



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO ESTADO DO PARÁ
ÁREA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA

DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Análise da IL-10 em pacientes portadores do HIV-1 com
periodontite crônica no norte do Brasil.

RICARDO ROBERTO DE SOUZA FONSECA

Belém

2018

RICARDO ROBERTO DE SOUZA FONSECA

DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Análise da IL-10 em pacientes portadores do HIV-1 com
periodontite crônica no norte do Brasil.

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em odontologia, Mestrado Profissional em Clínica Odontológica para defesa do título de mestre em clínica odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Silvio Augusto Fernandes de Menezes.

Belém

2018

MESTRADO PROFISSIONAL EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

RICARDO ROBERTO DE SOUZA FONSECA

ANÁLISE DA IL-10 EM PACIENTES PORTADORES DO HIV-1 COM
PERIODONTITE CRÔNICA NO NORTE DO BRASIL.

Dissertação apresentada para obtenção do Título de mestre em clínica
odontológica

Data da defesa: 09.03. 2018

Conceito:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Silvio Augusto Fernandes de Menezes – Orientador
Centro Universitário do Estado do Pará

Prof. Dr. Aluísio Celestino Ferreira Júnior
Centro Universitário do Estado do Pará

Profa. Dra. Tânia Maria de Souza Rodrigues
Centro Universitário do Estado do Pará

Dedico este trabalho aos meus pais
e irmã pois são eles o meu maior e
único tesouro e riqueza.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade, pela fé e dom da vida.

Aos meus pais, Ana e Roberto infinita gratidão pela minha educação, pelo apoio, incentivo, suporte, pelas broncas, pelo esforço para a realização deste sonho e pelos exemplos de caráter e fibra.

A minha irmã Mariana com quem sempre implico, mas que sei ser minha eterna amiga e irmã companheira, então assim mostrando sentimento de fraternidade e amparo.

Agradecimento especial a grande amiga Maria da Luz, que ao longo dos meus 22 anos foi amiga, companheira, conselheira e irmã. Sempre juntos em todos os momentos.

Ao grande amigo João da Luz pelo apoio, incentivo, palavras amigas, pelos conselhos, pelos puxões de orelha e brincadeiras infinitas.

A avó Maria, pelo ombro amigo, pelos conselhos, orientações e amizade sem censuras. Por ser essa avó incrível de coração.

Ao professor, orientador, amigo e pai adotivo Silvio Augusto Fernandes de Menezes pela disponibilidade, paciência, dedicação e todo ensinamento repassado para a realização, não só deste trabalho, mas para meu aprendizado do conhecimento na periodontia e da vida.

Ao professor Jorge Nogueira pelos ensinamentos, conselhos e dicas para odontologia e para vida, sempre um verdadeiro mestre.

Ao professor e amigo (apesar de ser remista) Lucas Pinheiro por mostrar que a odontologia pode ser algo novo, inovador e atual. Também por mostrar conhecimentos acima do necessário e incentivo para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos professores Armando Lopes Neto, Paula Gabriela Pessoa e Gabriel Bastos todos os agradecimentos possíveis pois contribuíram imensamente para minha pós-graduação e crescimento profissional e por mostrarem que a periodontia não é apenas uma ciência mas também um meio aonde podemos fazer amizades.

Ao chefe e amigo Antônio Cerejo Filho por acreditar em mim quando ninguém o quis, por prover a possibilidade de trabalhar e ensinar sobre a vida e odontologia.

Aos Chefes e amigos Roberta e Ricardo Reis por acreditarem em minha proposta de trabalho e capacidade técnica, por me darem um box meu e por aceitarem minhas ideias malucas para inovar a odontologia.

A minha grande amiga e agora 1ª tenente do exército Brenna Nogueira que a anos temos uma amizade sincera e forte, a qual passamos por muitas coisas e unidos sempre vencemos, hoje apesar de estarmos longe pela distância entre cidades nossa amizade permanecerá forte e eterna.

A uma de minhas melhores amigas Thais Almeida a famosa mucura que sempre foi uma grande amiga a qual tivemos a honra de compartilhar momentos de alegria e choros provocados por mim, pudemos acompanhar o crescimento pessoal e profissional de ambos demonstrando sempre uma amizade inquebrável.

A grande amiga e eterna dupla de mestrado Juliana Oliveira por me aturar, pelos momentos de diversão, pelas grandes enrolações nos seminários, pelas queimações no instagram e por ser essa amiga inseparável.

Ao casal de amigos Ana Raquel e Charles Miranda pelos momentos de descontração, pelos convites a ccxp, pela ajuda na vida pessoal e profissional, além da compreensão de toda a nerdice.

A todos os verdadeiros amigos e colegas do mestrado Erich, Tabata, Mariana, Camila, Larissa, Andréia, Márcio, Seu Carlos, Bia, Diego, Cinthia, Naama e Tamara pelo caminhar junto nesta trajetória, em todos os momentos de alegria e desespero principalmente nos seminários, por compartilhar seus conhecimentos, pelos kilos a mais ganhados ao longo desses 2 anos, pelas brincadeiras, artigos publicados e historias sem fim, vocês são a família que papai do céu e o cesupa me deram levo a todos no coração.

As amigas e verdadeiros anjos da guarda Josy e Priscila que sempre me ajudaram, me aturaram e sempre foram verdadeiros anjos da guarda nos 7 anos de cesupa, quero que saibam de coração que amo vocês duas.

A todos os professores titulares do mestrado Tânia, Renata, Jesus, Aluísio, Oscar, Sandro, Patrícia do Centro e aos professores convidado tenho enormes agradecimentos a todos pelos ensinamentos e pelo engrandecimento cultural e intelectual na minha vida acadêmica, pessoal e profissional.

Por fim, agradeço a todas as pessoas não citadas nominalmente, mas que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho e da minha carreira profissional, meu muito obrigado!

*“Muitas vezes a paz que você procura
está no F***-se que você não diz.”*

Autor desconhecido

RESUMO

Objetivo: o objetivo deste estudo foi investigar os níveis de IL-10 no fluido crevicular gengival em pacientes portadores do HIV-1, com periodontite crônica e comparar com pacientes não portadores do HIV-1 com periodontite crônica, também procuramos correlacionar os parâmetros clínicos periodontais, carga viral e contagem de linfócitos TCD₄⁺ e TCD₈⁺ (LTCD₄⁺ e LTCD₈⁺). **Materiais e Métodos:** 33 pacientes foram selecionados e divididos em dois grupos: G1: 16 pacientes portadores do HIV-1 e com periodontite crônica, no G2: 17 pacientes não portadores do HIV-1 com periodontite crônica. Os parâmetros clínicos periodontais registrados foram: Profundidade de sondagem (PS) e Nível Clínicos Inserção (NCI); os parâmetros sistêmicos LTCD₄⁺, LTCD₈⁺ e a carga viral foram selecionados e analisados através do fluido crevicular gengival coletado de todos os pacientes. O ensaio imunoenzimático ELISA foi utilizado para determinar as concentrações da Interleucina 10 (IL-10). Para a análise estatística foram realizados os testes T-Student, Mann-Whitney e Spearman. Os níveis de IL-10 foram significativamente menores em ambos os grupos de pacientes. **Resultados:** houve diferença estatística entre grupos de profundidade de sondagem ($p = 0,015$) e nível clínicos inserção ($p = 0,011$), não foram encontradas correlações significativas entre as variáveis analisadas. **Conclusão:** os níveis de IL-10 em pacientes HIV-1 positivos não tiveram influência nos parâmetros periodontais e imunológicos.

Descritores: Interleucina-10, HIV e periodontite crônica.

ABSTRACT

Aim: The objective of this study was to investigate the levels of IL-10 in the gingival crevicular fluid in HIV-1 positive patients with chronic periodontitis and to compare with HIV-1 negative patients with chronic periodontitis, also to correlate clinical periodontal parameters, viral load and count of CD₄⁺ and CD₈⁺ lymphocytes (LTCD₄⁺ and LTCD₈⁺). **Methods:** 33 patients were selected and splitted into two groups: 16 HIV-1 positive patients and 17 HIV-1 negative patients and all with chronic periodontitis. The clinical periodontal parameters recorded were: Probing Depth (PD) and Clinical Attachment Level (CAL); the sistemical parameters LTCD₄⁺, LTCD₈⁺ and viral load were analized by the gingival crevicular fluid collected from all patients. Enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the concentrations of Interleukin (IL)-10. For the statistical analysis the Student t, Mann-Whitney and Spearman tests were performed. IL-10 levels were significantly lower in both patients groups. **Results:** There was statistical difference between groups for probing depth ($p=0.015$) and clinical attachment level ($p=0.011$), no significant correlation was found among the analyzed variables. **Conclusion:** The IL-10 levels in HIV-1 positive patients had no influence in periodontal and immonological parameters.

Keywords: Interleukin-10, HIV and Chronic Periodontitis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HIV-1 Vírus da imunodeficiência Humana tipo 1

AIDS Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

LTCD₄⁺ Linfócito T helper CD₄⁺

LTCD₈⁺ Linfócito T helper CD₈⁺

DNA Ácido Desoxirribonucléico

TARV Terapia Antirretroviral

FCG Fluido Crevicular Gengival

IL-10 Interleucina 10

PS Profundidade de Sondagem

NCI Nível Clínico de Inserção

EC Examinador Calibrado

IFN Interferon

LTH Linfócito T helper

ELISA Ensaio de imunoabsorção enzimática

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

1. Tabela 1- legenda.....7
2. Tabela 2- legenda.....7

SUMÁRIO

1. Introdução/Objetivo.....	1
2. Metodologia.....	3
2.1 Seleção da amostra.....	3
2.2 Coleta das amostras.....	4
2.3 Parâmetros clínicos.....	4
2.4 Coleta do fluido crevicular gengival.....	4
2.5 Teste de ELISA para quantificação da IL-10.....	4
2.6 Contagem de linfócitos e carga viral.....	5
2.7 Quantificação de linfócitos TCD ₄ ⁺ e TCD ₈ ⁺	5
2.8 Quantificação da carga viral plasmática do HIV-1.....	5
2.9 Análise estatística.....	5
3. Resultados.....	6
4. Discussão.....	8
5. Referências bibliográficas.....	11
6. Anexos (normas da revista).....	14
7. Manuscrito publicado.....	24

Introdução

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é caracterizada por um estado avançado de imunodepressão, esta patologia é considerada um grave problema de saúde pública mundial, estima-se que cerca de 34 milhões de pessoas são infectadas pelo HIV em todo o mundo¹. Apesar da redução na morbidade e mortalidade dos pacientes usuários da Terapia Antirretroviral (TARV), ainda existem um grande número de indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana 1 (HIV-1)^{2,3}.

O HIV-1 infecta, principalmente, os linfócitos TCD₄⁺ (LTCD₄⁺) e TCD₈⁺ (LTCD₈⁺) também conhecido como linfócito T *helper* (LTh) e a diminuição do número dessas células pode contribuir para o aparecimento de diversas infecções oportunistas e várias patologias, tal como a periodontal doença⁴. De acordo com Chin⁵ (2017), a imunodeficiência causada pelo HIV-1 pode ter uma influência direta na patologia da doença periodontal.

As manifestações periodontais são reconhecidas como características importantes e estão amplamente associadas à imunossupressão causada pelo HIV-1 e podem ser consideradas um dos primeiros sinais clínicos de infecção pelo HIV-1, que pode ser atenuado pelo uso de TARV⁶. De acordo com Elizondo et al.⁷ (2017), a presença de gengivite e a severidade da periodontite, são indicadas pela perda de inserção, destruição óssea e aumento da Profundidade de Sondagem (PS), estando diretamente relacionada a AIDS.

A periodontite, quando instalada, tem em seu Fluido Crevicular Gengival (FCG) várias proteínas ligadas ao processo inflamatório, como as citocinas, o que podem ser benéficas para diagnosticar o estado atual do periodonto, bem como os efeitos da terapia periodontal⁸.

Dentre as citocinas presentes no FCG, cita-se a presença da Interleucina 10 (IL-10). A IL-10 é uma importante citocina supressora da atividade inflamatória, modulando a produção e secreção de outras citocinas. Os LTh₂ ativados secretam a IL-10 que age inibindo a resposta citotóxica do LTCD₈⁺, causando imunossupressão. A IL-10 também inibe a produção de interferon (IFN) pelos linfócitos T, co-estimula a proliferação e diferenciação de

linfócitos B e suprime a produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias, constituindo um importante supressor da imunidade celular^{8,9}.

A susceptibilidade e extensão da destruição tecidual parecem ser determinadas pelo complexo equilíbrio de citocinas produzidas na presença de inúmeras interações entre diferentes tipos de micro-organismos periodontais. Quando a resposta do hospedeiro é exacerbada, esta pode levar ao dano tecidual, causando perda de suporte periodontal. O estudo dos mediadores inflamatórios associados à doença periodontal, pelos métodos imunológicos ou bioquímicos, permite a avaliação da resposta do hospedeiro frente a estas patologias^{10,11}.

Desta forma, o conhecimento das citocinas envolvidas na progressão ou não da doença periodontal, principalmente em portadores do HIV-1 é de fundamental importância para uma melhor conduta terapêutica e, conseqüentemente, a qualidade de vida desses pacientes¹¹. Objetivando contribuir para a caracterização do perfil de citocinas apresentadas por pacientes portadores do HIV-1 com periodontite crônica, o propósito deste estudo foi investigar os níveis de IL-10 no fluido crevicular gengival em pacientes portadores do HIV-1 com periodontite crônica e comparar com pacientes não portadores do HIV-1 com periodontite crônica e correlacionar os parâmetros periodontais, carga viral e contagem de linfócitos TCD₄⁺ e TCD₈⁺.

Metodologia

Seleção da amostra

O tamanho da amostra foi calculado de acordo com a média e desvio padrão de ambos os grupos pelo teste de amostra T-Student. O nível de significância foi de 5%, com um efeito de 0,80. Considerando um poder estatístico de 95%, o tamanho da amostra foi fixado em 16 pacientes por grupo. Trinta e três indivíduos com periodontite crônica, com idade entre 34 e 60 anos foram selecionados. Destes, 16 pacientes eram pacientes portadores do HIV-1 e usuários regulares da TARV, todos os pacientes selecionados usaram o mesmo medicamento durante o mesmo período. Os outros 17 pacientes não eram portadores do HIV-1. Todos os pacientes apresentavam pelo menos 20 dentes, sem terapia periodontal por cerca de 1 ano. Os sítios de coleta tiveram uma PS superior ou igual a 5 mm e radiograficamente deveriam apresentar destruição óssea. Os dentes selecionados para a coleta de FCG eram todos naturais, intactos, sem prótese e não apresentaram disfunção em relação à oclusão¹².

A periodontite foi diagnosticada com base no estudo de Armitage¹³ (1996). As amostras foram coletadas por um único Examinador Calibrado (EC), que já havia sido calibrado em estudos clínicos anteriores. A avaliação foi feita usando uma sonda periodontal milimetrada de Williams (*Hu-Friedy, Chicago, IL, EUA*), um espelho bucal e pinças clínicas, todas estéreis e com auxílio de materiais descartáveis, sob iluminação natural. Os seguintes parâmetros clínicos periodontais foram avaliados: Nivel Clínico de Inserção (NCI) e Profundidade de Sondagem (PS). Os exames foram realizados aleatoriamente apenas na região póstero-superior, utilizando molares pertencentes a dois quadrantes diferentes, a sonda periodontal de Williams foi introduzida gentilmente em cada um dos sítios. Os sítios de coleta foram escolhidos pelo EC com base em análise de parâmetros periodontais e presença da bolsa periodontal ≥ 5 mm.

Para confirmar que os indivíduos do grupo controle eram soronegativos, amostras de sangue foram coletadas e foram enviadas ao laboratório de análise clínica para diagnóstico. Um teste de imunoenzimático do tipo ELISA foi

realizado (*DiaSorin, anti-HIV tetra Elisa, Biotest, Alemanha*), a qual inclui antígenos recombinantes, um do envelope e dois antígenos da cápside viral⁷.

Na probabilidade de uma amostra positiva de HIV-1, as amostras de sangue seriam submetidas ao exame sorológico para anticorpos anti-HIV com a método imunoenzimático de micropartículas (*Axsym-System-Abbott, Alemanha*), seguida da confirmação pela imunofluorescência indireta.

Foram excluídos deste estudo: grávidas, lactantes, diabéticos, fumantes, pacientes em terapia antimicrobiana sistêmica ou local, terapia hormonal ou qualquer outro analgésico e fármaco anti-inflamatório com um intervalo de pelo menos 30 dias até a coleta da amostra¹².

Coleta das amostras

Parâmetros clínicos

Os parâmetros clínicos foram avaliados em todos os dentes, excluindo os terceiros molares, e incluídos os parâmetros: PS e NCI. Foram examinados seis pontos em cada dente: mesio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, lingual e mesio-lingual. O EC avaliou os pacientes e coletou os dados clínicos. Os dados foram coletados e a média entre os locais examinados foi dividida pelo número de dentes examinados por paciente.

Coleta do Fluido Crevicular Gengival

As amostras de FCG foram obtidas a partir de 2 sítios nos locais acometidos pela doença periodontal, sendo preferencialmente os sulcos gengivais mesio-vestibulares dos dentes 16 e 26. Após isolar o dente com um rolo de algodão, supragengival e remoção da placa com curetas de gracey (*Hu Friedy, Gracey, IL, EUA*), na gengiva marginal. O sítio crevicular foi suavemente seco com uma seringa de ar. O FCG foi coletado com pontas de papel absorvente (*ProFlow, Amityville, NY, EUA*). As pontas de papel foram introduzidas no sulco até sentir-se uma leve resistência e após isso permanecer com a ponta no sulco por por 30 segundos. Pontas contaminadas por saliva ou sangue foram excluídos do grupo amostrado. Cada ponta foi colocada em um tubo de poliestireno estéril (*Eppendorf, Sigma, CA, EUA*) que foi selado e identificado com dados do paciente e o local onde a amostra foi coletada¹².

Teste ELISA para quantificação da IL-10

A concentração do mediador imunoinflamatório presente no FCG foi avaliado pelo ensaio de imunoabsorção enzimática ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), seguindo as instruções do fabricante (*eBioscience, 10240 Science Center, San Diego, CA, EUA*). Todos os experimentos foram realizados em duplicatas para cada triplicata biológica.

Contagem de linfócitos e carga viral

O grau de comprometimento do sistema imunológico foi avaliado através dos níveis de $LTCD_4^+$ e $LTCD_8^+$, bem como a carga viral presente nos prontuários de pacientes portadores do HIV-1 envolvido na pesquisa. Os exames foram obrigatoriamente realizados pelo menos 30 dias antes das amostras serem coletadas.

As contagens foram registradas nos registros médicos individuais dos pacientes, para serem relacionadas com a IL-10 encontrada no FCG, bem como o nível de comprometimento clínico do periodonto.

Quantificação de linfócitos TCD_4^+ e TCD_8^+

As amostras de sangue de indivíduos soropositivos foram quantificadas por contagem de linfócitos T usando a técnica de citometria de fluxo (*FacsCalibur, Becton e Dickinson, EUA*), usando o kit *BD Trucount™ Tubes e BD multitest*, de acordo com o protocolo padrão recomendado pelo fabricante (*Becton Dickinson, USA*) e utilizado na Rede Nacional de quantificação de linfócitos TCD_4^+ e TCD_8^+ ¹².

Quantificação da carga viral plasmática do HIV-1

A carga viral plasmática nos indivíduos portadores do HIV-1 foi determinada pelo método *branched DNA (bDNA)*, utilizando o kit *Versant® HIV-1 RNA 3.0 Assay bDNA (Bayer Corporation, Massachusetts, USA)*, através do equipamento de leitura *System 340 bDNA Analyzer (Siemens, Deerfield, USA)*.

Análise estatística

Os dados sobre o nível de IL-10, os indicadores sorológicos e os parâmetros clínicos da periodontite crônica foram submetidos a análises descritivas e inferenciais. Para determinar a proporção entre pacientes dos

diferentes gêneros que compuseram os dois grupos. Foi utilizado o teste Qui-quadrado pacientes portadores do HIV-1 e não portadores. Para verificar qualquer diferença de idade entre os pacientes de ambos os grupos, o teste T-Student foi utilizado. Para Comparar os parâmetros clínicos da periodontite crônica (PS e NCI) e o nível da IL-10, entre pacientes portadores do HIV-1 e não portadores, os testes T-Student e Mann-Whitney foram aplicados. O teste de Spearman foi utilizado para verificar correlações entre os parâmetros clínicos periodontais e níveis da IL-10. Esses testes também foram usados para avaliar a correlação entre a carga viral e os indicadores sorológicos (LTCD₄⁺ e LTCD₈⁺) com Níveis de IL-10. O nível de significância adotado foi de 5%, e os cálculos estatísticos foram realizado no programa SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

Resultados

Dos 33 pacientes, o número de portadores do HIV-1 foi de 9 do gênero masculino (58,3%) e 7 do sexo feminino (41,6%), com a média de 47,1 (\pm 6,7) anos. Os pacientes soronegativos, 9 eram do sexo masculino (52,9%) e 8 do sexo feminino (47,1%), com a média de 47,0 (\pm 5,4) anos. O teste qui-quadrado não mostrou diferença significativa entre os grupos quanto à proporção de participantes do sexo masculino e feminino ($p = 1.000$). O T-Student indicou que não houve diferença significativa na idade entre os pacientes pertencentes aos grupos de portadores do HIV-1 e não-portadores do HIV-1 ($p = 0,971$). O T-Student mostrou que o NCI ($p = 0,011$) e a PS ($p = 0,015$) foram significativamente diferentes e maiores em pacientes portadores do HIV-1. O teste de Mann-Whitney revelou que o nível de IL-10 não apresentou diferença significativa entre os dois grupos estudados, como demonstrado na tabela 1.

Não foi encontrada correlação significativa entre IL-10 e a NCI no grupo de pacientes portadores do HIV-1 e no grupo controle. Os níveis de IL-10 também não foram correlacionados com a PD em ambos grupos. A quantidade de LTCD₄⁺ não apresentou correlação significativa com o nível de IL-10. Quanto a LTCD₈⁺, sua quantidade não teve correlação com a concentração da citocina estudada. A carga viral não teve correlação com o nível de IL-10. Estes resultados são demonstrados na tabela 2.

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão da citocina e dos parâmetros clínicos de periodontite crônica entre pacientes soropositivos e soronegativos para HIV-1.

Parâmetro	HIV ⁺	HIV ⁻	p valor
Nível clínico de inserção (mm)	7,1 (0,7)	6,4 (0,8)	p = 0,011*
Profundidade de sondagem (mm)	6,6 (0,7)	5,9 (0,7)	p = 0,015**
IL-10 (pg/mL)	1,23 (1,97)	0,60 (0,07)	p = 0,452***

* Valores de p com base no teste t de Student.

** Valor de p com base no teste de Mann-Whitney

*** significativo ao nível de 5%.

Tabela 2 – Resultados do teste de correlação de Spearman entre a IL-10 e os parâmetros clínicos de periodontite crônica, a sorologia e a carga viral em indivíduos portadores e não portadores do HIV-1.

	Parâmetro				
	Nível clínico de inserção	Profundidade de sondagem	LTCD4 ⁺	LTCD8 ⁺	Carga viral
HIV⁺	p = 0,794	p = 0,514	p = 0,569	p = 0,629	p = 0,894
HIV⁻	p = 1,000	p = 1,000	-	-	-

* significativa ao nível de 5%.

Discussão

Normalmente, pacientes portadores do HIV-1 apresentam uma periodontite mais severa. Esta condição sistêmica agrava a perda do NCI, comete o aumento da os podendo levar a uma recessão gengival e em estágios avançados leva a perda dentária. Devido a imunossupressão dos pacientes, aumento da carga viral e invasão difusa no tecido gengival por bactérias oportunistas, fungos e vírus, presentes na periodontite, nesses indivíduos há uma maior resposta inflamatória nos tecidos e uma destruição óssea considerável¹³.

Em pacientes não portadores do HIV-1 quando acometidos pela periodontite, no FCG várias citocinas ligadas ao processo inflamatório, como a IL-10, atuam em atividades imunológicas, processos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios nos tecidos periodontais para proteger contra a atividade microbiana¹⁴.

No entanto, em indivíduos portadores do HIV-1, estas reações imunológicas são comprometidas levando a uma maior severidade e progressão acelerada da periodontite, pois a progressão da doença é determinada por fatores relacionados à resposta imune do hospedeiro e a virulência da bactéria. Por esse motivo, características biológicas e imunológicas como citocinas são estudadas na tentativa de avaliar melhor o comportamento do sistema imunológico em pacientes portadores do HIV-1¹⁵.

A interleucina-10 é uma citocina anti-inflamatória que inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias¹⁵. A IL-10 pode atenuar a resposta inflamatória e exercer um efeito imunossupressor e imunoestimulante, atuando em uma grande variedade de tipos celulares¹⁶. Também atua como reguladora da resposta imune inata e adquirida, a IL-10 suprime a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, induz a proliferação de linfócitos B e ativação de células natural killer^{16,17}.

Com base em suas atividades biológicas, é evidente que a redução da produção de IL-10 está associada, com maior susceptibilidade, a qualquer tipo de doença infecciosa¹⁵. Por isso, alguns estudos analisaram a participação desta citocina em doenças infecciosas como as doenças periodontais e peri-

implantes^{16,17}. A periodontite é provavelmente a doença crônica mais comum em adultos. Vários estudos mostraram que o perfil das citocinas produzidas localmente pode ser relevante para a destruição periodontal¹⁸.

Neste estudo, a NCI e a PS foram significativamente maiores em pacientes portadores do HIV-1 em comparação com os pacientes não portadores do HIV-1, o que demonstra a interferência da infecção pelo HIV-1 na história natural da doença periodontal^{10,18}. No entanto, essa relação não é bem definida em estudos predecessores¹⁹.

O presente estudo utilizou parâmetros clínicos periodontais tradicionais para determinar o nível da IL-10 em pacientes portadores do HIV-1 e em pacientes não portadores do HIV-1 com periodontite crônica. Os parâmetros escolhidos para a análise consideram a realidade das clínicas públicas ou privadas, onde métodos simples e rápidos são utilizados para acompanhamento clínico. A IL-10 avaliada no presente estudo, não apresentou diferenças significativas nos grupos estudados em relação com os parâmetros clínicos¹⁵⁻²⁰.

A IL-10 suprime a resposta imune e, assim, modula a produção de outras citocinas, de acordo com Ujiie et al.²¹ (2016) e Jaradat et al.²² (2012), existe um aumento dos níveis de IL-10 na presença da infecção pelo HIV. Em contraste, Teles et al.²³ (2009) não obtiveram níveis relevantes de IL-10, o que corrobora com a presente pesquisa que obteve níveis baixos de IL-10 em portadores e não portadores do HIV-1. Neste estudo, a IL-10 mostrou níveis baixos em pacientes portadores do HIV-1 e não portadores; Estes níveis mais baixos de IL-10 são característicos do declínio na resposta Th₂, e também foram observados por Silveira et al.¹⁷ (2016), Cullinan et al.²⁴ (2008) e Lappin et al.²⁵ (2001), o que pode sugerir uma deficiência no controle da resposta imune dirigida contra agentes patogênicos, resultando em uma inflamação exacerbada.

De acordo com Silveira et al.¹⁷ (2016), as características de quimioatração de células produtoras de IL-10 podem controlar o potencial destrutivo da doença. Como a IL-10 está associada com supressão da reabsorção óssea, sua baixa expressão em pacientes com periodontite crônica seria relacionada à forma mais grave da doença.

Os níveis baixos de IL-10 foram encontrados em ambos os grupos. Como a citocina estudada está envolvida na regulação das respostas inflamatórias, sugere-se que os baixos níveis desta molécula, observados entre pacientes com periodontite crônica, contribuem para o desenvolvimento e agravamento da doença. Também como resultado, a IL-10 não mostrou diferença significativa com a carga viral^{23,24}.

A análise do perfil de citocinas na periodontite crônica não visa substituir os exames clínicos rotineiramente utilizados, mas pode complementar a avaliação clínica, esta análise poderia ajudar no diagnóstico e no desenvolvimento de possíveis intervenções terapêuticas a periodontite. Os dados clínicos correlacionados aos níveis de citocinas no FCG podem elucidar o padrão da resposta imune local, auxiliando uma melhor compreensão da patogênese da periodontite, especialmente em indivíduos com outras infecções crônicas, como a infecção causada pelo HIV-1²⁴⁻²⁶.

A doença periodontal demonstrou ser mais severa em pacientes portadores do HIV-1 com periodontite, esperava-se que os níveis de IL-10 fossem menores pois é uma citocina com atividade antiinflamatória inata e adquirida. No entanto, os resultados no presente manuscrito concluem que esta citocina não interfere na atividade e severidade da doença periodontal de pacientes imunocomprometidos. Os níveis de IL-10 no fluido crevicular gengival não teve influência nos parâmetros clínicos periodontais, de acordo com nossos resultados, não conseguimos encontrar correlações entre os níveis séricos de linfócitos, carga viral e os níveis da IL-10.

Referências bibliográficas

1. Rodrigues R de O, Carvalho PG, Arruda EA, Rabenhorst SH, Silva SF, Ribeiro IF, et al. Interleukin-10 gene polymorphism (-1082G/A) and allergy to efavirenz in patients infected with human immunodeficiency virus. *Braz J Infect Dis*. 2014 Jul-Aug;18(4):445-8.
2. Freitas FB, Lima SS, Feitosa RN, Azevedo VN, Ishak Mde O, Ishak R, et al. Polymorphisms in the IFN γ , IL-10, and TGF β genes may be associated with HIV-1 infection. *Dis Markers*. 2015;2015:248571.
3. Singh S, Sharma A, Arora SK. Combination of low producer AA-genotypes in IFN- γ and IL-10 genes makes a high risk genetic variant for HIV disease progression. *Cytokine*. 2016 Jan;77:135-44.
4. Jegede FE, Oyeyi TI, Abdulrahman SA, Mbah HA, Badru T, Agbakwuru C, et al. Effect of HIV and malaria parasites co-infection on immunehematological profiles among patients attending antiretroviral treatment (ART) clinic in Infectious Disease Hospital Kano, Nigeria. *PLoS One*. 2017 Mar 27;12(3):e0174233.
5. Chin BS. Molecular Epidemiology of Human Immunodeficiency Virus. *Infect Chemother*. 2017 Mar;49(1):1-9.
6. Noguera-Julian M, Guillén Y, Peterson J, Reznik D, Harris EV, Joseph SJ, et al. Oral microbiome in HIV-associated periodontitis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Mar;96(12):e5821.
7. Elizondo JE, Rocha-Pizaña MD, Treviño AC, Violant D, Álvarez MM, Rivas-Estilla AM. Potential gingival crevicular fluid and serum biomarkers by stage of HIV infection. *Cytokine*. 2017 Mar;91:96-103.
8. Bing XJ, Sun XJ, Shen GH, Xie H, Ma MY. [Levels of IL-8,IL-10 in patients with chronic periodontitis and coronary heart disease]. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2015 Oct;24(5):598-601. Chinese.
9. Zhang Q, Chen B, Zhu D, Yan F. Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with diferente periodontalconditions: A cross-sectional study. *Arch Oral Biol*. 2016 Dec;72:92-8.
10. Guimarães G, Franco GCN, Cortelli JR, Cogo K, Costa FO, Aquino DR, et al. [Subjects harboring HIV show poor clinical periodontal condition and higher prevalence of Porphyromonas gingivalis and Tannerella

- forsythia]. Rev Odontol UNESP. 2012 Jan-Feb;41(1):15-21. [Portuguese].
11. Jiang C, Liu S, Liu S, Li Z, Chen P, Chen L. Association Between the Interleukin-10-1082G/A, -592C/A,-819C/T Gene Polymorphism and HIV-1 Susceptibility: A Meta-Analysis. AIDS Res Hum Retroviruses. 2017 Jan;33(1):61-7.
 12. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-6 and interleukin-8 levels in chronic periodontitis. Int J Dent. 2012;2012:362905.
 13. Armitage GC. Periodontal diseases: diagnosis. Ann Periodontol. 1996 Nov;1(1):37-215.
 14. Severino VO, Beghini M, de Araújo MF, de Melo ML, Miguel CB, Rodrigues WF, et al. Expression of IL-6, IL-10, IL-17 and IL-33 in the peri-implant crevicular fluid of patients with peri-implant mucositis and peri-implantitis. Arch Oral Biol. 2016 Dec;72:194-9.
 15. Pirim Gorgun E, Toker H, Korkmaz EM, Poyraz O. IL-6 and IL-10 gene polymorphisms in patients with aggressive periodontitis: effects on GCF, serum and clinic parameters. Jan 16;31:e12.
 16. Passoja A, Puijola I, Knuutila M, Niemelä O, Karttunen R, Raunio T, et al. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α in chronic periodontitis. J Clin Periodontol. 2010 Oct;37(10):881-7.
 17. Silveira VR, Pigossi SC, Scarel-Caminaga RM, Cirelli JA, Rêgo R, Nogueira NA. Analysis of polymorphisms in Interleukin 10, NOS2A, and ESR2 genes in chronic and aggressive periodontitis. Braz Oral Res. 2016 Oct 10;30(1):e105.
 18. Moretti S, Bartolommei L, Galosi C, Renga G, Oikonomou V, Zamparini F, et al. Fine-tuning of Th17 Cytokines in Periodontal Disease by IL-10. J Dent Res. 2015 Sep;94(9):1267-75.
 19. John CN, Stephen LX, Joyce África CW. Is human immunodeficiency virus (HIV) stage an independent risk factor for altering the periodontal status of HIV-positive patients? A South African study. BMC Saúde Oral 2013 Dez 3;13:69.
 20. Dmello DM, Ariyanto I, Estiasari R, Halstrom S, Gaff J, Lee S, et al. Polymorphisms in IL10 may alter CD4 T-cell counts in Indonesian HIV

- patients beginning antiretroviral therapy. *Hum Immunol.* 2017 Apr;78(4):387-90.
21. Ujiiie Y, Karakida T, Yamakoshi Y, Ohshima T, Gomi K, Oida S. Interleukin-4 released from humangingival fibroblasts reduces osteoclastogenesis. *Arch Oral Biol.* 2016 Dec;72:187-93.
 22. Jaradat SM, Ababneh KT, Jaradat SA, Abbadi MS, Taha AH, Karasneh JA, et al. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis. *Oral Dis.* 2012;18(3):271-9.
 23. Teles RP, Likhari V, Socransky SS, Haffajee AD. Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. *J Periodontal Res.* 2009 Jun;44(3):411-7.
 24. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ et al. Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. *J Periodontal Res.* 2008 Jun;43(3):328-33.
 25. Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A, Mitchell T, Kinane DF. Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clin Exp Immunol.* 2001;123(2):294-300.
 26. Noro Filho GA, Salgado DM, Casarin RC, Casati MZ, Costa C, Giovani EM. Anti-infective periodontal therapy promoting improvement in systemic markers of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013 Jul;29(7):1040-4.

2. ANEXOS

Correspondence, when applicable, should be addressed to:

BRAZILIAN JOURNAL OF ORAL SCIENCES
A/C Altair A. Del Bel Cury, Editor-in-Chief
Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP
Avenida Limeira, 901
CEP: 13.414-903 – Piracicaba, SP - Brasil
Phone: +55 (19) 2106-5706
Fax: +55 (19) 2106-5218
E-mail: brjorals@fop.unicamp.br
Website: <http://w2.fop.unicamp.br/brjorals>

Manuscripts and all corresponding documentation should be exclusively submitted via the online submission link: <http://www.fop.unicamp.br/bjos>.

SCOPE

The Brazilian Journal of Oral Sciences, published by the Piracicaba Dental School – UNICAMP, is an international non-profit online journal. The primary goal of the Brazilian Journal of Oral Sciences is to publish the outcomes of original investigations as well as invited reviews, case reports, short communications, and letters to the editor in the field of Dentistry and related disciplines. The Brazilian Journal of Oral Sciences is committed in publishing the scientific and technologic advances achieved by the dental community, according to the quality indicators and peer reviewed material, with the objective of assuring its acceptability at the local, regional, national and international levels.

Whilst every effort is made by the publishers and Editorial Board to make sure that no inaccurate or misleading opinion or statement appears in this Journal, they wish to make clear that the opinions expressed in the article, correspondence and advertisement herein are responsibility of the contributor, author or advertiser. Accordingly, the publishers, the Editorial Board and their respective employees, offices and agents accept no liability whatsoever for the consequences of any inaccurate or misleading opinion or statement.

GENERAL GUIDELINES

The manuscript sent for publication must be original and the simultaneous submission to other journal, either national or international, is not allowed. The Brazilian Journal of Oral Sciences shall retain the copyright of all manuscript published, including translations, yet allowing future reproduction as a transcription, provided the source is properly mentioned.

Only manuscript written in the English language shall be accepted, and the authors are fully responsible for the texts, citations and references.

The Brazilian Journal of Oral Sciences has the right to submit all manuscripts to the Editorial Board, which is fully authorized to settle the convenience of their acceptance, or return them to the authors with suggestions for modifications in the text and/or for adaptation to the editorial rules of the Journal. In this case, the manuscript will be re-evaluated by the Editor-in-Chief and Editorial Board.

The concepts stated on the manuscript published are full responsibility of the authors and do not necessarily reflect the opinion of the Editor-in-Chief and Editorial Board.

The dates of receipt of the original manuscript will be indicated in the occasion of its publication.

PEER REVIEW

The review and evaluation process of the manuscript's scientific content will only be initiated after meeting all requirements criteria described in the Instructions for authors. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to the corresponding author for adaptations. Manuscripts in accordance with the instructions will be appreciated in their scientific merit and methods by at least two referees from different institutions of that of the authors, besides the Editor-in-Chief. When revision of the original is required, the manuscript will be returned to the corresponding author for modification. A revised version with modifications will be re-submitted by the authors, and that will be re-evaluated by the Editor-in-Chief and Editorial Board.

Authors and referees will be kept anonymous during the review process.

Contents of the manuscript are the authors' responsibility and do not reflect the opinion of the Editor-in-Chief or Editorial Board.

GALLERY PROOF

Gallery proofs will be sent to the corresponding author by electronic mail in PDF format for final approval.

Approval of galley proofs by the corresponding author should be returned with corrections, if necessary, within 48 hours.

If not returned within 48 hours, the Editor-in-Chief will consider the present version the final, and will not allow further modifications. Corrections in the galley proofs should be restricted to minor mistakes that do not modify the content of the manuscript.

PREPARATION OF MANUSCRIPT

Structure of the manuscript

Cover page – (must be submitted as a supplementary file - Title Page - through the online submission system) which should contain only:

- Title of the manuscript in English.
- Names of the authors in direct order (not exceed six authors) with their respective degrees, affiliations institution.
- Full address of the corresponding author, to whom all correspondence should be addressed, including fax and phone number as well as e-mail address.

Text:

Original Research Articles (Main Document) are assembled in the following sections:

1. Title of the manuscript and subtitle, if necessary
2. Structured abstract and keywords
3. Introduction, Material and methods, Results, and Discussion
4. References
5. Tables
6. Figures, Images

The trade name of material used must be followed by the manufacturer, city, state and country, within parentheses upon first mention. All abbreviations must be explained at first mention.

Title Page/Cover Page

This page should be contain the title, author(s)' full name(s), degrees, affiliations institution (in original language and should be for long and short); the others informations in English: department and/or area (in available), city, state, country and the name and address of the author responsible for correspondence, including phone number and e-mail address. The title should be limited to ten words, if possible, not exceeding 15 words. It should describe the article's content specifically, clearly and concisely, and MUST NOT contain commercial names of products.

We recommend that authors collate the names present in the Cover Letter with the profile created in ScholarOne™, to avoid discrepancies.

Abstract

A structured abstract limited to 300 words should clearly state the aim, methods, results, and conclusions drawn from the study. The authors are referred to the list of subjects of the MeSH (Medical Subject Headings available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>) or DeCS (Health Sciences Descriptors available at <http://decs.bvs.br>). Authors must use periods to separate the keywords, which must have the first letter of the first word in capital letters Ex: Dental Materials. Inlays. Clinical Trial. Orthodontics, Preventive.

Introduction

Summarize the purpose of the study, indicating only pertinent references.

Do not review existing literature extensively. State clearly the working hypothesis.

Material and methods

Material and methods should be presented in sufficient detail to allow confirmation of the observations. Indicate the statistical methods used, if applicable. Please refer to item for ethical principles and registration of clinical trials.

Results

The results should be presented in a logical sequence in the text, tables and figures. Do not repeat the same data in both tables and figures. Do not repeat in the text all data mentioned in the tables and illustrations.

The important observations should be emphasized and statistical data must be reported here.

Discussion

Summarize the findings without repeating with details the data given in the Results section. Present your conclusions within the discussion.

Relate your observations to other relevant studies and point out the implications and limitations of the findings.

Acknowledgements

Financial support by government agencies should be acknowledged as well as technical assistance or assistance from colleagues.

TECHNICAL NORMALIZATION

The manuscript should be typed as follows: 1.5 spacing in 11 pt Arial font, with 3-cm margins at each side, on an A4 page, adding up to at most 15 pages, including the illustrations (graphs, photographs, tables, etc). The authors should keep a copy of the manuscript for possible requests. Pages should be numbered consecutively, starting with the title page.

Illustrations and Tables

The illustrations (photographs, graphs, drawings, charts, etc.), regarded as figures, should be limited to the least amount possible, consecutively numbered with Arabic numbers according to the order they appear in the text.

Photographs, microradiographs, and radiographs should be sent in original colors in .jpg, .tif or .gif formats with 10cm width and at least 300dpi. Should be provided in supplementary files (Figure) and not inserted in the Word document.

Separate parts of composite figures must be labeled with letters A, B, C, etc. Single figures may not exceed 8 cm in width, or groups of figures may not exceed 16 cm in width. Figures should be labeled with the title of the article.

The corresponding legends for figures should be clear.

The tables should be logically arranged in .docx, .xlsx, consecutively numbered with Arabic numbers. Tables should be open in the right and left laterals. Each table must contain all necessary information so that it may be independent of the text. Should be provided in supplementary files (Table) and not inserted in the Word document.

The graphs should be provided in supplementary files (Image) and logically arranged in .docx, .xlsx, consecutively numbered of figure with Arabic numbers and not inserted in the Word document.

Footnotes should be indicated by asterisks and restricted to the least amount possible.

Citation of the Authors

Citation of the authors in the text may be performed in two manners:

1. Just numeric: Aside from prevalence reports, very few studies have evaluated the response to therapy according to the individual genotype^{4,10-12,16}.
 - * References must be cited in a numeric ascending order within the paragraph.
2. or alphanumeric
 - o one author - Nelson¹⁶ (2014)
 - o two authors – Saad and Aladawy⁸ (2013)
 - o c) three authors or more: Stokes et al.²¹ (2015)
 - * Punctuation characters such as "periods" and "commas" must be placed after the numeric citation of the authors. Ex: Queluz².

References

The authors are fully responsible for the correctness of the references.

Use standard of International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

Available from: https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

All must the references and the text in English.

Updated references, at least 20% in the last 3 years or 50% in the last 5 years.

All references must be cited in the text. They should be numbered consecutively, in order of citation. The order of citation in the text should follow these numbers. They must appear in the text as superscript Arabic numerals, and placed to the left of any punctuation. Abbreviations of the titles of the international journals cited should follow the PubMed.

Personal communications and unpublished data with no publication date must not be included in the reference list.

At most 30 references may be cited, except for invited reviews by the Editor-in-Chief.

Samples references:

List the first six authors. With more than 6 authors list the first six authors followed by et al. (should not be written in italics).

Document not in English

Viana MO, Lima EICBMF, Menezes JNR, Olegario NBC. [Evaluation of signs and symptoms of temporomandibular dysfunction and its relation to cervical posture]. Rev Odontol Unesp. 2015 May-Jun;44(3):125-30. Portuguese.

Molina-Frechero N, Durán-Merino D, Castañeda-Castaneira E, Juárez-López ML. [Dental caries experience and its relation to oral hygiene in mexican children]. Gac Med Mex. 2015 Jul-Aug;151(4):485-90. Spanish.

Figueiredo LAA. [Biomechanical analysis of implant-supported fixed partial prosthesis in teh maxila anterior region by means os eletrical extensometry technical] [dissertation]. Piracicaba: University of Campinas, the Piracicaba School of Dentistry; 2015. Portuguese.

Brazil. Ministry of Health of Brazil. [SB BRAZIL 2010: national research on oral health: main results]. Brasília: Ministry of Health; 2012. 116p. Portuguese.

Articles

Standard journal article

Lee Y, Kim KH, Kim YK, Son JS, Lee E, Kwon TY. The Effect of Novel Mercapto Silane Systems on Resin Bond Strength to Dental Noble Metal Alloys. J Nanosci Nanotechnol. 2015 Jul;15(7):4851-4.

Volckova M, Linhartova PB, Trefna T, Vlazny J, Musilova K, Kukletova M, et al. Lack of association between lactotransferrin polymorphism and dental caries. Caries Res. 2014;48(1):39-44. doi: 10.1159/000351689.

Organization as author

International Association for Dental Research. Code of ethics for dental researchers. J Am Coll Dent. 2014 Summer;81(3):19-22.

No author given

Tobacco and dental caries: a systematic review. Br Dent J. 2013 Nov 8;215(9):463.

Article with supplement and/or special issue or Abstract

Sundaram M, Nayak UA, Ramalingam K, Reddy V, Rao AP, Mathian M. A comparative evaluation of Oratest with the microbiological method of assessing caries activity in children. J Pharm Bioallied Sci. 2013 Jun;5(Suppl 1):S5-9.

Peres PEC, Del Bel Cury AA, Cury JA. In situ evaluation of a dentifrice formulation with low fluoride concentration [IADR abstract 1170]. J Dent Res. 2001 Mar; 80(Spec Issue):673.

Article with DOI/pii

Murray JJ, Vernazza CR, Holmes RD. Forty years of national surveys: An overview of children's dental health from 1973-2013. Br Dent J. 2015 Sep 25;219(6):281-5. doi: 10.1038/sj.bdj.2015.723.

Machado J, Johnson JD, Paranjpe A. The Effects of Endosequence Root Repair Material on Differentiation of Dental Pulp Cells. J Endod. 2015 Sep 22. pii: S0099-2399(15)00722-0. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.007.

Books

Lamster IB. Diabetes mellitus and oral health: an interprofessional approach. Ames, Iowa: Wiley Blackwell; 2014.

Book chapter

Tenuta LMA, Cury JA. Laboratory and human studies to estimate anticaries efficacy of fluoride toothpastes. In: van Loveren C, editor. Toothpastes. Basel, Switzerland: Karger; 2013. (Monographs in oral science, 23). p.108-24.

Thesis/dissertation

Nunes J. The adhesion of stores red blood cells to human umbilical vein endothelial cells [dissertation]. Edmonton, Alberta: University of Alberta; 2013.

Catelan A. [Influence of the energy density on the physical properties and bond strength of two restorative systems] [thesis]. Piracicaba: University of Campinas, the Piracicaba School of Dentistry; 2012. Portuguese.

On-line: indicate only URL documents with open access

Assaf JH, Montebello Filho A, Zanatta FB. Short implants with single-unit restorations in posterior regions with reduced height – a retrospective study. Braz J Oral Sci. 2010; [cited 2015 Jun 17] 9(4): 493-7. Available from: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?down=43919>.

Ito H, Uchida T, Makita K. Interactions between rat alveolar epithelial cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells: an in vitro co-culture model. Intensive Care Med Exp. 2015 Dec [cited 2015 Aug 2];3(1):53. doi: 10.1186/s40635-015-0053-2. Epub 2015 May 24. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4480799/pdf/40635_2015_Article_53.pdf.

Musculoskeletal disorders and the workplace: low back and upper extremities. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2015 Aug 25]. Available from: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10032&page=1.

Brazil. Ministry of Health of Brazil. [SB BRAZIL 2010: national research on oral health: main results]. Brasília: Ministry of Health; 2012 [cited 2015 Aug 22]. 116p. Available

from: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pesquisa_nacional_saude_bucal.pdf. Portuguese.

Unpublished: use "Forthcoming" rather than "In press" because not all items will be printed.)

Oldoni TL, Melo PS, Massarioli AP, Moreno IA, Bezerra RM, Rosalen PL, et al. Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. Food Chem. Forthcoming 2016 Feb 1.

ETHICAL PRINCIPLES AND REGISTRATION OF CLINICAL TRIALS

Experimental procedures in humans and animals

The Brazilian Journal of Oral Sciences reassures the principles incorporated in the Helsinki Declaration and insists that all research involving human beings, in the event of publication in this journal, be conducted in conformity with such principles and others specified in the respective ethics committees of authors' institution. In the case of experiments with animals, such ethical principles must also be followed. When surgical procedures in animals were used, the authors should present, in the Material and methods section, evidence that the dose of a proper substance was adequate to produce anesthesia during the entire surgical procedure. All experiments conducted in human or animals must accompany a description, in the Material and methods section, that the study was approved by the respective Ethics Committee of authors' affiliation and provide the number of the protocol approval. The Editor-in-Chief and the Editorial Board reserve the right to refuse manuscripts that show no clear evidence that the methods used were not appropriate for experiments in humans or animals.

Clinical Trial Registration - International Standard Randomized Controlled Trial Number (ISRCTN)

The Brazilian Journal of Oral Sciences supports the policies of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) for the registration of clinical trials. The journal recognizes the importance of such initiatives for the registration and international publication of clinical studies with an open access. Therefore, the Brazilian Journal of Oral Sciences will publish only those clinical trials that have previously received an identification number, the ISRCTN, validated by the criteria established by the WHO and ICMJE. The WHO defines clinical trials as "any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes. Interventions include but are not restricted to drugs, cells and other biological products, surgical procedures, radiologic procedures, devices, behavioral treatments, process-of-care changes, preventive care, etc".

In order to register a clinical trial, please access one the following addresses:

Register in the Clinicaltrials.gov

URL: <http://prsinfo.clinicaltrials.gov/>

Register in the International Standard Randomized Controlled Trial Number (ISRCTN)

URL: <http://www.controlled-trials.com/>

ANY QUERIES SHALL BE SOLVED BY THE EDITOR-IN-CHIEF AND EDITORIAL BOARD

SUBMISSION OF THE MANUSCRIPT

Manuscripts must be submitted in English in

URL: <https://mc04.manuscriptcentral.com/bjos-scielo>. Important: ScholarOne™ allows upload of a set of files up to 10 MB.

The evaluation process of manuscript's scientific content will only be initiated after meeting of all the requirements described in the present Instructions for Authors. Any manuscript that does not meet these requirements will be returned to the corresponding author for adaptations.

Authors whose primary language is not English must have their article reviewed by a native English speaker. The decision of acceptance for publication belongs to the Editors and is based on the recommendation of the Editorial Board and/or ad hoc reviewers. The technical review and grammar/style revision as per the English language, will be charged to the author at the time of acceptance.

The corresponding author should retain the original file in Word format as well as illustrations (when applicable).

The original file (Word format) containing the main manuscript must be submitted without the authors' identification and affiliations. The cover page must be submitted as a supplementary file (Title Page) containing the names of the authors, affiliations and correspondence address.

Illustrations must be submitted as supplementary files according to the specifications regarding the form and preparation of manuscripts.

The submission Form (Copyright transfer, Responsibilities of the authors and Release of conflict of interest) signed by ALL the authors, must be submitted as a supplementary file containing the following text – use "Choose File Designation" "Supplemental File NOT for Review" in System:

By signing the Submission Form, the authors' state:

Copyright transfer: In the event of publication of the above mentioned manuscript, we, the authors, transfer to the Brazilian Journal of Oral Sciences all rights and interest of the manuscript. This document applies to translations and any preliminary presentation of the contents of the manuscript that has been accepted, but yet not published. If any authorship modification occurs after submission, a document of agreement of all authors is required to be kept by the Editor-in-Chief. Exclusion of authors may only be accepted by his/her own request.

It's necessary to send the signed Copyright Form in PDF with complete name and e-mail of all the authors together with the manuscript.

It is necessary to send the Ethical Committee Certificate together with the manuscript.

Responsibilities of the authors: I hereby state that:

- The content of the article is original and does not consist of plagiarism or fraud;
- The work is not under consideration or will be submitted to other journal until a final decision is issued by this journal;
- I have effectively contributed to this work and I am familiar with its contents;
- I have read it and assume the responsibility for its contents. I understand that if the work, or part of it, is considered deficient or a fraud, I take shared responsibility with the other authors.

Release of conflict of interest:

- All my affiliations, corporate or institutional, and all sources of financial support to this research are properly acknowledged, except when mentioned in a separate letter. I certify that do not have any commercial or associate interest that represents a conflict of interest in connection with the submitted manuscript.

PRINT NAME OF ALL AUTHORS: _____ SIGNATURE: _____
E-MAIL: _____ DATE: _____

Checklist for Authors

1. 1. Submission form (in "Supplemental File NOT for Review" system).
2. 2. Title Page file
3. 3. Main document (Main text file – Abstract, Introduction, Material and methods, Results, Discussion and References)
4. 4. Illustrations (should be submitted individually in separate files - not inserted in the text file)
5. 5. Supplementary documents, if applicable (in "Supplemental File NOT for Review" system) - Protocol approval Ethics Committee, etc.
6. 6. Verify technical normalization.

ONLINE EARLY

Online Early articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled issue. Online Early 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 Online Early articles means that they do not yet have issue or page numbers.