may experience changes in saliva quantity due to increased secretion of GH and IGF-1, which may also affect the morphology of the salivary glands. Therefore, this study aimed to investigate the level of stimulated salivary flow (SSF) and unstimulated salivary flow (USF) in adults with acromegaly and to identify possible clinical factors associated with salivary flow in this population.

^aSchool of Dentistry, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil.

^bResearch Group in Clinical and Molecular Endocrinology and Metabolism, University Hospital of the Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil.

^cDepartment of Medicine, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil.

Corresponding author: Vandilson Rodrigues. E-mail address: vandilson.rodrigues@ufma.br

Received for publication Apr 19, 2024; returned for revision Jul 29, 2024; accepted for publication Aug 11, 2024.

© 2024 Elsevier Inc. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

2212-4403/\$-see front matter

<https://doi.org/10.1016/j.oooo.2024.08.009>

Statement of Clinical Relevance

Acromegaly is a condition characterized by the induction of body hypertrophy, including changes in the size of the salivary glands. These changes can affect the composition and rate of salivary flow and contribute to changes in oral and systemic health.

- E-BOOK: Orientação de saúde bucal para pacientes com acromegalia
-

Capa
Maria Luiza Menezes da Silva

Projeto Gráfico
Maria Luiza Menezes da Silva

Revisão
Vandilson Pinheiro Rodrigues

Fotos
Banco de Imagens do Canva

Autores

Maria Luiza Menezes da Silva
Marcio Vinícius Campos Borges
Raysa Theresa Pinheiro Santos
Renata Carvalho Campelo
Vandilson Pinheiro Rodrigues

Gilvan Cortês Nascimento
Rossana Santiago de Sousa Azulay
Sabrina da Silva Pereira Damiane
Viviane Chaves de Carvalho Rocha
Manuel dos Santos Faria

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Orientação de saúde bucal para pacientes com acromegalia [recurso eletrônico] / Vandilson Pinheiro Rodrigues, organizador; autores, Gilvan Cortês Nascimento... [et al.]. — São Luís: EDUFMA, 2022.
72 p.: il.

Modo de acesso: World Wide Web
<<http://www.edufma.ufma.br/index.php/loja/>>
ISBN 978-65-5363-030-7

Título: Orientação de saúde bucal para pacientes com acromegalia
Formato: Livro Digital
Veiculação: Digital

1. Saúde bucal – Paciente com acromegalia. 2. Acromegalia. 3. Higiene bucal. 4. Diabetes. 5. Doença periodontal. I. Rodrigues, Vandilson Pinheiro. II. Nascimento, Gilvan Cortês.

CDD 617.6
CDU 616.31-083:616-007.6

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Marcia Cristina da Cruz Pereira CRB 13 / 418

EDUFMA | Editora da UFMA

Av. dos Portugueses, 1966 – Vila Bacanga
CEP: 65080-805 | São Luís | MA | Brasil
Telefone: (98) 3272-8157
www.edufma.ufma.br | edufma@ufma.br

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte deste livro pode ser reproduzida, armazenada em um sistema de recuperação ou transmitida de qualquer forma ou por qualquer meio, eletrônico, mecânico, fotocópia, microfilmagem, gravação ou outro sem permissão do autor.

- Apresentação em eventos



Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica
Divisão Brasileira da IADR

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **PN1235 - QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE BUCAL EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM ACROMEGALIA** de Campelo RC*, Macêdo RFC, Silva DKC, Borges MVC, Barros LC, Rodrigues VP foi apresentado **na modalidade Painel Aspirante**

durante a 38ª Reunião Anual Virtual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica no período de 08 a 11 de Setembro de 2021



Paulo Cesar
Paulo Francisco César
Presidente

Valentim
Valentim Adelino Ricardo Barão
Vice-Presidente

Verifique o código de autenticidade 3075509.3648625.227216.6.59225847317020090677 em <https://www.even3.com.br/documentos>

CERTIFICADO

Certificamos que **Karla Viviane Costa Froes, Rebecca Marques Serra De Farias, Maria Luiza Menezes Da Silva, Eduardo Carneiro dos Santos Fonseca Filho, Renata Carvalho Campelo e Vandilson Pinheiro Rodrigues**, participaram na qualidade de **APRESENTADORES**, do evento **I Congresso Nacional Acadêmico de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (CONAO-UFMA)**, apresentando o trabalho intitulado **Fatores clínicos associados ao fluxo salivar em pacientes com acromegalia**, na Modalidade(s) **Banner**.

São Luís, 04/08/2023 a 05/08/2023

Letícia Machado Gonçalves

Letícia Gonçalves
Presidente Docente

Maria Luiza Menezes

Maria Luiza Menezes
Presidente Discente

REALIZAÇÃO:



PATROCÍNIO:

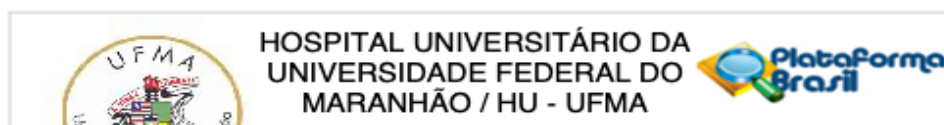


APOIO:





ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE MARCADORES SALIVARES, CONDIÇÃO PERIODONTAL, MORFOLOGIA FACIAL E QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE BUCAL EM PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM ACROMEGALIA

Pesquisador: VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 33124820.6.0000.5086

Instituição Proponente: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.228.546

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1546320.pdf 18/07/2020).

Introdução

A acromegalia é uma desordem endócrina associada com o incremento da produção do hormônio de crescimento (GH) e do fator de crescimento insulina-símile tipo 1 (IGF-1) (HOSSAIN; DRAKE, 2017). Os dados epidemiológicos revelam que sua incidência é maior na faixa etária entre 30 e 50 anos de idade, sem predileção sexual, e em 95% dos casos é decorrente de um adenoma hipofisário secretor de GH (somatotropinoma). Além disso, também pode ser causada por síndromes hereditárias, como a neoplasia endócrina múltipla tipo I e o complexo Carney (COLAO et al., 2019). Apesar de ser uma doença com sérias complicações sistêmicas e com grande influência negativa na qualidade de vida, seu diagnóstico acontece de maneira tardia, com um intervalo de cerca de 8 anos desde os primeiros sintomas até o diagnóstico final (REID et al., 2010). Os critérios hormonais para diagnóstico da acromegalia incluem mensuração dos níveis de IGF-1 e GH durante o teste oral de tolerância à glicose. O nível de IGF-1 circulante é um marcador para o GH, assim sua presença em níveis normais elimina o diagnóstico de acromegalia. (ASTAF

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SÃO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

EVA; KALININ; KADASHEV, 2017; MELMED et al., 2013). Contudo, o diagnóstico continua desafiador pois, ocasionalmente, os dados obtidos a partir das concentrações de IGF-1 e GH se apresentam discrepantes, já que ambos os componentes do eixo somatotrópico podem ser modificados independentemente por fatores biológicos, o que desperta a necessidade de uma investigação mais ampla (SCHILBACH; STRASBURGER; BIDLINGMAIER, 2017). Tal investigação pode ser realizada através da análise da saliva, que é considerada uma fonte segura, barata, não invasiva, de fácil coleta e com boa estabilidade (CHOJNOWSKA et al., 2018; NUNES; MUSSAVIRA; BINDHU, 2015; ZHANG et al., 2016). A saliva é produzida pelas glândulas salivares maiores, parótida, submandibular e sublingual, assim como pelas glândulas salivares menores espalhadas pela mucosa bucal. E há aumento do volume da glândula submandibular em 87,5% dos pacientes com acromegalia, o que pode alterar o fluxo salivar normal (MANETTI et al., 2002). A análise dos biomarcadores salivares pode ser utilizada para o diagnóstico precoce, acompanhamento clínico e alterações orgânicas em pacientes acometidos por doenças, como diabetes mellitus, doenças vasculares, síndrome de Sjögren, alguns tipos de câncer, vírus da imunodeficiência humana, dengue, hepatite viral e outras (CHOJNOWSKA et al., 2018; NUNES; MUSSAVIRA; BINDHU, 2015; ZHANG et al., 2016). Portanto, é uma ferramenta útil aos profissionais da saúde para avaliar o estado de saúde ou de doença do indivíduo, assim como já ocorre na rotina clínica com a análise de biomarcadores séricos. A presença elevada do GH leva a alterações clínicas de forma direta ou indireta, como sinais sutis de crescimento das extremidades, alterações nas articulações, cefaleia, alterações visuais, hiperprolactinemia tumoral, apneia, cetoacidose diabética, complicações respiratórias, hipertensão grave, insuficiência cardíaca, etc (DONANGELO; UNE; GADELHA, 2003; VILAR et al., 2017). Dentre as alterações odontológicas mais comuns temos prognatismo, macroglossia, lábios evertidos, mobilidade dentária, diastemas e perda dentária (DOSTÁLOVÁ et al., 2003; LIMA et al., 2009), mudanças craniofaciais (WAGENMAKERS et al., 2015); alteração na proporção altura e largura do nariz, aumento da espessura labial e crescimento mandibular (GUO et al., 2018). Tais alterações morfológicas como o aumento maxilar e mandibular, espessamento do tecido mole do palato mole e úvula e alterações das paredes laterais e posterior da hipofaringe, assim como hipertrofia da língua, aumento das glândulas submandibulares (HERRMANN et al., 2004), índice de massa corporal (VAN HAUTE et al., 2008) e circunferência cervical (ROSENOW et al., 1996; WEISS et al., 2000) podem contribuir para a presença da apneia do sono em pacientes acromegálicos, especialmente a apneia obstrutiva do sono (PAROLIN et al., 2020). Todas essas mudanças morfológicas faciais são sequelas permanentes da acromegalia que irão gerar impacto psicológico, social e emocional nesses pacientes. E quanto maior a percepção dessas alterações,

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

maior a influência causada em relação a uma piora na autoestima, menor satisfação na aparência pessoal, piora nas relações interpessoais, impacto na vida social e diminuição da qualidade de vida como um todo (CRESPO; VALASSI; WEBB, 2017; IMRAN et al., 2016; SZCZENIAK; JAWIARCZYK-PRZYBYOWSKA; RYMASZEWSKA, 2015). Por outro lado, a doença periodontal, que é uma doença inflamatória crônica multifatorial que envolve os tecidos de suporte dos dentes (KINANE; STATHOPOLOU; PAPAPANOU, 2017), tem sido pouco associada à acromegalia, apesar de 19 a 56% dos pacientes acromegálicos serem afetados pelo diabetes mellitus (KREZE; KREZE-SPIROVA; MIKULECKY, 2001), que é uma alteração sistêmica comumente ligada à periodontite. A literatura tem investigado uma redução do comprometimento periodontal em pacientes acromegálicos, sugerindo que tal condição seria um fator de proteção para doença periodontal (BASCIL; SERINSOZ; TUTUNCU, 2014; LIMA et al., 2009; OZDEMIR et al., 2019; SERINSOZ et al., 2015). Dessa forma, o objetivo do estudo será comparar o nível de biomarcadores salivares de pacientes com acromegalia e sistemicamente saudáveis, e correlacionar a concentração de biomarcadores na saliva e soro. Estes achados podem contribuir para a identificação de moléculas na saliva associadas ao diagnóstico precoce e avaliação da atividade da doença. Além disso, torna-se relevante a investigação da acromegalia como fator protetor da doença periodontal levando em consideração seus possíveis fatores confundidores.

Metodologia Proposta:

O estudo será realizado no HUPD-UFMA e no Curso de Odontologia da UFMA. Os participantes serão convidados a participar do estudo após a leitura e completo entendimento do conteúdo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que descreve resumidamente o projeto de pesquisa, os participantes assinarão duas vias do TCLE, a primeira ficará com o voluntário. O Grupo Caso será constituído de pacientes com acromegalia. O Grupo Controle será formado por indivíduos sistemicamente saudáveis. Para o cálculo amostral, considerou-se número de pacientes acromegálicos no HUPD-UFMA em junho de 2019, frequência de 50%, margem de erro de 5%, nível de confiança de 95% e efeito do desenho de 1. Obteve-se o tamanho amostral de 68 unidades por grupo. Dessa forma, o presente estudo será constituído por 68 pacientes acromegálicos e 68 controles. Entrevista inicial e coleta de dados médicos. A entrevista consistirá em perguntas realizadas com auxílio de um questionário. Após a conclusão do questionário será consultado o prontuário do paciente para coleta de dados médicos e laboratoriais. Coleta de saliva. Duas medidas do fluxo salivar serão coletadas: fluxo salivar não estimulado (FSN) e fluxo salivar estimulado (FSE) (DAWES, 1987). Qualidade de Vida relacionada a Saúde Bucal. Os participantes

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SÃO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

responderão o questionário do OHIP-14 para avaliação da qualidade de vida associada à saúde bucal, composto por 14 questões (SLADE, 1997), com a finalidade de avaliar o impacto produzido pela condição bucal na qualidade de vida. Avaliação morfológica da glândula parótida e submandibular. O exame de ultrassom das glândulas salivares serão realizados através do aparelho de aparelho Terason t3000. O volume das glândulas será calculado através da fórmula baseadas em modelos geométricos. Os dados serão coletados de forma cega por um único examinador. Avaliação periodontal. A avaliação será realizada utilizando espelho clínico e uma sonda milimetrada Hu Friedy-PCPUNC-15. Serão examinadas as regiões disto-vestibular, centro-vestibular, méso-vestibular, disto-lingual, centro-lingual e méso-lingual, de todos os dentes presentes. Os seguintes parâmetros clínicos serão registrados: Profundidade de sondagem (PS), Nível de inserção clínico (NIC), Recessão Gengival (RG), Índice de sangramento gengival (ISG), Índice de placa visível (IPV): Presença ou ausência de placa será registrada nos seis sítios de cada dente. Em relação à avaliação quanto a higiene bucal, pacientes com ausência de cálculo e/ou placa visíveis, sem o auxílio de evidenciador de placa, serão classificadas a higiene bucal como boa, regular ou deficiente. Avaliação da oclusão e facial. A avaliação da relação molar, desvio da linha média dental e mordida cruzada foram realizadas através do exame clínico com o paciente em máxima intercuspidação. A relação molar existente entre os primeiros molares superiores e inferiores permanentes do lado com maior desvio será registrada (Classe I, II ou III). A linha média dental será registrada com coincidente ou não coincidente. Mordida cruzada e mordida aberta será classificada como ausente ou presente. A presença de assimetria facial será detectada através da avaliação visual na observação frontal da face. Além disso, um paquímetro digital será utilizado para a mensuração das medidas facial. As medidas coletadas serão anotadas em mm. Serão coletadas as seguintes medidas: Largura da face, Largura da mandíbula, Altura facial, Altura da face superior, Altura da face inferior, Índice facial. Avaliação da apneia obstrutiva do sono. Os participantes responderão o questionário STOP-BANG para avaliação da apneia obstrutiva do sono, o qual foi desenvolvido, validado e traduzido para versão brasileira, composto por oito questões. Essas perguntas apresentação duas opções de resposta (sim ou não), podendo pontuar de 0 a 8, sendo um risco baixo (de 0 a 2 pontos), intermediário (3 a 4 pontos) ou alto (5 a 8 pontos) de AOS (CHUNG et al., 2008; FONSECA et al., 2016).

Critério de Inclusão:

Grupo caso: Serão incluídos pacientes com diagnóstico confirmado de acromegalia em tratamento no HUPD-UFMA, de ambos os sexos, com idade igual ou maior que 18 anos. **Grupo controle:** Serão

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250 **E-mail:** cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

incluídos indivíduos sistemicamente saudáveis, de ambos os sexos, com idade igual ou maior de 18 anos.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos pacientes sob internação hospitalar, mulheres gestantes, mulheres em terapia de reposição hormonal com estrógenos, indivíduos com índice de massa corporal (IMC) abaixo de 18,5, atuais fumantes, presença de sinais de afecções infecciosa e/ou inflamatória de glândulas salivares.

Metodologia de Análise de Dados:

Para o processamento de dados, será construído um banco de dados utilizando a planilha eletrônica Excel. Para a análise estatística, serão utilizados os recursos do software SSPS for Windows, sendo realizada, inicialmente a estatística descritiva dos dados, por frequência absoluta e relativa, medidas de tendência central (média ou mediana), medidas de dispersão (desvio-padrão ou intervalo interquartilico) e estimativas intervalares (Intervalo de confiança a 95%). Os resultados serão apresentados por meio de tabelas e gráficos. A normalidade da distribuição das variáveis numéricas será aferida através do teste de Shapiro-Wilk. Para teste das hipóteses serão utilizados na análise das variáveis quantitativas, o teste T e o Coeficiente de Correlação de Pearson, para os dados paramétricos, e o teste de Mann-Whitney e Coeficiente de Correlação de Spearman, para os dados não-paramétricos. Nos casos das variáveis qualitativas (categóricas), serão utilizados os testes qui-quadrado convencional ou o exato de Fisher. O nível de significância adotado será 5%. ($p < 0,05$). Além disso, será realizado a regressão linear simples para averiguar os coeficientes de regressão (CR) e determinação (R^2) considerando as variáveis salivares e séricas que apresentarem valor de p menor que 10% na comparação entre os grupos.

Desfecho Primário:

Marcadores salivares, condição periodontal e morfologia facial.

Desfecho Secundário:

Qualidade de vida relacionada à saúde bucal

Tamanho da Amostra no Brasil: 136

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227	
Bairro: CENTRO	CEP: 65.020-070
UF: MA	Município: SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250	E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

Objetivo da Pesquisa:

Segundo relatos do pesquisador no PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1546320.pdf

Objetivo Primário:

"Investigar o fluxo e nível de marcadores salivares, condição periodontal, morfologia facial e qualidade de vida relacionada à saúde bucal em pacientes diagnosticados com acromegalia".

Objetivo Secundário:

- Comparar os níveis marcadores salivares de pacientes com acromegalia e sistemicamente saudáveis;
- Comparar o fluxo salivar de pacientes com acromegalia e sistemicamente saudáveis;
- Avaliar a condição periodontal e qualidade de vida relacionada à saúde bucal dos pacientes;
- Avaliar as medidas de oclusão e padrão facial dos pacientes e analisar a relação com a qualidade de vida;
- Correlacionar os níveis dos marcadores salivares e parâmetros periodontais com a concentração de marcadores séricos utilizando para o diagnóstico e avaliação da atividade da doença em pacientes com acromegalia (GH, IGF-1, Insulina, HOMA);
- Relacionar os níveis dos marcadores salivares e parâmetros periodontais com a presença de comorbidades apresentadas pelos pacientes.
- Relacionar a apnéia obstrutiva do sono e a circunferência cervical com a presença de acromegalia".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo relatos do pesquisador no PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1546320.pdf

Riscos:

"Os riscos relacionados com essa pesquisa envolvem a exposição à material biológico (saliva) que pode levar à contaminação do pesquisador e funcionários, a qual será controlada ou minimizada através do uso dos equipamentos de proteção individuais. Além disso, o exame da boca envolve a manipulação de lábio, língua e gengival o que pode levar a um leve desconforto. Este risco será minimizado, visto que o exame será realizado por um cirurgião-dentista qualificado e previamente treinado".

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

Benefícios:

"Os pacientes receberão informações sobre acromegalia, instrução de higiene bucal e encaminhados, quando necessário, para tratamento nas Disciplinas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão. Os achados deste estudo podem contribuir para gerar informações sobre o uso de dosagens salivares no acompanhamento clínicos de pacientes com acromegalia. Caso a hipótese nula seja rejeitada, ou seja, a composição salivar e fluxo salivar for diferente em pacientes acromegálicos seria uma forte evidência científica que as alterações nos níveis séricos de GH e IGF-1 podem contribuir para a alteração da atividade das glândulas salivares, o que poderia ser utilizado para sugerir possíveis distúrbios hormonais ou predispor à agravos bucais neste grupo populacional. Os resultados desse estudo serão divulgados em Congressos Nacional e Internacionais específicos da área da Odontologia (Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, International Association of Dental Research – IADR, dentre outros). A elaboração de artigo/paper com os resultados do estudo será submissão para periódicos de veiculação internacional e alto impacto científico".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo relevante pois a acromegalia é uma desordem endócrina associada com o incremento da produção do hormônio de crescimento (GH) e do fator de crescimento insulina-símile tipo 1 (IGF-1) devido a presença de um adenoma hipofisário secretor de GH, que ocorre em 95% dos casos. O objetivo do estudo será comparar o nível de biomarcadores salivares, condição periodontal, morfologia craniofacial, apneia do sono e qualidade de vida relacionada à saúde bucal de pacientes com acromegalia e sistemicamente saudáveis. A amostra será composta por dois grupos: um grupo caso com 68 pacientes diagnosticados com acromegalia e um grupo controle com 68 pacientes saudáveis pareados por sexo e idade. A coleta de dados será composta de entrevista, coleta de dados médicos através de prontuário, exame físico, exame de ultrassom, coleta e análise da saliva. A normalidade da distribuição das variáveis numéricas será aferida através do teste de Shapiro-Wilk. As variáveis numéricas serão analisadas através de testes paramétricos e não-paramétricos de acordo com a distribuição amostral. Nos casos das variáveis qualitativas (categóricas), serão utilizados os testes qui-quadrado convencional ou o exato de Fisher. O nível de significância adotado será 5% para todos os testes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227	CEP: 65.020-070
Bairro: CENTRO	
UF: MA	Município: SAO LUIS
Telefone: (98)2109-1250	E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

rosto, Declaração de compromisso em anexar os resultados na plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word.

Atende à Norma Operacional no 001/2013 (item 3/ 3.3). O protocolo apresenta ainda a declaração de responsabilidade financeira e termo de compromisso com a utilização dos dados resguardando o sigilo e a confidencialidade.

Recomendações:

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA sugere que os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O PROTOCOLO não apresenta óbices éticos, portanto atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, sendo considerado APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa-CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1546320.pdf	18/07/2020 20:32:18		Acelto
Outros	Carta_Resposta_CEPassinado.pdf	18/07/2020 20:31:46	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_modificado.pdf	10/07/2020 10:22:44	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

Ausência	TCLE_modificado.pdf	10/07/2020 10:22:44	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_PlatBrasil_modificado.pdf	10/07/2020 10:14:47	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Outros	Autorizacao_Odontologia_UFMA.pdf	10/07/2020 07:30:48	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Outros	Parecer_COMIC_HUUFMA.pdf	02/06/2020 01:34:01	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Outros	Autorizacao_Gestor.pdf	02/06/2020 01:33:11	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Folha de Rosto	FolhaderostoPB.pdf	27/04/2020 19:38:45	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Outros	TermoFinanc.pdf	27/04/2020 19:37:54	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Outros	TermoDados.pdf	27/04/2020 19:37:11	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Orçamento	Orc_Proj.pdf	27/04/2020 19:35:59	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Declaração de Pesquisadores	TermoAnuencia.pdf	27/04/2020 19:35:43	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	InfraPB.pdf	27/04/2020 19:35:27	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto
Cronograma	Cronograma.pdf	27/04/2020 19:35:14	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 4.228.546

SAO LUIS, 21 de Agosto de 2020

Assinado por:
Camilane Azevedo Ferreira
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227
Bairro: CENTRO **CEP:** 65.020-070
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)2108-1250 **E-mail:** cep@huufma.br

ANEXO B – DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHO NA ORAL SURGERY ORAL MEDICINE ORAL PATHOLOGY ORAL RADIOLOGY

- Guide for Authors
- **Before you begin**
- Section Scope Statements

The *Oral and Maxillofacial Surgery Section* aims to publish an extensive range of original articles that advances patient care through enhanced understanding of diagnosis, surgical and adjunctive treatment of diseases, and injuries and defects involving both the functional and esthetic aspects of the hard and soft tissues of the oral and maxillofacial regions. The section also seeks research regarding both the basic science of and management of persons with oral and maxillofacial conditions. Articles presenting ethical, original, well-documented, and reproducible research are given preference.

The *Oral Medicine Section* aims to publish a broad range of original articles that help clinicians understand more thoroughly the pathobiology, etiology, diagnosis, prevention, and management of oral conditions related to underlying medical conditions, including diseases of the head, neck, and oral mucosal structures, orofacial pain conditions, salivary gland disorders, and taste disorders. The section also seeks research regarding the dental management of persons with medical problems and/or complicated medical conditions. The published findings must contribute substantively to the body of oral medicine literature and should lead to improved clinical decision-making and enhanced care of medically-related disorders or conditions affecting the oral and maxillofacial region. Articles presenting original, well-documented, and reproducible research are preferred.

The *Oral and Maxillofacial Pathology Section* encourages the submission of original articles of high scientific quality that investigate the pathogenesis, diagnosis, and management of diseases affecting the oral and maxillofacial region. Submitted manuscripts may summarize findings from clinical, translational, or basic research in the broad field of oral and maxillofacial pathology but must contribute substantively to the body of knowledge in this field and should be of obvious clinical and/or diagnostic significance to the practicing oral and maxillofacial pathologist. Areas of focus may include the investigation of disease pathogenesis, the diagnosis of disease using microscopic, clinical, radiographic, biochemical, molecular, or other methods as well

as the natural history and management of patients with various conditions of the head, neck, and oral mucosal structures. Diagnostic accuracy studies should conform to the principles of the STARD document <http://www.stard-statement.org>. Articles presenting novel and reproducible research that introduce new knowledge and observations are especially encouraged. This section also welcomes the submission of topical review papers on relevant subjects.

The *Oral and Maxillofacial Radiology Section* publishes original contributions to the advancement of oral and maxillofacial radiology and related imaging sciences. The section considers original clinical and experimental research papers, reports of technological developments, extensive systematic reviews of the literature, and invited papers on subjects that will appeal to researchers and clinicians involved in diagnostic imaging of hard and soft tissues of the head and neck. Topics of interest include the efficacy of imaging systems using ionizing and non-ionizing radiation in the diagnosis of head and neck disease; molecular imaging; artificial intelligence and computer-assisted diagnosis; craniofacial analysis; image-guided surgical navigation; image processing; radiation physics and dosimetry; and radiation biology, safety, and protection. The section also seeks extensive case series representing various expressions of particular conditions, descriptions of innovative imaging technique applications to these series, and description of novel imaging features. Published manuscripts should assist clinicians in developing evidence-based practice and provide improved clinical decision-making regarding the performance of specific techniques and interpretation of resulting images. Diagnostic accuracy studies should conform to the principles of the STARD document <http://www.stard-statement.org>).

- Types of Papers

1. Original Research Article. Reports of original research (preclinical, clinical, or translational) that are well-documented, novel, and significant. Original research manuscripts will be organized into six parts: (1) Abstract; (2) Introduction; (3) Materials and Methods; (4) Results; (5) Discussion; (6) References.

2. Review article. Manuscripts that review the current status of a given topic, diagnosis, or treatment. These manuscripts should not be an exhaustive review of the literature but rather should be a review of contemporary thought with respect to the topic. Systematic reviews and meta-analyses manuscripts should follow PRISMA (<http://www.prisma-statement.org>) and the Institute of Medicines' guidelines

<http://www.iom.edu/Reports/2011/Finding-What-Works-in-Health-Care-Standards-for-Systematic-Reviews/Standards.aspx>).

3. Clinicopathologic Conference (CPC). Manuscripts that document interesting, challenging, or unusual cases that present unexpected or interesting diagnostic challenges. The presentation should simulate clinical work-up, including the formulation of a detailed and well thought out differential diagnosis. The complete diagnostic evaluation, management, and follow-up must be included. CPC articles must be organized into six parts: (1) Title: Provide a descriptive clinical title that does not reveal the final diagnosis. (2) Clinical presentation: Describe the clinical and imaging characteristics of the lesion. Use clinical photographs and radiographs as appropriate. (3) Differential diagnosis: List and discuss lesions to be considered as reasonable diagnostic possibilities. The authors are reminded that the most important part of the CPC manuscript is the clinical differential diagnosis, where the authors guide the readership through their own diagnostic thought process. This will require the formulation of a list of the most probable diagnostic possibilities (ideally at least 5-6 entities) based on the clinical presentation, medical history, and/or radiographic studies. (4) Diagnosis: Histopathologic findings illustrated with appropriate photomicrographs. (5) Management: Describe the treatment of the patient and response to treatment. (6) Discussion: Concentrate on the most interesting aspect(s) of the case. No abstract is needed for CPC manuscripts. Limit the number of references to no more than 25.

4. Case Reports. These types of publications often add little to the scientific knowledge base. However, excellent case reports may be published as online only papers if they meet certain criteria, such as: (1) rare or unusual lesions/conditions that need documentation, (2) well-documented cases showing unusual or "atypical" clinical or microscopic features or behavior, or (3) cases showing good long-term follow-up information, particularly in areas in which good statistics on results of treatment are needed. A case report should either present unique features of the condition or lesion, novel treatment regimens, or provide the basis for a new plausible medical theory about the pathogenesis of a particular disease or condition so clinicians can provide better care regarding patients with chronic and painful conditions relevant to medical disorders and/or medical therapy. Providing Virtual Microscope image/s is highly encouraged for Case Reports (see also below).

Enhancements such as Virtual Microscope images, DICOM files, and video clips are not mandatory for initial submission but are encouraged for all article types; if editors request a revision, they may specifically request submission of these types of files with the revised manuscript.

General inquiries and communications regarding editorial management should be addressed to Alice M. Landwehr, Managing Editor: tripleOjournal@gmail.com.

General correspondence to the Editor-in-Chief, Mark W. Lingen, DDS, PhD: Mark.Lingen@uchospitals.edu

Elsevier Journal Manager; email: tripleo@elsevier.com

- Ethics in publishing

Please see our information on [Ethics in publishing](#).

- Informed consent and patient details

Studies on patients or volunteers (including organ/tissue donors) require informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author, but copies should not be provided to the journal.

Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#).

Unless the author has written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

- Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this:

'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. [More information](#).

- Declaration of generative AI in scientific writing

The below guidance only refers to the writing process, and not to the use of AI tools to analyse and draw insights from data as part of the research process.

Where authors use generative artificial intelligence (AI) and AI-assisted technologies in the writing process, authors should only use these technologies to improve readability and language. Applying the technology should be done with human oversight and control, and authors should carefully review and edit the result, as AI can generate authoritative-sounding output that can be incorrect, incomplete or biased. AI and AI-assisted technologies should not be listed as an author or co-author, or be cited as an author. Authorship implies responsibilities and tasks that can only be attributed to and performed by humans, as outlined in Elsevier's [AI policy for authors](#). Authors should disclose in their manuscript the use of AI and AI-assisted technologies in the writing process by following the instructions below. A statement will appear in the published work. Please note that authors are ultimately responsible and accountable for the contents of the work.

Disclosure instructions

Authors must disclose the use of generative AI and AI-assisted technologies in the writing process by adding a statement at the end of their manuscript in the core manuscript file, before the References list. The statement should be placed in a new section entitled 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'

Statement: During the preparation of this work the author(s) used [NAME TOOL / SERVICE] in order to [REASON]. After using this tool/service, the author(s) reviewed and edited the content as needed and take(s) full responsibility for the content of the publication

This declaration does not apply to the use of basic tools for checking grammar, spelling, references etc. If there is nothing to disclose, there is no need to add a statement.

If there is any overlap between the submission and any other material, published or submitted, detail the nature of and reason for the overlap for the editors' assessment.

Although poster presentations and abstracts are not considered duplicate publication, they should be stated on the title page. Further information about Elsevier's standards for publication ethics is available at <https://www.elsevier.com/publishingethics>.

- Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify compliance, your article may be checked by [Crossref Similarity Check](#) and other originality or duplicate checking software.

- Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

- Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of

reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

- Reporting sex- and gender-based analyses

Reporting guidance

For research involving or pertaining to humans, animals or eukaryotic cells, investigators should integrate sex and gender-based analyses (SGBA) into their research design according to funder/sponsor requirements and best practices within a field. Authors should address the sex and/or gender dimensions of their research in their article. In cases where they cannot, they should discuss this as a limitation to their research's generalizability. Importantly, authors should explicitly state what definitions of sex and/or gender they are applying to enhance the precision, rigor and reproducibility of their research and to avoid ambiguity or conflation of terms and the constructs to which they refer (see Definitions section below). Authors can refer to the [Sex and Gender Equity in Research \(SAGER\) guidelines](#) and the [SAGER guidelines checklist](#). These offer systematic approaches to the use and editorial review of sex and gender information in study design, data analysis, outcome reporting and research interpretation - however, please note there is no single, universally agreed-upon set of guidelines for defining sex and gender.

Definitions

Sex generally refers to a set of biological attributes that are associated with physical and physiological features (e.g., chromosomal genotype, hormonal levels, internal and external anatomy). A binary sex categorization (male/female) is usually designated at birth ("sex assigned at birth"), most often based solely on the visible external anatomy of a newborn. Gender generally refers to socially constructed roles, behaviors, and identities of women, men and gender-diverse people that occur in a historical and cultural context and may vary across societies and over time. Gender influences how people view themselves and each other, how they behave and interact and how power is distributed in society. Sex and gender are often incorrectly portrayed as binary (female/male or woman/man) and unchanging whereas these constructs actually exist along a spectrum and include additional sex categorizations and gender identities such as people who are intersex/have differences of sex development (DSD) or identify as non-binary. Moreover, the terms "sex" and "gender" can be ambiguous--thus it is important for authors to define the manner in which they are used. In addition to this

definition guidance and the SAGER guidelines, the [resources on this page](#) offer further insight around sex and gender in research studies.

- Author contributions

For transparency, we require corresponding authors to provide co-author contributions to the manuscript using the relevant CRediT roles. The [CRediT taxonomy](#) includes 14 different roles describing each contributor's specific contribution to the scholarly output. The roles are: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; and Writing - review & editing. Note that not all roles may apply to every manuscript, and authors may have contributed through multiple roles. [More details and an example](#).

- Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following:

- Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
- Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
- Final approval of the version to be published; AND
- Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

All authors must have seen and approved the submission of the manuscript and be willing to take responsibility for the entire manuscript. All persons listed as authors must meet the criteria for authorship according to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" available at <https://www.icmje.org>. All four of these conditions must be met by each author. No additional authors can be added after submission unless editors receive agreement from all authors and detailed information is supplied as to why the author list should be amended. Persons who contribute to the effort in supporting roles should not be included as authors; they should be acknowledged at the end of the paper (see Acknowledgments below).

- Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author

names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

- Registration of clinical trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

- Clinical trial results

In line with the position of the International Committee of Medical Journal Editors, the journal will not consider results posted in the same clinical trials registry in which primary registration resides to be prior publication if the results posted are presented in the form of a brief structured (less than 500 words) abstract or table. However, divulging results in other circumstances (e.g., investors' meetings) is discouraged and may jeopardise consideration of the manuscript. Authors should fully disclose all posting in registries of results of the same or closely related work.

- Article Transfer Service

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service to find the best home for your manuscript. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. If you agree, your manuscript will be transferred, though you will have the opportunity to make changes to the manuscript before the submission is complete. Please note that your manuscript will be independently reviewed by the new journal. More information.

- Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

- Responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

- Funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data;

in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement, it is recommended to state this.

- Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information about open access publishing in this journal.

- Language (usage and editing services)

Please write your text in standard, grammatical English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<https://webshop.elsevier.com/language-editing/>) or visit our customer support site (<https://service.elsevier.com>) for more information. Such assistance does not guarantee acceptance but may enhance the review, improve the chance of acceptance, and reduce the time until publication if the article is accepted.

- Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail. If the manuscript is accepted, the Editors reserve the right to determine whether it will be published in the print edition or solely in the Internet edition of the Journal.

- Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/tripleO/default.aspx>.

- **Preparation**

- Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to

align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

- LaTeX

You are recommended to use the Elsevier article class [elsarticle.cls](#) to prepare your manuscript and [BibTeX](#) to generate your bibliography.

Our [LaTeX site](#) has detailed submission instructions, templates and other information.

- Article structure

This section describes the article structure for this journal.

- Essential Title Page Information

The title page of the manuscript should include the title of the article, the full name of the author(s), academic degrees, positions, and institutional affiliations. The corresponding author's address, business and home telephone numbers, fax number, and e-mail address should be given. Disclosures must appear on the title page (see *Disclosures*).

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

- **Author names, academic degrees, positions, and institutional affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**

- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent

address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

- **Disclosures** must appear on the title page (see "Conflict of Interest" above).

Include on the title page a word count for the abstract (if relevant to article type), a complete manuscript word count (to include body text and figure legends), number of references, number of figures/tables, and number of supplementary elements, if any (eg, Virtual Microscope image/s, video clip files, DICOM files, extensive tables, figures, description of methodology).

Include on the title page any disclosures including funding, disclaimer statements, presentation/s of the research at conferences/symposia, posting of the work on a preprint server, website, or other location.

- **Statement of Clinical Relevance**

For Original research and Review manuscripts, please provide a brief statement of no more than 40 words that succinctly summarizes the clinical relevance of the findings described in your manuscript.

For example:

"The risk of postoperative bleeding complications in patients in whom anticoagulation is continued for dental surgery is exceedingly small and is outweighed by the small risk of serious and sometimes fatal embolic events when anticoagulation is interrupted for dental surgery." (Wahl et al. 119(2) <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2014.10.011>)

- **Abstract**

A structured abstract, limited to 200 words, must be used for data-based research articles. The structured abstract is to contain the following major headings: Objective(s); Study Design; Results; and Conclusion(s). The Objective(s) reflects the purpose of the study, that is, the hypothesis that is being tested. The Study Design should include the setting for the study, the subjects (number and type), the treatment or intervention, and the type of statistical analysis. The Results include the outcome of the study and statistical significance if appropriate. The Conclusion(s) states the significance of the results. For nondata-based submissions, the abstract should be an unstructured summary of less than 150 words. No abstract is needed for submissions to the CPC section.

Subdivision - unnumbered sections

Divide your article into the following clearly defined sections. Each subsection is given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Subsections should be used as much as possible when cross-referencing text: refer to the subsection by heading as opposed to simply 'the text'.

- Introduction

State the problem being investigated, summarize the existing knowledge to place the problem in context, and describe the hypothesis and general experimental design. Avoid a detailed literature survey or a summary of the results.

- Materials and Methods

As relevant, the Materials and Methods section should describe in adequate detail the experimental subjects, their important characteristics, and the methods, apparatus, and procedures used so that other researchers can reproduce the experiment. When the manuscript submitted reports on research in which humans are involved as experimental subjects directly or indirectly, the Materials and Methods section must indicate that the protocol was reviewed by the appropriate institutional review board (IRB), is in compliance with the Helsinki Declaration, and that each subject in the project signed a detailed informed consent form. Authors should verify compliance with the Health Insurance Portability and Accountability Act of 1996 (HIPAA) before submission. Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference; only relevant modifications should be described.

Animals. Please indicate that protocols were reviewed by the appropriate institutional committee with respect to the humane care and treatment of animals used in the study.

- Results

Results should be clear and concise and presented in a logical sequence. Tables and illustrations may be helpful in clarifying the findings and can reduce the length of the manuscript.

- Discussion

The Discussion states the significance of the results and limitations of the study. Authors should discuss their findings in the framework of previously published research. They should explain why their results support or contradict existing knowledge. If appropriate, the authors may suggest further research to follow up on their findings.

- Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, it is recommended to include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

- Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI.

Dental Nomenclature. Because of competing dental nomenclature systems, confusion can be eliminated by identifying teeth by their name, rather than a number or letter. Be consistent throughout the manuscript.

In tables, use the Universal Numbering System to identify the teeth. For example, the maxillary right permanent lateral incisor is designated tooth 7. The mandibular right deciduous second molar is designated tooth T. Identify the numbers/letters in the footnote to the table like any other abbreviations.

- Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

- Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the

footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

- Acknowledgments

The names of persons who have contributed substantially to a manuscript but who do not fulfill the criteria for authorship, along with their conflicts of interest, funding sources, and industry relations, if relevant, are to be listed in the Acknowledgment section. This section should include individuals who provided any writing, editorial, statistical assistance, etc. Collate acknowledgments in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. Do not include statements of the authors' funding, conflicts, or other disclosures in the Acknowledgments; these must appear on the title page.

- References

This section describes the references for this journal.

- Citation in text

References should be complete and reflect the current state of knowledge on the topic. Make sure all references have been verified and are cited consecutively in the text (not including tables) by superscript numbers. The reference list should be typed double-spaced on a separate page of the manuscript file and numbered in the same order as the reference citations appear in the text.

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not to be cited in the reference list but are to be cited in parentheses at the appropriate place in the text. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication, and publication information must be updated if the manuscript is accepted.

- Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, Crossref and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is highly encouraged.

A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <https://doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

- Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

- Reference style

If accepted, the reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Make sure the information in each reference is complete and correct. To see the format used by the journal, refer to a recent issue.

- Journal abbreviation source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

- Artwork

This section describes the artwork for this journal.

- Electronic artwork

Illustrations should be numbered with Arabic numerals in the order of appearance in the text and accompanied by suitable legends (see Figure Captions).

A reasonable number of halftone illustrations or line drawings will be reproduced at no cost to the author. At the editors' discretion, color illustrations may be published in grayscale with the color image available in the online edition of the Journal; elaborate tables and extra illustrations, if accepted, may also appear as supplementary material in the online edition only. Typewritten or freehand lettering on illustrations is not acceptable. All lettering must be done professionally, and letters should be in proportion to the drawings or photographs on which they appear.

Figures must be submitted in electronic figure file format. For best reproduction, images should be submitted in .tif format. Figures in .jpg format may be acceptable if they meet minimum resolution guidelines. Images embedded in programs such as

PowerPoint or Word will not be accepted. Photographic images must be submitted at 300 ppi (pixels per inch) with the following dimensions: Full page 5" wide (1,500 pixels wide) or half page 3" wide (900 pixels wide). Screen capture resolutions (typically 72 ppi) will not provide adequate reproduction quality. Line-art images (charts, graphs) must be submitted at 1200 ppi with the following dimensions: Full page 5" wide (6000 pixels wide) or half page 3" wide (3600 pixels wide).

Avoid background gridlines and other formatting that do not convey information (e.g., superfluous use of 3-dimensional formatting, background shadings). All images should be cropped to show only the area of interest and the anatomy necessary to establish a regional frame of reference. Although multipart figures are not preferred, if they are used, label multipart figures with capital letters (e.g., A, B, C, etc); do not exceed nine parts to one figure. If images are to be combined in one figure, they should be the same height and magnification to facilitate reproduction.

For advice on image enhancement and annotation refer to Corl FM, et al. A five-step approach to digital image manipulation for the radiologist. *RadioGraphics* 2002;22:981-992.

For further information, please see <https://www.elsevier.com/artwork>.

See also *Permissions*.

- Color artwork

If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) in addition to color reproduction in print. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print), please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

- Figure captions

Each illustration must be accompanied by a legend. These should be typed double-spaced on a separate page. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used. If an illustration has been taken from published or copyrighted material, the legend must give full credit to the original source and accompanied by signed, written permission from the copyright holder (see *Permissions* below).

- Artwork: General points
- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations to appear as a separate page in the manuscript file.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 ppi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1200 ppi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

- Tables

Number tables consecutively using Roman numerals in accordance with their appearance in the text.

Each table should be submitted as a separate file. Tables should be self-explanatory and should supplement, not duplicate, the text. All table reference citations should be repeats of numbers assigned within the text, not initial citations. A concise title should

be supplied for each table. All columns should carry concise headings describing the data therein. Type all footnotes immediately below the table and define abbreviations (see also Dental Nomenclature above). If a table or any data therein have been previously published, a footnote to the table must give full credit to the original source and accompanied by signed, written permission from the copyright holder (see *Permissions* below).

- Supplementary Data

To save print pages and/or shorten an article to a readable length while allowing for detailed information to be available to interested readers, authors are encouraged to provide information that is essential for the discussion of the results of the submission in the submission itself and utilize supporting information to describe experimental details and nonessential but useful information as Supplementary Material. If the manuscript is accepted for print publication, a reference to the online material will appear in the print version.

Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Upload material, figures, and tables for online publication under the submission item "Supplementary Material" through the Editorial Manager system. Be sure to change the description of the Supplementary Material to reflect the content; for example, Supplementary Detailed Methodology, Supplementary Figure Sx, Supplementary Table Sx.

Please order material such as Figures and Supplemental Figures separately in order of the callouts/first mentions in the text. For example: Figure 1, Figure 2; Supplemental Figure S1, Supplemental Figure S2, etc.

In the text be sure that you add behind the reference to the supplemental material "(Supplemental Table Sx; available at [URL/link*])." *To be provided by the production department.

- Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

- Preprint references

Where a preprint has subsequently become available as a peer-reviewed publication, the formal publication should be used as the reference. If there are preprints that are central to your work or that cover crucial developments in the topic, but are not yet formally published, these may be referenced. Preprints should be clearly marked as such, for example by including the word preprint, or the name of the preprint server, as part of the reference. The preprint DOI should also be provided.

- Reference Style

Text: Indicate references by superscript number(s) in the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

Example: '..... as demonstrated.^{3,6} Barnaby and Jones⁸ obtained a different result'

List: Number the references in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

1. J. van der Geer, J.A.J. Hanraads, R.A. Lupton, The art of writing a scientific article, J. Sci. Commun. 163 (2010) 51–59.

Reference to a book:

2. W. Strunk Jr., E.B. White, The Elements of Style, fourth ed., Longman, New York, 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

3. G.R. Mettam, L.B. Adams, How to prepare an electronic version of your article, in: B.S. Jones, R.Z. Smith (Eds.), Introduction to the Electronic Age, E-Publishing Inc., New York, 2009, pp. 281–304.

[dataset] 5. Oguro, M, Imahiro, S, Saito, S, Nakashizuka, T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

- Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

- Virtual Microscope images

The Virtual Microscope is an exciting feature that enables authors to add detailed slide images to their submissions and enables users to view the slides at their highest resolution. For more information about this feature, please see <https://www.elsevier.com/researcher/author/tools-and-resources/data-visualization/virtual-microscope>.

The slide images would be uploaded into a separate system; after the images are uploaded into the separate Virtual Microscope system, they will get a number, which you will then provide at the end of the related figure legends in the manuscript file: "A high resolution version of this slide is available as eSlide: VM00xxx." Replace the xxx with the assigned number.

In case you don't have a slide scanner available, we can arrange for the slides to be scanned and uploaded for you at no cost at the University of Chicago; when you contact virtualmicroscope@elsevier.com, let them know if you are interested in that option.

You are able to view Virtual Microscope images on the journal's ScienceDirect site, where articles with Virtual Microscope slides are free for 6 months after publication.

- Imaging Data DICOM Viewer

If your paper contains images generated from DICOM data, you may receive an invitation from the Section editor(s) after submission inviting you to complement your online article by providing volumetric radiological data of a case, a specific example, or multiple datasets in DICOM format. Readers will be able to interact, adjust, display, and view the DICOM data using an interactive viewer embedded within your article. Specifically, the viewer will enable users to explore the DICOM data as 2D orthogonal MPR series, 3D volume rendering and 3D MIP. Specific enhancements include zoom, rotate and pan 3D reconstructions, section through the volume, and change opacity and threshold level. Each DICOM dataset will have to be zipped in a folder and

uploaded to the online submission system via the "DICOM dataset" submission category. The recommended size of a single uncompressed dataset is 200 MB or less. Please provide a short informative description for each dataset by filling in the 'Description' field when uploading each ZIP file. Note: All datasets will be available for download from the online article on ScienceDirect, so please ensure that all DICOM files are **anonymized** before submission. For more information see: <https://www.elsevier.com/researcher/author/tools-and-resources/data-visualization>

- Video

OOOO encourages submission of content-rich video files that enhance clinical relevance/significance. For example, we prefer video clips with content in terms of demonstration of the technique or procedure discussed in the work and/or more details about the methodology.

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#).

Please supply a legend and a 'still' with each video file: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

- Permissions

Upload written permissions from the copyright holder to republish previously published material. Authors are responsible for obtaining and uploading any needed permissions and for clearly and completely identifying any overlapping material and/or quoted or

paraphrased passages with proper attribution in the text to avoid plagiarism (including self-plagiarism). The Permissions FAQ for Authors is available at <https://www.elsevier.com/authors/permission-seeking-guidelines-for-elsevier-authors>. For assistance, please contact Elsevier's Permissions Helpdesk: +1-800-523-4069 x 3808; +1-215-239-3805; permissionshelpdesk@elsevier.com

Written, signed permission(s) from the patient or legal guardian is/are required for publication of recognizable photographs. Clearly state in your cover letter that patient consent has been obtained and has been uploaded under "Permission/s." If it is impossible to obtain a consent form, the image(s) must be removed or sufficiently cropped to the area of interest only or otherwise changed so the patient cannot be recognized. However, blurring or placing bars over the eyes is no longer acceptable to eliminate the need for a signed consent form. The restrictions for photos have become very strict.

For more information, refer to <https://www.elsevier.com/about/company-information/policies/patient-consent>.

- Letters to the Editor

Letters to the Editor should be a succinct comment pertaining to a paper(s) published in the Journal within the past year or to related topics. Provide a unique title for the Letter on the title page with complete contact information for the author(s). Double-space the text of the Letter. References, including reference to the pertinent article(s) in the Journal, should conform to style for manuscripts (see *References*). If accepted, the author(s) of the pertinent article(s) may be contacted to prepare a response to the comment.

- Announcements

Announcements must be received by the Editorial Office at least 10 weeks before the desired month of publication. Items published at no charge include those received from a sponsoring society of the Journal; courses and conferences sponsored by state, regional, or national dental organizations; and programs for the dental profession sponsored by government agencies. All other announcements selected for publication by the Editor carry a charge of \$60 US, and the fee must accompany the request to publish.

- Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published

articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings, which may also include software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data page](#).

- Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

- Research elements

This journal enables you to publish research objects related to your original research - such as data, methods, protocols, software and hardware -- as an additional paper in a [Research Elements journal](#).

Research Elements is a suite of peer-reviewed, open access journals which make your research objects findable, accessible and reusable. Articles place research objects into context by providing detailed descriptions of objects and their application, and linking to the associated original research articles. Research Elements articles can be prepared by you, or by one of your collaborators.

During submission, you will be alerted to the opportunity to prepare and submit a manuscript to one of the Research Elements journals.

More information can be found on the [Research Elements page](#).

- Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

- Submission Checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

- ☐ Letter of submission, to include disclosure of any previous publications or submissions with any overlapping information
- ☐ Statement of clinical relevance (uploaded separately)
- ☐ Title page
- ☐ Title of article
- ☐ Full names(s), academic degree(s), affiliation(s) and titles of author(s)
- ☐ Author to whom correspondence, proof, and reprint requests are to be sent, including address and business and home telephone numbers, fax number, and e-mail address
- ☐ Any conflict of interest statement(s), disclosure(s), and/or financial support information, including donations
- ☐ Word count for the abstract (if relevant to article type), a complete manuscript word count (to include body text and figure legends), number of references, and number of figures/tables
- ☐ Structured abstract (double-spaced as part of manuscript file), as relevant to article type
- ☐ Article proper (double-spaced)
- ☐ Statement of IRB review and compliance with Helsinki Declaration (stated in Methods section of manuscript, as relevant)
- ☐ References (double-spaced on a separate page of the manuscript file)
- ☐ Figure legends (double-spaced, on a separate page of the manuscript file)
- ☐ Tables (double-spaced, uploaded separately as word processing [eg, .doc] files)

- ___ Illustrations, properly formatted (uploaded as separate files)
- ___ Video/computer graphics, properly formatted (uploaded as separate files)
- ___ Signed permission to reproduce any previously published material, in all forms and media (scanned in as a file and uploaded as Permission)
- ___ Signed permission to publish photographs of identifiable persons from the individual or legal guardian specifying permission in all forms and media (scanned in as a file and uploaded as Permission)

For any further information please visit our customer support site at <https://service.elsevier.com>.

- **After acceptance**

- Proofs

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors. If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

- **Author inquiries**

- Author Inquiries

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

ANEXO C – DIRETRIZES PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS NA JOURNAL OF *ORAL DISEASES*

Author Guidelines

The median processing time from submission to first decision for manuscripts submitted to *Oral Diseases* in the prior 12 months is 22 days.

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

Relevant Documents: [Online Open Order Form](#), [Standard Release Form for photographic consent](#)

Useful Websites: [Submission Site](#), [Articles Published in *Oral Diseases*](#), [Author Services](#), [Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

1. GENERAL

The editors encourage submissions of original articles, review articles, reports of meetings, book reviews and correspondence in the form of letters to the editor. *Oral Diseases* does not accept case reports.

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 *Oral Diseases*. Authors are encouraged to visit [Wiley-Blackwell Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

Avoiding allegations of plagiarism

The journal to which you are submitting your manuscript employs text matching software (iThenticate) to ensure against plagiarism. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published work. Authors should consider whether their manuscript may raise concerns via iThenticate, which will signal whether a paper is likely in any way to be plagiarized in a formal sense. iThenticate

will also, however, signal whether a paper may be plagiarized by repeating work of the submitting authors and thus be regarded as duplicate or redundant publication. Experience shows that, on occasion, large sections of submitted manuscripts can be close to verbatim in word choice from that seen in other papers from the authors' group. This has nothing to do with simple repetition of names/affiliations, but does involve common (not necessarily "standard") phrases that are more appropriately referenced instead of repeating. Alternatively, they can be rephrased differently. Previously published results, including numerical information and figures or images, should be labeled to make it clear where they were previously reported. Papers that present new analyses of results that have already been published (for example, subgroup analyses) should identify the primary data source, and include a full reference to the related primary publications. *Oral Diseases* will review and publish accepted manuscripts that report data included in conference proceedings in abstract form. In such cases, authors must be clear to readers that part of all of the manuscript's data have already been published in abstract form by so indicating using a footnote to the title that states the conference proceedings in which the relevant abstract was published. For full guidance on text matching and plagiarism, please refer to Section 3 ('Research Integrity') of Wiley's Ethics Guidelines at <https://authorservices.wiley.com/ethics-guidelines/index.html>.

2. ETHICAL GUIDELINES

Oral Diseases adheres to the ethical guidelines given below for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authorship: *Oral Diseases* adheres to the [International Standards for Authors](#) published by the Committee on Publication Ethics (COPE). All authors named on a paper should agree to be named on the paper, and all authors so named should agree to the submission of the paper to *Oral Diseases* and approve the submitted and accepted versions of the publication. Any change to the author list should be approved by all authors, including any author who has been removed from the list.

Oral Diseases also 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.

It is a requirement that the corresponding author submit a short description of each individual's contribution to the research and its publication. Upon submission of a manuscript all co-authors should also be registered with a correct e-mail addresses. If any of the e-mail addresses supplied are incorrect, the corresponding author will be contacted by the Journal Administrator.

Acknowledgements: Authors must acknowledge individuals who do not qualify as authors but who contributed to the research. Authors must acknowledge any assistance that they have received (e.g. provision of writing assistance, literature searching, data analysis, administrative support, supply of materials). If/how this assistance was funded should be described and included with other funding information. “Acknowledgements” should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. Where people are acknowledged, a covering letter demonstrating their consent must be provided.

2.2. Ethical Approvals

Human Subjects: Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2002) 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.

Photographs of People: Oral Diseases follows current HIPAA guidelines for the protection of patient/subject privacy. If an individual pictured in a digital image or photograph can be identified, his or her permission is required to publish the image. The corresponding author must either submit a letter signed by the patient authorizing Oral Diseases to publish the image/photo, or complete the 'Standard Release Form for photographic consent' available at the top of this page or by clicking the “instructions and Forms” link on the ScholarOne Manuscripts submission site. The approval must be received by the Editorial Office prior to final acceptance of the manuscript for publication. Otherwise, the image/photo must be altered such that the individual cannot be identified (black bars over eyes, tattoos, scars, etc.). Oral Diseases will not publish patient photographs that will in any way allow the patient to be identified, unless the patient has given their express consent.

Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

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

2.3 Clinical Trials

Clinical Trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) and [flowchart](#) should also be included in the submission material. Clinical trials can be registered in any free, public clinical trials registry such as <http://www.clinicaltrials.gov> or <http://isrctn.org/>. A list of further registries is available at <http://www.who.int/ictrp/network/primary/en/>. As stated in an editorial published in *Oral Diseases*(12:217-218), 2006), all manuscripts reporting results from a clinical trial must indicate that the trial was fully registered at a readily accessible website. The clinical trial registration number and name of the trial register will be published with the paper.

2.4 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.

2.5 Conflict of Interest and Source of Funding

All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Authors are also required to disclose any possible conflict of interest. These include financial (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee). Information on sources of funding and any potential conflict of interest should be disclosed at submission under the heading "Acknowledgements".

2.6 Appeal of Decision

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

2.7 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 and OnlineOpen

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. The corresponding author **MUST** submit the CTA as it is a requirement for publication.

For authors signing the copyright transfer agreement

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

CTA Terms and Conditions http://exchanges.wiley.com/authors/copyright-and-permissions_333.html.

Online Open

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley InterScience, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-406241.html>. Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp. Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

For authors choosing OnlineOpen

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

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services http://exchanges.wiley.com/authors/copyright-and-permissions_333.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 The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) 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>.

Additionally, authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Oral Diseases only accepts online submission of manuscripts. Manuscripts should be submitted at the online submission site: <http://mc.manuscriptcentral.com/odi>. Complete instructions for submitting a manuscript are available at the site upon creating an account. Assistance for submitting papers can be sought with the editorial assistant Lisa Walton at: odiedoffice@wiley.com

Upon successful submission, the journal administrator will check that all parts of the submission have been completed correctly. If any necessary part is missing or if the manuscript does not fulfil the requirements as specified below, the corresponding author will be asked either to adjust the submission according to specified instructions or to submit their paper to another journal.

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/odi>

- 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 as user, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under 'Password Help'. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Corresponding Author Centre'.

3.2. Submitting Your Manuscript

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

- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to register all of your co-authors with a functioning e-mail address. If the e-mail address is incorrect, you will be contacted by the journal administrator.
- 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.

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

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc/.docx) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be

automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, acknowledgements, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text file, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

3.4. Blinded Review

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

3.5. Suggest a Reviewer

Oral Diseases attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, you must suggest the names and current e-mail addresses of from 2-4 potential reviewers whom you consider capable of reviewing your manuscript in an unbiased way.

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

The average time from submission to first decision for manuscripts submitted to *Oral Diseases* is 20 days. You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To upload 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 Research Articles: Manuscripts reporting laboratory investigations, well-designed and controlled clinical research, and analytical epidemiology are invited. Studies related to aetiology, pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment are all of interest, but all papers must be based on rigorous hypothesis-driven research. Areas of interest include autoimmune, endocrine, genetic, infectious, metabolic and mucosal diseases; cancer and pre-cancerous conditions; chemosensory, developmental, geriatric and motor disorders, pain and wound healing. Randomised trials must adhere to the [CONSORT guidelines](#), and a [CONSORT checklist](#) and [flowchart](#) must be submitted with such papers. Please also refer to the notes under section 2.3 above. Observational studies must adhere to the [STROBE guidelines](#), and a [STROBE checklist](#) must be submitted with such papers. Diagnostic accuracy studies must adhere to the [STARD guidelines](#), and a [STARD checklist](#) must be submitted with such papers.

Review Papers: *Oral Diseases* commissions review papers and also welcomes uninvited reviews. Systematic reviews with or without meta-analyses must adhere to the [PRISMA guidelines](#), and a [PRISMA checklist](#) and [flowchart](#) must be submitted with such papers.

Letters to the Editors: Letters, if of broad interest, are encouraged. They may deal with material in papers published in *Oral Diseases* or they may raise new issues, but should have important implications. Only one letter may be submitted by any single author or group of authors on any one published paper.

Case Reports: *Oral Diseases* does not accept case reports and instead recommends that authors submit to [Clinical Case Reports](#) an open access journal published by Wiley.

Meeting Reports: Will be considered by the editors for publication only if they are of wide and significant interest.

Invited Concise Reviews: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only, and consist of around 2500-2750 words, with a maximum of one table or image and 25 references.

Invited Medical Reviews: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only, and consist of around 2500-2750 words, with a maximum of one table or image and 25 references.

Invited Commentaries: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

Invited Editorials: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

Invited Book Reviews: These may be submitted by invitation of the Senior Editors only.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Page Charge

Articles exceeding 6 published pages, including title page, abstract, references, table/figure legends and tables and figures, are subject to a charge of GBP70 per additional page. As a guide, one published page amounts approximately to 850 words, or two to four small tables/figures. Additional supplementary material (including text and figures), which does not fit within the page limits, can be published online only as supporting information.

5.2. Format

Language: Authors should write their manuscripts in British English using an easily readable style. Authors whose native language is not English should have a native English speaker read and correct their manuscript. Spelling and phraseology should conform to standard British usage and should be consistent throughout the paper. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Presentation: Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. 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.

Technical jargon: should be avoided as much as possible and clearly explained where its use is unavoidable.

Abbreviations: Oral Diseases adheres to the conventions outlined in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used.

5.3. Structure: All papers submitted to *Oral Diseases* should include:

- Title Page
- Structured Abstract (reviews need not include a structured abstract)
- Main text
- References
- (Figures)
- (Figure Legends)
- (Tables)

Title Page: should be part of the manuscript uploaded for review and include:

- A title of no more than 100 characters including spaces
- A running title of no more than 50 characters
- 3-6 keywords
- Complete names and institutions for each author
- Corresponding author's name, address, email address and fax number
- Date of submission (and revision/resubmission)

Abstract: is limited to 200 words in length and should contain no abbreviations. The abstract should be included in the manuscript document uploaded for review as well as separately where specified in the submission process. The abstract should convey the essential purpose and message of the paper in an abbreviated form set out under:

- Objective(s),
- Subject(s) (or Materials) and Methods,
- Results,
- Conclusions(s).

The Main Text of Original Research Articles should be organised as follows

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are inappropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation.

Materials and Methods must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This includes antibodies and the constructs used to make transgenic animals, although not the animals themselves. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

(i) Clinical trials: As noted above, these should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material. Clinical trials can be registered in any of the following free, public clinical trials

registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. As stated in an editorial published in *Oral Diseases* (12:217-218), 2006), all manuscripts reporting results from a clinical trial must indicate that the trial was fully registered at a readily accessible website. The clinical trial registration number and name of the trial register will be published with the paper.

(ii) Experimental subjects: As noted above, experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2002) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used. When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

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

Results: should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations.

Discussion: may usually start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results sections should be avoided. The section 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.

Acknowledgements: Should be used to provide information on sources of funding for the research, any potential conflict of interest and to acknowledge contributors to the study that do

not qualify as authors. All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Acknowledgements should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. Where people are acknowledged, a covering letter demonstrating their consent must be provided.

5.4. References

References should be prepared according to the *Publication Manual of the American Psychological Association* (6th edition). This means in-text citations should follow the author-date method whereby the author's last name and the year of publication for the source should appear in the text, for example, (Jones, 1998). For references with three to five authors, all authors should be listed only on the first occurrence of the in-text citation, and in subsequent in-text occurrences only the first author should be listed followed by '*et al.*'. The complete reference list should appear alphabetically by name at the end of the paper.

A sample of the most common entries in reference lists appears below. Please note that a DOI should be provided for all references where available. For more information about APA referencing style, please refer to the [APA website](#). Please note that for journal articles, issue numbers are not included unless each issue in the volume begins with page one.

Journal article

Example of reference with 2 to 7 authors

Beers, S. R., & De Bellis, M. D. (2002). Neuropsychological function in children with maltreatment-related posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 159, 483–486. doi: 10.1176/appi.ajp.159.3.483

Ramus, F., Rosen, S., Dakin, S. C., Day, B. L., Castellote, J. M., White, S., & Frith, U. (2003). Theories of developmental dyslexia: Insights from a multiple case study of dyslexic adults. *Brain*, 126(4), 841–865. doi: 10.1093/brain/awg076

Example of reference with more than 7 authors

Rutter, M., Caspi, A., Fergusson, D., Horwood, L. J., Goodman, R., Maughan, B., ... Carroll, J. (2004). Sex differences in developmental reading disability: New findings from 4 epidemiological studies. *Journal of the American Medical Association*, 291(16), 2007–2012. doi: 10.1001/jama.291.16.2007

Book edition

Bradley-Johnson, S. (1994). *Psychoeducational assessment of students who are visually impaired or blind: Infancy through high school* (2nd ed.). Austin, TX: Pro-ed.

5.5. Tables, Figures and Figure Legends

Figures: All figures and artwork must be provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS) and bitmap files (e.g. half-tones) or clinical or in vitro pictures in Tagged Image Format (TIFF).

Detailed information on our digital illustration standards can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

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

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

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

Color figures

Color figures may be published online free of charge; however, the journal charges for publishing figures in colour in print. If the author supplies colour figures at Early View publication, they will be invited to complete a colour charge agreement in RightsLink for Author Services. The author will have the option of paying immediately with a credit or debit card, or they can request an invoice. If the author chooses not to purchase color printing, the figures will be converted to black and white for the print issue of the journal.

Guidelines for Cover Submissions

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

Video Abstracts

Bring your research to life by creating a video abstract for your article! Wiley partners with Research Square to offer a service of professionally produced video abstracts. Learn more about video abstracts at www.wileyauthors.com/videoabstracts and purchase on for your article

at <https://www.researchsquare.com/wiley/> or through your Author Services Dashboard. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

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.

Proof Corrections

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to a website. A working e-mail 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 website: 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 their work, including changes made by the copy editor.

Early View (Publication Prior to Print)

Oral Diseases 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.

Author Services

Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with [Wiley-Blackwell's Author Services](#)