



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
ESCOLA DE SAÚDE E BIOCÊNCIAS  
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO – ESTOMATOLOGIA

**RAFAELA SCARIOT DE MORAES**

**ANÁLISE CLÍNICA, CITOLÓGICA E GENÉTICA EM PACIENTES COM GLOSSITE  
MIGRATÓRIA BENIGNA**

**CURITIBA**

**2013**

**RAFAELA SCARIOT DE MORAES**

**ANÁLISE CLÍNICA, CITOLÓGICA E GENÉTICA EM PACIENTES COM  
GLOSSITE MIGRATÓRIA BENIGNA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Estomatologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientadora: Prof(a). Dra. Paula Cristina Trevilatto

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza

Co-Orientador: Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima

**CURITIBA**

**2013**

Dados da Catalogação na Publicação  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR  
Biblioteca Central

M827a  
2013

Moraes, Rafaela Scariot de  
Análise clínica, citológica e genética em pacientes com glossite migratória benigna / Rafaela Scariot de Moraes ; orientadora, Paula Cristina Trevilatto ; co-orientadores, Paulo Henrique Couto de Souza, Antonio Adilson Soares de Lima. – 2013.  
54 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2013.  
Bibliografia: p. 18-23

1. Odontologia. 2. Polimorfismo (Genética). 3. Glossite. 4. Língua – Doenças. 5. Papilas gustativas. 6. Citologia – Técnica. I. Trevilatto, Paula Cristina. II. Souza, Paulo Henrique Couto. III. Lima, Antonio Adilson Soares de . IV. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós- Graduação em Odontologia. V. Título.

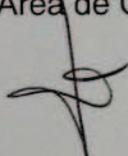
CDD 20. ed. – 617.6

## TERMO DE APROVAÇÃO

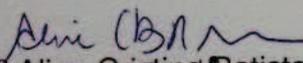
**RAFAELA SCARIOT DE MORAES**

### ANÁLISE CLÍNICA, CITOLÓGICA E GENÉTICA EM PACIENTES COM GLOSSITE MIGRATÓRIA BENIGNA

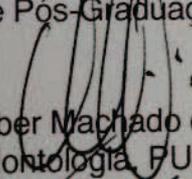
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do Título de **Doutor em Odontologia**, Área de Concentração em **Estomatologia**.



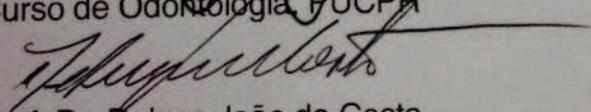
Orientador (a): Prof.ª Dr.ª Paula Cristina Trevilatto  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR



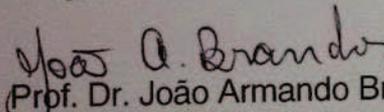
Prof.ª Dr.ª Aline Cristina Batista Rodrigues Johann  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PUCPR



Prof. Dr. Cleber Machado de Souza  
Curso de Odontologia, PUCPR



Prof. Dr. Delson João da Costa  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFPR



Prof. Dr. João Armando Brancher  
Programa de Pós-Graduação - Mestrado Profissional em Odontologia, UP

Curitiba, 29 de novembro de 2013.

## DEDICATÓRIA

A Deus, pelo dom da vida.

Ao meu amor, Rodrigo, pela  
compreensão.

Aos meus pais, Paulo e Sandra, pelo  
incentivo.

A minha irmã, Mariela, pelo carinho.

A minha avó, Clecy, pelo exemplo de  
vida.

## AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Área de concentração em Estomatologia, pelo acolhimento.

Ao Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Prof. Dr. Sergio Vieira, pelo trabalho na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

A minha orientadora, Prof. Dra. Paula Cristina Trevilatto, pela oportunidade de trabalharmos juntas, de uma forma muito produtiva.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza, que me recebeu prontamente para o desenvolvimento desse estudo.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima, pela oportunidade e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Cleber Machado de Souza, pelos ensinamentos, paciência, atenção e confiança prestadas durante o curso.

À Profa. Dra. Márcia Olandoski, pela ajuda nas análises estatísticas desta tese.

À disciplina de Citologia do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Paraná, representada pela Profa. Dra. Maria Suely Soares, e pelo mestrando Thiago Beltrami Dias Batista, pelo auxílio durante o desenvolvimento de toda a pesquisa.

Aos meus amigos, Prof. Dr. Delson João da Costa e Prof. Dr. Nelson Luis Barbosa Rebellato, pelo incentivo.

Aos meus colegas e amigos de mestrado e doutorado, pelo apoio contínuo.

A todas as pessoas que de diferentes maneiras direta ou indiretamente colaboraram para a concretização deste trabalho.

## SUMÁRIO

ARTIGO EM PORTUGUÊS .....	1
RESUMO.....	2
INTRODUÇÃO .....	3
MATERIAL E MÉTODOS.....	6
RESULTADOS.....	11
DISCUSSÃO .....	12
CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS.....	17
TABELAS.....	23
FIGURAS.....	28
ANEXOS .....	32

## **ARTIGO EM PORTUGUÊS**

### **ANÁLISE CLÍNICA, CITOLÓGICA E GENÉTICA EM PORTADORES DE GLOSSITE MIGRATÓRIA BENIGNA**

#### **RAFAELA SCARIOT DE MORAES, DDS, MSC**

Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO), Estomatologia

Escola de Saúde e Biociências

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil.

Email: [rafaela\\_scariot@yahoo.com.br](mailto:rafaela_scariot@yahoo.com.br)

#### **Autor correspondente**

**Paula Cristina Trevilatto, DDS, PhD**

Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Escola de Saúde e Biociências

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil.

Rua Imaculada Conceição, 1155, Bairro Prado Velho,

CEP 80215-901 – Curitiba, PR

Email: [paula.trevilatto@pucpr.br](mailto:paula.trevilatto@pucpr.br)

## RESUMO

**Introdução:** A glossite migratória benigna (GMB) é considerada uma condição inflamatória crônica caracterizada pela perda das papilas filiformes do dorso da língua. Até o momento, existem raros trabalhos investigando aspectos citológicos e genéticos, dificultando a caracterização da doença. **Objetivo:** O objetivo do presente trabalho é investigar a associação de aspectos clínicos, citológicos e genéticos, por meio da análise de polimorfismos no gene *IL6*, com a GMB. **Métodos:** Foi utilizada uma amostra de 175 pacientes não aparentados, de ambos os sexos, com média de idade de 33,3 anos, sendo 44 pacientes portadores de glossite migratória benigna e 131 pacientes controle. No exame clínico foi avaliado sexo, idade, etnia, classificação socioeconômica, presença de doença sistêmica, alergia, história de etilismo e tabagismo, bem como a presença de língua fissurada, o grau de ansiedade, por meio da escala de Hamilton e o índice CPOD. A avaliação citológica foi realizada através da coleta de células epiteliais da região afetada, determinando a morfologia e a morfometria celular, além da realização do teste citopatológico de Papanicolaou. Já a avaliação genética foi realizada por meio da coleta do DNA de células epiteliais da mucosa bucal seguida pela análise dos polimorfismos genéticos do gene *IL6* através da técnica de PCR em tempo real. Análises univariadas e multivariadas foram realizadas para verificar a associação de variáveis com a GMB ( $p < 0,05$ ). **Resultados:** Observou-se um maior nível de ansiedade ( $p = 0,001$ ), maior CPOD ( $p < 0,002$ ) e um predomínio de língua fissurada no grupo caso ( $p = 0,001$ ). Das variáveis citológicas morfométricas avaliadas, observou-se uma maior média da relação da área do núcleo com a área do citoplasma ( $p < 0,001$ ) e menor média da área citoplasmática ( $p = 0,001$ ) em pacientes com GMB. Já para as variáveis morfológicas, observou-se predomínio da classe II de Papanicolaou ( $p < 0,001$ ), presença de reação inflamatória ( $p = 0,001$ ), presença de células escamosas parabasais ( $p = 0,001$ ), espessamento de bordos nucleares ( $p = 0,014$ ), diminuição da metacromasia ( $p = 0,017$ ), presença de halo perinuclear ( $p = 0,003$ ) e binucleação ( $p = 0,026$ ) em pacientes com GMB. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada na frequência genotípica dos polimorfismos do gene *IL6* entre os grupos, exceto pelo rs2069843 ( $p = 0,047$ ). Na análise multivariada, as variáveis CPOD ( $p = 0,018$ ) e escala de ansiedade ( $p = 0,007$ ) mantiveram-se associadas com a GMB. **Conclusão:** A GMB está associada a ansiedade, a presença de língua fissurada e ao índice CPOD. Possui um padrão citológico próprio e está associada ao polimorfismo rs2069843, no modelo dominante para o alelo G, no gene *IL6*.

**Descritores:** glossite migratória benigna, IL-6, polimorfismo genético, teste citopatológico de Papanicolaou

## INTRODUÇÃO

A glossite migratória benigna (GMB) é uma condição inflamatória crônica (Assimakapoulus *et al.*, 2002) caracterizada pela perda das papilas filiformes no dorso da língua. No quadro clínico típico, observa-se a presença de áreas atróficas avermelhadas rodeadas por bordas esbranquiçadas nessa região. Contudo, há variação nas manifestações clínicas (Marks & Radden, 1981). A duração da lesão é um fato que demonstra grande variabilidade, com lesões reparando em duas semanas e lesões com desenvolvimento de mais de um ano. Os portadores da GMB raramente referem desconforto e tal condição é descoberta durante exame de rotina. Quando referem sintomatologia, relatam sensação de queimação no dorso da língua (Warnock *et al.*, 1986).

Estudos revelam que a ocorrência da GMB na população geral varia de 1 a 12,7% (Van de Wal *et al.*, 1988; Dombi & Czeglédy, 1992; Darwazeh & Pillai, 1993; Vörös-Balog *et al.*, 1999; Pereira *et al.*, 2002; Peláez-Esteban *et al.*, 2004; Yarom *et al.*, 2004; Miloglu *et al.*, 2009; Koay *et al.*, 2010). Esta condição parece não apresentar nenhuma predileção por gênero, raça ou idade (Warnock *et al.*, 1986; Schulman & Carpenter, 2006; Miloglu *et al.*, 2009; Goswami *et al.*, 2012). A etiologia desta entidade ainda permanece desconhecida, mas, vários pacientes apresentam as lesões correlacionadas com fatores emocionais e demonstram a remissão do quadro após a redução do estresse (Shapiro & Shklar, 1973; Gonzaga *et al.*, 1995; Marcucci, 2005; Carvalho *et al.*, 2010; Shobha e Barkha, 2011). A presença de língua sulcada ou fissurada também é um achado frequentemente associado à GMB (Ghose & Baghdady, 1982; Brooks & Balciunas, 1987; Darwazeh & Pillai, 1993; Yarom *et al.*, 2004; Jainkittivong & Langlais, 2005; Schulman & Carpenter, 2006; Miloglu *et al.*, 2009; Goswami *et al.*, 2012).

Do ponto de vista citológico, observam-se alterações celulares do epitélio que podem variar desde áreas de espongiose com distintas pontes intercelulares até alargamento nuclear e hipercromatismo. Eventualmente, a destruição nuclear e citoplasmática pode ser vista (Brooks & Balciunas, 1987). Histologicamente, o epitélio nas margens da lesão é paraceratótico. A área central atrófica mostra degeneração com infiltração de células inflamatórias (Schuller & Schleuning, 1994). Esse infiltrado de leucócitos caracteriza a GMB como alteração inflamatória.

Sabe-se que a resposta inflamatória envolve inúmeras interações complexas celulares, mediadas por citocinas (Abbas *et al.*, 1998). As interleucinas (IL) são citocinas que podem atuar na modulação da degradação dos componentes da matriz extracelular (Birkedal-Hansen, 1993), como é o caso da interleucina-6 (IL-6). A IL-6 é uma citocina que está envolvida na resposta imune, hematopoiese, inflamação e metabolismo ósseo. As principais células responsáveis pela produção dessa citocina são os macrófagos e células T (Van de Poll *et al.*, 1997). Ela é produzida principalmente nos locais de inflamação aguda e crônica, sendo secretada no soro a fim de induzir resposta inflamatória. Altos níveis de IL-6 foram encontrados em fluidos biológicos e no sangue em áreas de trauma, infecção, doenças inflamatórias e neoplasias (Hirano *et al.*, 1990). O entendimento da atuação da IL-6 tem pavimentado o caminho para novas abordagens terapêuticas para doenças auto-imunes e inflamatórias (Hirano, 2010).

O gene da IL-6 (*IL6*) apresenta 5 éxons e 4 íntrons, e está localizado no cromossomo 7, na posição 7p21. O funcionamento deste gene está implicado em uma ampla variedade de situações associadas a estados de doenças. Polimorfismos são alterações na sequência gênica, que geram formas variantes, denominadas alelos, cuja frequência do mais raro é superior a 1% (Loss & Van de Velden, 2005). A grande frequência de polimorfismos no genoma humano os transformam em alvo para tentar explicar a variabilidade genética (Korstanje & Paigen, 2002; Guy *et al.*, 2004) e sua influência no risco e progressão de algumas doenças (Morange *et al.*, 2005; Rao *et al.*, 2005; Sun *et al.*, 2005). A análise dos polimorfismos tem sido limitada a uns poucos polimorfismos funcionais, os quais não cobrem toda a extensão do gene, com perda de informações genéticas. Uma nova abordagem, usando **tag SNPs**, analisa **bins** (sequências gênicas em alto desequilíbrio de ligação - DL), podendo capturar a informação de todo o gene em termos de variabilidade (Liu *et al.*, 2010).

Vários autores têm estudado polimorfismos no gene *IL6* e sua associação com condições bucodentais complexas. Carcinoma (Vairaktaris *et al.*, 2006; Vairaktaris *et al.*, 2008), tumor odontogênico ceratocístico, ameloblastoma (Sengüven e Oygür, 2011), líquen plano (Xavier *et al.*, 2007), ulceração aftosa recorrente (Bazrafshani *et al.*, 2002; Guimarães *et al.*, 2007) e GMB (Guimarães *et al.*, 2007) são algumas lesões pesquisadas. Além disso, associações com a perda de implantes (Campos *et al.*, 2005; Casado *et al.*, 2013;) e com doenças

periodontais também têm sido investigadas (Trevillato *et al.*, 2003; Jansson *et al.*, 2006; Galicia *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2007; Tervonen *et al.*, 2007; Nikolopoulos *et al.*, 2008; Shao *et al.*, 2009; Nibali *et al.*, 2010 Scapoli *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013).

Como não existe na literatura nenhum trabalho avaliando concomitantemente as características citológicas e genéticas da GMB, o objetivo do presente trabalho é investigar a associação de aspectos clínicos, citológicos e genéticos, por meio da análise de polimorfismos no gene *IL6*, com a GMB.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***População de estudo***

A amostra deste estudo foi composta de 175 pacientes, de ambos os sexos, média de idade de 33,3 ( $\pm 12,25$ ) anos, dos quais 44 pacientes apresentavam GMB e 131 pacientes pertenciam ao grupo controle. Os pacientes foram selecionados a partir das Clínicas Odontológicas do Curso de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) e da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Foram incluídos no estudo pacientes não aparentados, com idade igual ou superior a 18 anos. Para o grupo caso, os pacientes deveriam apresentar GMB em fase ativa (Figura 1). Somente foram excluídos do estudo pacientes que apresentaram material coletado insuficiente para avaliação citológica e genética. Esse estudo foi submetido à aprovação ética na PUCPR e na UFPR, sob os números dos protocolos 01328412.5.0000.0020 e 1002.127.10.09, respectivamente.

### ***Avaliação Clínica***

Os pacientes foram questionados sobre seu histórico pessoal, médico e odontológico, e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido, após serem avisados da natureza do estudo. Os parâmetros clínicos foram: sexo, idade, etnia, classificação econômica, escala de ansiedade de Hamilton, presença de doença sistêmica nos indivíduos ou em familiares de primeiro grau, utilização de medicamentos, história de alergia, etilismo, tabagismo, presença de língua fissurada e o índice de dentes cariados, perdidos ou obturados (CPOD).

Para avaliação da classificação socioeconômica foi utilizado um instrumento de avaliação da ABEP (Associação Brasileira de Estudos Populacionais) no ano de 2008. Este compreende um conjunto de indicadores específicos, tais como o número de banheiros, o número de empregados domésticos em tempo integral, o número de carros de propriedade da família, posse de itens domésticos, como televisores, aparelhos de rádio, DVDS, aspiradores, máquina de lavar roupa, geladeiras, *freezers*, e nível de escolaridade do chefe da família. Um conjunto de pontos é atribuído a estes indicadores e uma pontuação final define os grupos socioeconômicos: A1 A2, B1, B2, C, D, e E. Esses pontos variam de 0 (classe E) a 34 (classe A1). Optou-se por trabalhar com essa variável visto que algumas

condições de saúde bucal estão relacionadas a condição sócio-econômica do indivíduo.

Também foi utilizada a escala de Hamilton (Hamilton, 1959) para avaliar o estado de ansiedade do indivíduo em um determinado momento. Essa escala é composta de catorze itens, subdivididos em dois grupos, sete relacionados a sintomas de humor ansioso e sete relacionados a sintomas físicos de ansiedade. Cada item é avaliado segundo uma escala que varia de 0 a 4 de intensidade (0=ausente; 2=leve; 3=média; 4=máxima). A soma dos escores obtidos em cada item resulta em um escore total, que varia de 0 a 56.

Além dos parâmetros clínicos já mensurados, também foi avaliado o índice CPOD, desenvolvido por Klein e Palmer em 1937 (Chaves, 1986). Esse índice é uma unidade de medida que avalia o número de dentes cariados, perdidos ou restaurados de cada indivíduo. Os valores podem variar de 0 a 32, para dentição permanente.

### ***Avaliação Citológica***

Para a análise citológica, foram utilizados 17 casos e 22 controles da amostra, pareados por sexo e idade. Todos os pacientes eram caucasianos. Esse número amostral é o suficiente para garantir a confiabilidade de análises citológicas. A coleta de células epiteliais foi realizada pela técnica da citologia em base-líquida (Cibas & Ducatman, 1996). Para tal, inicialmente os indivíduos foram orientados a realizar um enxague bucal com água para remover possíveis restos alimentares. Para o grupo caso, a coleta foi realizada na lesão. Para o grupo controle, a coleta foi realizada em região de dorso da língua. A remoção das células epiteliais foi executada através da aplicação de uma escova com cerdas de *nylon* e cabo longo de plástico, em movimento giratório no sentido horário (cinco voltas). Em seguida, a parte da escova que apresenta as cerdas foi mergulhada no interior de um frasco, contendo 1 mL de líquido preservador de células (ácido acético e metanol – 1:3), a fim de preservar as células epiteliais. O frasco tampado foi acondicionado no interior de uma geladeira até o momento do processamento laboratorial. Para o processamento laboratorial, os frascos contendo o material foram centrifugados e o sobrenadante foi descartado. Uma alíquota de 200 µL foi transferida do interior do frasco para a superfície da lâmina com o auxílio de uma pipeta monocal. O material disposto foi fixado pela imersão das lâminas em uma solução de álcool

etélico absoluto por 20 min. Foram realizadas duas lâminas para cada coleta. Em seguida, foi realizada a coloração das lâminas com a técnica de coloração do Papanicolaou (Papanicolaou & Traut, 1948).

A análise morfológica dos esfregaços foi feita por meio de microscopia de luz, utilizando um microscópio trinocular, modelo Nikon Eclipse E200, acoplado à câmera de captura Dino-Lite. Previamente à leitura, as lâminas tiveram seus números de identificação cobertos. Cinquenta células aleatórias de cada lâmina foram mensuradas (área nuclear - AN e área citoplasmática - AC) a partir da delimitação do núcleo e do citoplasma das células, usando-se o cursor digitador, determinando a área em  $\mu\text{m}^2$  de cada célula, através do programa DinoCapture 2.0 v.1.4.6. A imagem dos campos citológicos foi capturada em uma ampliação de 200 vezes, por uma câmera Sony CCD Íris (Color Vídeo Câmera). De posse dos valores da AN e AC, foi calculada a relação AN/AC.

Além disso, as lâminas foram examinadas por um citologista, a fim de classificá-las segundo os critérios citopatológicos do Papanicolaou (Papanicolaou & Traut, 1948).

- Classe 0: Material insuficiente ou inadequado para análise;
- Classe I (Esfregaço normal): As células observadas apresentam padrão morfológico normal em todo esfregaço;
- Classe II (Esfregaço normal com alterações inflamatórias): Observação de células inflamatórias no esfregaço examinado em pelo menos dois campos. Presença de alterações citológicas, tais como: mudança da relação núcleo-citoplasma em favor do núcleo, células multinucleadas, presença de halos perinucleares;
- Classe III (Alterações displásicas - esfregaço suspeito): Presença de alterações celulares em até dois campos por esfregaço. São consideradas displásicas as células cujos núcleos apresentam alguns critérios de malignidade, mas que mantenham o citoplasma com aspecto normal;
- Classe IV (Fortemente indicativa, mas não conclusiva de malignidade): Presença de alterações celulares em dois ou mais campos. Observação de células malignas imaturas, ou seja, células da camada basal e parabasal redondas ou ovais, com o núcleo em posição central;

- Classe V (Esfregaço maligno): Presença de alterações celulares compatíveis com neoplasia maligna.

Também foram avaliados outros aspectos morfológicos das células de cada lâmina. Os aspectos avaliados foram os mesmos utilizados em citologia cérvico-vaginal (Koss & Gampel, 2006), visto que não há na literatura um padrão de avaliação morfológica de citologia de boca. As lâminas foram observadas em toda a sua extensão, no plano horizontal, da esquerda para a direita (Takahashi, 1982). Foram observados aspectos como: presença de microrganismos, presença de alterações celulares degenerativas e reativas, presença de reações inflamatórias e orangiofilia. Além disso, foram avaliados aspectos celulares como pseudo eosinofilia (falsa eosinofilia: célula deveria estar cianofílica e encontra-se eosinofílica), espessamento de bordo nuclear, metacromasia (citoplasma com coloração dupla: cianofílica e eosinofílica), cariorréxis (colapso do núcleo, formando pequenos **corpúsculos heterocromáticos**) cariólise (dissolução da cromatina e perda da coloração do núcleo), cariopícnose (diminuição do núcleo), vacuolização, edema nuclear, presença de halo perinuclear, apagamento de bordos citopasmáticos, binucleação, multinucleação, presença de grânulos queratoialínicos e homogeneização da cromatina. Também foi avaliado o predomínio celular na lâmina (superficiais, intermediárias e basais).

### **Análise Genética**

Para a análise genética foram utilizados 44 pacientes caso e 131 pacientes controle. As células foram obtidas por meio de um bochecho com solução de glicose a 3% durante 1 minuto e raspagem da mucosa jugal com uma espátula esterilizada (Trevilatto & Line, 2000). O DNA foi extraído a partir de células epiteliais bucais com acetato de amônio a 10 M e EDTA a 1 mM (Aidar & Line, 2007). Os tagSNPs do gene *IL6* foram selecionados, de acordo com a informação disponível no site *International HapMap Project, phase III/Rel#2* (<http://www.hapmap.org>, 2012). Todos os marcadores selecionados apresentaram uma frequência alélica mínima (FAM) de 0,05 na população YRI (Yoruba in Abadan – Nigéria). O parâmetro de corte para definir desequilíbrio de ligação (DL) entre dois marcadores foi  $r^2 > 0,8$ . Seguindo esse critério, os seguintes tagSNPs foram selecionados: rs1524107, rs2069835, rs2069837, rs2069838, rs2069840, rs2069842, rs2069843 e rs2069845 (Figura 02).

Os pacientes foram genotipados para os tagSNPs por meio da técnica de PCR em tempo real (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System), com o uso da tecnologia TaqMan™ (Applied Biosystems) (Lee *et al.*, 1993).

### **Análise estatística**

Utilizou-se o Haploview 4.2 para estimar o equilíbrio de Hardy-Weinberg e o desequilíbrio de ligação entre os tagSNPs. Variáveis quantitativas foram descritas por meio da média e desvio padrão, ou por mediana, valor mínimo e valor máximo. Variáveis qualitativas foram descritas por frequências e percentuais. Para comparar os grupos em relação a variáveis quantitativas foi usado o teste *t* de Student para amostras independentes ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, quando apropriado. A associação entre os genótipos e a doença (grupo) foi avaliada ajustando-se modelos de regressão logística binária e usando-se o teste de Wald. Como medida de associação, foram estimados os valores de odds ratio (OR) com intervalo de confiança de 95%. Para a análise multivariada foi ajustado um modelo de regressão logística, incluindo-se no modelo as variáveis que apresentaram valor de  $p < 0,20$  na análise univariada. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS v.20.0 e Haploview 4.2.

## RESULTADOS

### **Análise Clínica**

Todos os resultados dos parâmetros clínicos avaliados podem ser visualizados na tabela 1. Uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos, com valores maiores na escala de ansiedade ( $p=0,001$ ), presença de língua fissurada ( $p=0,001$ ) e CPOD ( $p<0,002$ ), no grupo caso.

### **Análise Citológica**

A média da relação da área do núcleo com a área do citoplasma foi de  $0,039\pm 0,071$  para o grupo caso e de  $0,024\pm 0,041$  para o grupo controle ( $p<0,001$ ). A média da área citoplasmática foi menor no grupo com GMB ( $p=0,001$ ). Com relação à classificação de Papanicolaou, houve o predomínio da classe II no grupo caso e classe I no grupo controle ( $p<0,001$ ). Com relação à análise morfológica, foram encontradas diferenças entre o grupo caso e controle, com presença da reação inflamatória ( $p=0,001$ ), presença de células escamosas parabasais ( $p=0,001$ ), espessamento de bordos nucleares ( $p=0,014$ ), diminuição da metacromasia ( $p=0,017$ ), halo perinuclear ( $p=0,003$ ) e binucleação ( $p=0,026$ ), no grupo caso (Figura 3). Os dados na íntegra da morfometria e morfologia podem ser observados na tabela 2.

### **Análise Genética**

Os polimorfismos avaliados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa na frequência genotípica no tagSNP rs2069843 ( $p=0,047$ ) do gene *IL6* no grupo caso. Os dados na íntegra podem ser visualizados na tabela 3. O mapa de desequilíbrio de ligação do gene *IL6* para a população estudada pode ser observado na figura 4.

Para a análise multivariada, foram consideradas as variáveis com valor de  $p<0,200$  (Classificação econômica, CPOD, escala de ansiedade, rs2069843 - modelo dominante para o alelo G, rs2069835 - modelo aditivo CT e rs2069845 - modelo dominante para o alelo A). Após a análise multivariada, as variáveis: índice CPOD ( $p=0,018$ ) e escala de ansiedade ( $p=0,007$ ) mantiveram-se associados com GMB. Nessa análise, não foi incluída a variável língua fissurada, pelo fato de haver no grupo controle apenas um paciente com essa condição.

## DISCUSSÃO

A GMB é considerada uma condição inflamatória da língua de etiologia incerta. É caracterizada inicialmente pela presença de pequenas áreas de descamificação e descamação das papilas filiformes. Além disso, apresenta-se com um aspecto eritematoso, de forma irregular, com margens brancas arqueadas e elevadas, cuja localização pode alterar-se de forma contínua (Regezi & Sciubba, 1993; Femiano, 2001; Jainkittivong & Langlais, 2005). Na maioria dos estudos, não há prevalência pelo sexo (Warnock *et al.*, 1986; Schulman & Carpenter, 2006; Miloglu *et al.*, 2009; Goswami *et al.*, 2012). Com relação à idade, observa-se uma predileção pela segunda e terceira décadas de vida (Jainkittivong & Langlais, 2005; Koay *et al.*, 2011). Segundo Miloglu e colaboradores, em 2009, indivíduos com menos de 30 anos apresentaram uma chance maior de apresentar a GMB (OR: 6.7).

No que se refere à classificação econômica, não há estudos correlacionando a GMB com esse parâmetro. Neste estudo, observou-se uma predominância da classe B2 (17) no grupo caso e da classe B1 (21) no grupo controle. No Brasil, observa-se que 23% da população encontra-se na classe B.

Muitos estudos têm discutido o papel da ansiedade ou do estresse na manifestação da GMB (Shapiro & Shklar, 1973; Gonzaga *et al.*, 1995; Marcucci, 2005; Schulman & Carpenter, 2006; Carvalho *et al.*, 2010; Shobha & Barkha, 2011). Segundo Gonzaga e colaboradores, em 1995, o estresse é fator responsável pela etiopatologia da GMB em 64% dos casos. A fim de mensurar essa variável, utilizou-se uma escala amplamente divulgada no âmbito da psicologia: Escala de Ansiedade de Hamilton. A partir desse parâmetro, foi possível sugerir um forte papel do estresse e da ansiedade em uma doença inflamatória, como é o caso da GMB. Os valores obtidos para o grupo caso indicam um nível de estresse mais elevado na população que apresenta essas lesões, quando comparados com os valores da população sem GMB. Vale reforçar que é a primeira vez que um método quantitativo foi utilizado para medir o estresse na população de GMB.

Apesar de um estudo (Assimakopoulos *et al.*, 2002) mostrar relação entre GMB e doenças sistêmicas, essa associação não foi encontrada nessa pesquisa, nem mesmo para aparentados de primeiro grau. Vale ressaltar que existem estudos que mostram uma relação direta entre pacientes com psoríase e GMB (Zargari, 2006; Tomb, 2010; Dreyer & Brown, 2012; Germi *et al.*, 2012). Foi identificado neste

estudo somente um paciente com psoríase e esse paciente apresentava GMB. Também não houve associação com a medicação de uso sistêmico.

A relação entre GMB e alergias ainda é incerta. Apesar de alguns estudos mostrarem uma relação direta entre essas condições patológicas (Miloglu *et al.*, 2009; Goregen *et al.*, 2010), ainda não há consenso na comunidade científica.

Com relação à história de tabagismo, sabe-se que os indivíduos não fumantes têm uma chance maior de desenvolver GMB (OR: 6.3 – Miloglu *et al.*, 2009). O tabaco já foi considerado por alguns autores como fator protetor ao desenvolvimento da doença (OR: 0.4 – Schulmann & Carpenter, 2006). No nosso estudo, essa relação não ficou evidenciada. No que se refere à história de etilismo, não há estudos correlacionando essa variável ao desfecho de GMB. Sabe-se também que existe um viés de resposta muito importante quando se questiona um indivíduo se ele é etilista.

A presença de língua fissurada associada à GMB já tem sido descrita na literatura por muitos autores (Ghose & Baghdady, 1982; Brooks & Balciunas, 1987; Darwazeh & Pillai, 1993; Yarom *et al.*, 2004; Jankittivong & Langlais, 2005; Miloglu *et al.*, 2009; Goswami *et al.*, 2012). Schulman & Carpenter, em 2006, afirmaram que um indivíduo com língua fissurada apresenta 17,5 vezes mais chance de apresentar GMB do que um indivíduo sem essa condição. No estudo em questão aproximadamente metade da amostra do grupo caso apresentava língua fissurada, o que corrobora com os achados citados.

Com relação ao índice CPOD não há na literatura nenhum estudo que correlacione esse variável com a presença da GMB. Após a análise do índice CPOD dos indivíduos da amostra, foi encontrada uma associação estatisticamente importante: pacientes do grupo caso possuem valor médio do índice CPOD mais alto quando comparado ao grupo controle. Uma explicação para esse fato pode estar relacionada à diminuição no fluxo salivar em pacientes com alto nível de stress. Outra explicação poderia estar relacionada ao aumento da ingestão de alimentos em pacientes com ansiedade.

Na análise citológica, o estudo em questão encontrou várias alterações celulares relacionadas à GMB. No conhecimento dos autores, não há estudos que avaliaram citologicamente essa lesão. A presença dessas alterações citológicas leva à definição de um padrão citológico da doença, o que pode auxiliar no diagnóstico clínico da GMB. A citologia esfoliativa já é recomendada, por alguns autores, como

meio de diagnóstico auxiliar de diversas lesões bucais (Shafer, Hine & Levy, 1987; Coleman, 1996). O padrão citológico encontrado condiz com um esfregaço inflamatório, com diminuição do tamanho do citoplasma, alterando a relação núcleo/citoplasma. Observa-se um aumento das células escamosas parabasais, diminuição da metacromasia celular, presença de halo perinuclear e espessamento dos bordos nucleares, que são características de condições inflamatórias. Segundo Carvalho, em 2002, as células parabasais são raramente encontradas em esfregaços bucais normais. Também observou-se a presença de binucleação no grupo caso. A binucleação é um achado frequente tanto em esfregaços inflamatórios quanto em esfregaços pré-neoplásicos e neoplásicos. No caso da binucleação, quando ela apresenta com distribuição uniforme da cromatina e carioteca regular, elas representam especificamente processos inflamatórios (Carvalho, 2002).

Durante os anos, alguns estudos mostraram um componente genético associado à GMB. Foi observado um componente hereditário na etiologia da GMB, com padrão de transmissão autossômico dominante (Redman *et al.*, 1972; Kullaa-Mikkonen, 1988). Esses estudos observaram que uma mutação em único gene não seria suficiente para explicar a variação do fenótipo, o que sugere fortemente que vários genes podem contribuir para o desfecho, controlando a suscetibilidade individual. A partir desses estudos e das características inflamatórias da GMB, intencionou-se investigar uma possível associação de polimorfismos - que são variações gênicas comuns nas populações - no gene da interleucina-6, um mediador pró-inflamatório central da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro - que modula aspectos da resposta celular e humoral, associada a inúmeras condições patológicas complexas, com a GMB. Existe um único estudo na literatura de Guimarães e colaboradores, em 2007, investigando polimorfismos funcionais nos genes *IL1B* (IL-1 beta), *IL6* e *TNFA* (fator de necrose tumoral alpha) em pacientes com GMB. Observou-se que o polimorfismo +3954 no gene *IL1B* esteve associado com maior risco de desenvolver a GMB (OR: 2.76). Não foi observada associação entre os demais polimorfismos e a GMB. Contudo vale ressaltar que esse estudo trabalhou somente com o polimorfismo funcional: IL-6-174 (G/C), o que deixou descoberta a maior parte da extensão gênica. Nesse estudo, optou-se por trabalhar com tagSNPs, analisando bins, os quais podem capturar toda a informação de um gene. Essa metodologia mostra um excelente custo-benefício, reduzindo tempo e

custos (Liu *et al.*, 2010). Além disso, optou-se por trabalhar com a população Youruba (YRI), ao invés da população caucasiana (CEU), visto que a população YRI é mais antiga que a população CEU, e o máximo de informação gênica em termos de variabilidade, poderia ser obtido. O tagSNP rs2069843, localizado na região intrônica do gene (entre os éxons 4 e 5), encontrou-se associado com a GMB, na análise univariada (indivíduo com esse polimorfismo apresenta quatro vezes mais chance de desenvolver a doença). Em estudos ainda não publicados na população brasileira, esse mesmo tagSNP aparece como sugestivo de associação com algumas condições bucodentais complexas, como é o caso da perda de mini-implantes.

## CONCLUSÃO

Observou-se que a ansiedade, a presença de língua fissurada e o índice CPOD estão associados à GMB, após a análise multivariada. A relação da área do núcleo com a área do citoplasma foi maior em pacientes com GMB, devido à redução da área do citoplasma nas células desses indivíduos. Morfologicamente, o padrão citológico é condizente com um quadro inflamatório, com um aumento das células escamosas parabasais, espessamento dos bordos nucleares, diminuição da metacromasia celular, presença de halo perinuclear e binucleação. Com relação à análise de polimorfismos no gene *IL6*, somente o tagSNP rs2069843, no modelo dominante G, encontrou-se associado à presença da GMB na análise univariada.

## REFERÊNCIAS

Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS (1998). *Citocinas em imunologia celular e molecular*. Ed Revinter Ltda: São Paulo.

ABEP (2008) *Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB)*. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP).

Aidar M, Line, SR (2007). A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. *Braz Dent J* 18(2):148-52.

Assimakopoulos D, Patrikakos G, Fotika C, Elisaf M (2002). Benign migratory glossitis or geographic tongue: an enigmatic oral lesion. *Am J Med* 113(9):751-5.

Bazrafshani MR, Hajeer AH, Ollier WE, Thornhill MH (2002). IL-1B and IL-6 gene polymorphisms encode significant risk for the development of recurrent aphthous stomatitis (RAS). *Genes Immun* 3(5):302-5.

Birkedal-Hansen H (1993). Role of matrix metalloproteinase in human periodontal diseases. *J Periodontol* 64:474-484.

Brooks JK, Balciunas BA (1987). Geographic stomatitis: review of the literature and report of five cases. *JADA* 115:421-4.

Campos MI, Godoy dos Santos MC, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Bezerra FJ, Line SR (2005). Interleukin-2 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms, and early failure of dental implants. *Implant Dent* 14(4):391-6.

Casado PL, Villas-Boas R, de Mello W, Duarte ME, Granjeiro JM (2013). Peri-implant disease and chronic periodontitis: is interleukin-6 gene promoter polymorphism the common risk factor in a Brazilian population? *Int J Oral Maxillofac Implants* 28(1):35-43.

Carvalho G (2002). *Citologia oral*. Revinter: Rio de Janeiro.

Carvalho FVQ, Trigueiro M, Mangueira DFB (2010). Glossite migratória benigna ou língua geográfica: relato de caso clínico. *Int J dent* 9(3): 165-168

Chaves MM (1986). *Odontologia Social*. 3. ed. São Paulo: Artes Médicas.

Cibas ES, Ducatman BS (1996). *Cytology: Diagnostic principles and clinical correlates*. W.B. Saunders Company.

Coleman P, Watson NM (2006). Oral care provided by certified nursing assistants in nursing homes. *J Am Geriatr Soc* 54(1):138-43.

Darwazeh AM, Pillai K (1993). Prevalence of tongue lesions in 1013 Jordanian dental outpatients. *Community Dent Oral Epidemiol* 21(5):323-4.

Dombi C, Czeglédy A (1992). Incidence of tongue diseases based on epidemiologic studies (review of the literature). *Fogorv Sz* 85(11):335-41.

Dreyer LN, Brown GC (2012). Oral manifestations of psoriasis. Clinical presentation and management. *N Y State Dent J* 78(3):14-8.

Femiano F (2001). Geographic tongue (migrant glossitis) and psoriasis. *Minerva Stomatol* 50(6): 213–217.

Galicia JC, Tai H, Komatsu Y, Shimada Y, Ikezawa I, Yoshie H (2006). Interleukin-6 receptor gene polymorphisms and periodontitis in a non-smoking Japanese population. *J Clin Periodontol* 33(10):704-9.

Germi L, De Giorgi V, Bergamo F, Niccoli MC, Kokelj F, Simonacci M, Satriano RA, Priano L, Massone C, Pigatto P, Filosa G, De Bitonto A, Veller Fornasa C (2012). Psoriasis and oral lesions: Multicentric study of oral mucosa diseases in italian group (GIPMO). *Dermatology Online Journal* 18 (1): 11.

Goregen M, Melikoglu M, Miloglu O, Erdem T (2010). Predisposition of allergy in patients with benign migratory glossitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 110(4):470-4.

Ghose LJ, Baghdady, VS (1982). Prevalence of geographic and plicated tongue in 6090 Iraqi schoolchildren. *Community Dent Oral Epidemiol* 10:214-6.

Goswami M, Verma A, Verma M (2012). Benign migratory glossitis with fissured tongue. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 30(2): 173-175.

Gonzaga HFS, Gonzaga LHS, Costa CAS (1995). Aspectos epidemiológicos e etiológicos na língua geográfica. *Rev Odontol UNESP* 24(1): 169-77.

Guimarães AL, Correia-Silva Jde F, Diniz MG, Xavier GM, Horta MC, Gomez RS (2007). Investigation of functional gene polymorphisms: IL-1B, IL-6 and TNFA in benign migratory glossitis in Brazilian individuals. *J Oral Pathol Med* 36(9):533-7.

Guimarães AL, Correia-Silva Jde F, Sá AR, Victória JM, Diniz MG, Costa Fde O, Gomez RS (2007). Investigation of functional gene polymorphisms IL-1beta, IL-6, IL-10 and TNF-alpha in individuals with recurrent aphthous stomatitis. *Arch Oral Biol* 52(3):268-72.

Guy M, Lowe LC, Bretherton-Watt D, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, Thomas V, Colston KW (2004). *Clin Cancer Res*. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk 10(16):5472-81.

Hamilton M (1959). The Assessment of Anxiety States by Rating. *British Journal of Medical Psychology* 32:50-55.

Hirano T (2010). Interleukin 6 in autoimmune and inflammatory diseases: a personal memoir. *Proc Jpn Acad* 86:717-730.

Hirano T, Akira S, Tega T, Kishimoto T (1990). Biological and clinical aspects of interleukine-6. *Immunol Today*, 11, 443–449.

Jainkittivong A, Langlais RP (2005). Geographic tongue: clinical characteristics of 188 cases. *J Contemp Dent Pract* 156(1):123-35.

Jansson H, Lyssenko V, Gustavsson A, Hamberg K, Söderfeldt B, Groop L, Bratthall G (2006). Analysis of the interleukin-1 and interleukin-6 polymorphisms in patients with chronic periodontitis. A pilot study. *Swed Dent J* 30(1):17-23.

Koay CL, Lim JA, Siar CH (2011). The prevalence of tongue lesions in Malaysian dental outpatients from the Klang Valley area. *Oral Dis* 17(2):210-6.

Koss LG, Gompel C (1996). *Introdução à Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas*, Roca: São Paulo.

Korstanje R, Paigen B (2002). From QTL to gene: the harvest begins. *Nat Genet* 31(3):235-6.

Kullaa-Mikkonen, A (1988). Familial study of fissured tongue. *Scand. J. Dent. Res* 96: 366-375.

Lee LG, Connell CR, Bloch W (1993). Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Res* 21:3761-3766.

Liu G, Wang Y, Wong L (2010). FastTagger: an efficient algorithm for genome-wide tag SNP selection using multi-marker linkage disequilibrium. *BMC Bioinformatics* 11(1):66.

Loss BG, Van de Velden U (2005). A genética relacionada à periodontite. In: Lindhe J et al. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*. 4 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro.

Marcucci G (2005). *Fundamentos de Odontologia: Estomatologia*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Marks R, Radden BG (1981). Geographic tongue: a clinicopathological review. *Aust J Dermatol* 22:75-9.

Miloğlu O, Göregen M, Akgül HM, Acemoğlu H (2009). The prevalence and risk factors associated with benign migratory glossitis lesions in 7619 Turkish dental outpatients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 107(2):e29-33.

Morange PE, Saut N, Alessi MC, Frere C, Hawe E, Yudkin JS, Tremoli E, Margaglione M, Di Minno G, Hamsten A, Humphries SE, Juhan-Vague I (2005). Interaction between the C-260T polymorphism of the CD14 gene and the plasma IL-6 concentration on the risk of myocardial infarction: the HIFMECH study. *Atherosclerosis* 179(2):317-23.

Moreira PR, Lima PM, Sathler KO, Imanishi SA, Costa JE, Gomes RS, Gollob KJ, Dutra WO (2007). Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol* 148(1):119-26.

Nibali L, Donos N, Farrell S, Ready D, Pratten J, Tu YK, D'Aiuto F (2010). Association between interleukin-6 -174 polymorphism and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in chronic periodontitis. *J Periodontol* 81(12):1814-9.

Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamodrakas SJ, Bagos PG (2008). Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol* 35(9):754-67.

Papanicolau GN; Traut HF (1948). *Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear*. New York: Commole/Ionwealth fund.

Peláez-Esteban M, Esparza-Gómez, G, Cancela-Rodrigues P, Llamas-Martinez S (2004). Patología (pseudopatología) lingual observada en la facultad de odontología de la UCM. *RCOE: Rev Ilustre Cons Gen Col Odontól Estomatól Esp* 9(4):381-390.

Pereira JV, Forte FDS, Ely MR, Sampaio MCC (2002). Alterações linguais em crianças do Estado da Paraíba. *Rev bras ciênc saúde* 6(2):157-162.

Rao M, Jaber BL, Balakrishnan VS (2005). Gene polymorphism association studies in dialysis: cardiovascular disease. *Semin Dial* 18(3):217-25.

Redman RS, Shapiro BL, Gorlin RJ (1972). Hereditary component in the etiology of benign migratory glossitis. *Am J Hum Genet* 24(2):124-33.

Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK (2008). *Patologia Oral*. Elsevier, São Paulo.

Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Carinci F, Testori T, Zuffetti F, Monguzzi R, Lauritano D (2012). IL6 and IL10 are genetic susceptibility factors of periodontal disease. *Dent Res J (Isfahan)* 9(Suppl 2):S197-201.

Schuller DE and Schleuning AJ (1994): *DeWeese and Saunders' otolaryngology-head and neck surgery*. 8th ed. Mosby-Year Book: St. Louis.

Sengüven B, Oygür T (2011). Investigation of interleukin-1 alpha and interleukin-6 expression and interleukin-1 alpha gene polymorphism in keratocystic odontogenic tumors and ameloblastomas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16(4):e467-72.

Shafer WG, Hine MK, Levy BM (1987). *Tratado de Patologia Bucal*. 4ª. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro.

Shao MY, Huang P, Cheng R, Hu T (2009). Interleukin-6 polymorphisms modify the risk of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B* 10(12):920-7.

Shulman JD, Carpenter WM (2006). Prevalence and risk factors associated with geographic tongue among US adults. *Oral Dis* 12(4):381-6.

Shapiro SM, Shklar G (1973). Stomatitis aerata migrans. *Oral Surg* 36:28-33.  
Shobha B, Barkha N (2011). Benign migratory glossitis: Report of two cases. *Indian J Dent Adv* 3(4): 708-710.

Sun XF, Ahmadi A, Arbman G, Wallin A, Asklid D, Zhang H (2005). Polymorphisms in sulfotransferase 1A1 and glutathione S-transferase P1 genes in relation to colorectal cancer risk and patients' survival. *World J Gastroenterol* 21;11(43):6875-9.

Tervonen T, Raunio T, Knuutila M, Karttunen R (2007). Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 34(5):377-83.

Trevilatto PC, Line SR (2000). Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments. *J Forensic Odontostomatol* 18(1):6-9.

Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, de Brito RB Jr, de Souza AP, Line SR (2003). Polymorphism at position -174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. *J Clin Periodontol* 30(5):438-42.

Vairaktaris E, Yiannopoulos A, Vylliotis A, Yapijakis C, Derka S, Vassiliou S, Nkenke E, Serefoglou Z, Ragos V, Tsigris C, Vorris E, Critselis E, Avgoustidis D, Neukam FW, Patsouris E (2006). Strong association of interleukin-6 -174 G>C promoter polymorphism with increased risk of oral cancer. *Int J Biol Markers* 21(4):246-50.

Vairaktaris E, Yapijakis C, Serefoglou Z, Avgoustidis D, Critselis E, Spyridonidou S, Vylliotis A, Derka S, Vassiliou S, Nkenke E, Patsouris E (2008). Gene expression polymorphisms of interleukins-1 beta, -4, -6, -8, -10, and tumor necrosis factors-alpha, -beta: regression analysis of their effect upon oral squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 134(8):821-32.

Takahashi M. Citologia prática dos órgãos: sistema nervoso central. In Takahashi M: Atlas colorido de citologia do câncer. Ed 2. São Paulo: Manóle, 1982, p 386-408.

Tomb R, Hajj H, Nehme E (2010). Manifestations buccales du psoriasis. Oral lesions in psoriasis. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* 137(11):695-702.

Van der Poll T, Keogh CV, Guirao X, Buurman WA, Kopf M, Lowry SF (1997). Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 176 (2): 439-444.

Van de Wal N, van der Kwast WA, van Dijk E, van der Waal I (1988). Geographic stomatitis and psoriasis. *Int J Oral Maxillofac* 17:106-109.

Vörös-Balog T, Dombi C, Vincze N, Bánóczy J (1999). Epidemiologic survey of tongue lesions and analysis of the etiologic factors involved. *Fogorv Sz* 92(5):157-63.

Xavier GM, de Sá AR, Guimarães AL, da Silva TA, Gomez RS (2007). Investigation of functional gene polymorphisms interleukin-1beta, interleukin-6, interleukin-10 and

tumor necrosis factor in individuals with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 36(8):476-81.

Warnock GR, Correll RW, Pierce GL, Hatch CL (1986). Multiple, shallow, circinate mucosal erosions on the soft palate and base of uvula. *JADA* 112:523-4.

Yarom N, Cantony U, Gorsky M (2004). Prevalence of fissured tongue, geographic tongue and median rhomboid glossitis among Israeli adults of different ethnic origins. *Dermatology* 209(2):88-94.

Zargari O (2006). The prevalence and significance of fissured tongue and geographical tongue in psoriatic patients. *Clinical and Experimental Dermatology* 31(2):192-5.

Zhang HY, Feng L, Wu H, Xie XD (2013). The association of IL-6 and IL-6R gene polymorphisms with chronic periodontitis in a Chinese population. *Oral Dis* 29.

## TABELAS

TABELA 1 - Dados epidemiológicos da amostra (grupo caso, n=44, e grupo controle, n=131).

Variável		Grupo Caso	Grupo Controle	Valor de p*	OR (IC95%)
<b>Idade</b>	Média ± dp	33,7 ± 12,5	32,9 ± 12,0	0,694 <sup>a</sup>	-
<b>Gênero</b>	n (%)				
Masculino		19 (43,2)	58 (44,6)		
Feminino		25 (56,8)	72 (55,4)	1 <sup>b</sup>	1,06 (0,53 – 2,11)
<b>Etnia</b>	n (%)				
Caucasianos		38 (86,4)	115 (87,8)		
Não caucasianos		6 (13,6)	16 (12,2)	0,796 <sup>b</sup>	1,13 (0,41 – 3,11)
<b>Classificação econômica</b>	Mediana (min-max)	21 (2 – 31)	17 (1 – 31)	0,058 <sup>c</sup>	-
<b>Escala de ansiedade</b>	Mediana (min-max)	13 (1 – 42)	8 (0 – 31)	<b>0,001<sup>c</sup></b>	-
<b>Doença sistêmica</b>	n (%)				
Não		21 (47,7)	70 (53,4)		
Sim		23 (52,3)	61 (46,6)	0,601 <sup>b</sup>	1,26 (0,63 – 2,49)
<b>Doença sistêmica - familiar 1º grau</b>	n (%)				
Não		8 (18,2)	33 (25,2)		
Sim		36 (81,8)	98 (74,8)	0,414 <sup>b</sup>	1,52 (0,64 – 3,59)
<b>Medicação Contínua</b>	n (%)				
Não		19 (43,2)	66 (50,4)		
Sim		25 (56,8)	65 (49,6)	0,486 <sup>b</sup>	1,34 (0,67 – 2,66)
<b>Alergia</b>	n (%)				
Não		32 (72,7)	96 (73,3)		
Sim		12 (27,3)	35 (26,7)	1 <sup>b</sup>	1,03 (0,48 – 2,22)
<b>Tabagismo</b>	n (%)				
Não		39 (88,6)	123 (93,9)		
Sim		5 (11,4)	8 (6,1)	0,317 <sup>b</sup>	1,97 (0,61 – 6,38)
<b>Etilismo</b>	n (%)				
Não		24 (54,5)	66 (50,4)		
Sim/Socialmente		20 (45,4)	65 (49,6)	0,728 <sup>b</sup>	0,85 (0,43 – 1,68)
<b>CPOD</b>	Mediana (min-max)	10,5 (0 – 28)	7 (0 – 25)	<b>0,002<sup>c</sup></b>	-
<b>Língua fissurada</b>	n (%)				
Não		24 (54,5)	130 (99,2)		
Sim		20 (45,5)	1 (0,8)	<b>&lt;0,001<sup>b</sup></b>	0,01 (0 – 0,07)

(a) Teste t de Student

(b) Teste exato de Fisher

(c) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

TABELA 2 – Análise citológica da amostra mostrando todos os dados morfométricos e morfológicos obtidos.

Variável	Grupo Caso n= 17	Grupo Controle n= 22	Valor de p	OR (IC 95%)
<b>Área nuclear (média)</b>	41,950 ± 11,643	38,797±8,965	0,327 <sup>a</sup>	-
<b>Área citoplasma (média)</b>	1172,246 ± 466,203	1669,011± 491,048	<b>0,001<sup>a</sup></b>	-
<b>Relação N/C (média)</b>	0,039 ± 0,071	0,024 ± 0,041	<b>&lt;0,001<sup>a</sup></b>	-
<b>Papanicolau (n %)</b>				
Esfregaço normal	1 (5,6)	14 (66,7)	<b>&lt;0,001<sup>b</sup></b>	0,03 (0 – 0,27)
Esfregaço inflamatório	17 (94,4)	7 (33,3)		
<b>Reação Inflamatória</b>				
Ausente à discreta	8 (47,1)	21 (95,5)		
Moderada à acentuada	9 (52,9)	1 (4,5)	<b>0,001<sup>b</sup></b>	0,04 (0 – 0,39)
<b>Predomínio celular</b>				
Superficiais	4 (23,5)	8 (36,4)		
Intermediárias	10 (58,8)	13 (59,1)		
Basais	3 (17,6)	1 (4,5)	0,347 <sup>b</sup>	-
<b>Células escamosas superficiais</b>				
+	12 (70,6)	10 (45,5)		
++	3 (17,7)	7 (31,8)		
+++	2 (11,8)	5 (22,7)	0,291 <sup>b</sup>	-
<b>Células escamosas intermediárias</b>				
Ausente ou +	5 (29,4)	2 (9,1)		
++	7 (41,2)	11 (50)		
+++	5 (29,4)	9 (40,9)	0,257 <sup>b</sup>	-
<b>Células escamosas parabasais</b>				
Ausente ou +	7 (41,2)	20 (90,9)		
++ ou +++	10 (58,8)	2 (9,1)	<b>0,001<sup>b</sup></b>	0,07 (0,01 – 0,40)
<b>Presença de microrganismos</b>				
Sim	13 (76,5)	19 (86,4)		
Não	4 (23,5)	3 (13,6)	0,676 <sup>b</sup>	0,51 (0,10-2,69)
<b>Tipos de microrganismos presentes</b>				
Ausente	2 (11,8)	2 (9,1)		
Flora Mista	5 (29,4)	7 (31,8)	0,982 <sup>b</sup>	
Flora Cocóide	8 (47,1)	11 (50)		
Candida sp	2 (11,8)	2 (9,1)		
<b>Pseudoeosinofilia</b>				
Sim	13 (76,5)	21 (95,5)		
Não	4 (23,5)	1 (4,6)	0,147 <sup>b</sup>	0,15 (0,02-1,54)
<b>Espessamento dos bordos nucleares</b>				
Presente	9 (52,9)	3 (13,6)		
Ausente	8 (47,1)	19 (86,4)	<b>0,014<sup>b</sup></b>	7,13 (1,52-33,43)
<b>Metacromasia</b>				
Presente	7 (41,2)	18 (81,8)		
Ausente	10 (58,8)	4 (18,2)	<b>0,017<sup>b</sup></b>	0,16 (0,04-0,66)
<b>Vacuolização</b>				
Presente	2 (11,8)	0 (0)		
Ausente	15 (88,2)	22 (100)	0,184 <sup>b</sup>	-

<b>Edema nuclear</b>				
Presente	9 (52,9)	5 (22,7)		
Ausente	8 (47,1)	17 (77,3)	0,091 <sup>b</sup>	3,83 (0,96-15,19)
<b>Halo perinuclear</b>				
Presente	12 (70,6)	4 (18,2)		
Ausente	5 (29,4)	18 (81,8)	<b>0,003<sup>b</sup></b>	10,80 (2,40-48,60)
<b>Binucleação</b>				
Presente	7 (41,2)	2 (9,1)		
Ausente	10 (58,8)	20 (90,9)	<b>0,026<sup>b</sup></b>	7,00 (1,22-40,09)
<b>Multinucleação</b>				
Presente	1 (5,9)	0 (0)		
Ausente	16 (94,1)	22 (100)	0,436 <sup>b</sup>	-
<b>Grânulos queratohialínicos</b>				
Presente	11 (64,7)	20 (90,9)		
Ausente	6 (35,3)	2 (9,1)	0,059 <sup>b</sup>	0,18 (0,03-1,07)
<b>Cariopcnose</b>				
Presente	13 (76,5)	17 (77,3)		
Ausente	4 (23,5)	5 (22,7)	1 <sup>b</sup>	0,96 (0,21-4,28)
<b>Cariorrésis</b>				
Presente	0 (0)	0 (0)		
Ausente	17 (100)	22 (100)	1 <sup>b</sup>	-
<b>Cariólise</b>				
Presente	4 (23,5)	11 (50)		
Ausente	13 (76,5)	11 (50)	0,112 <sup>b</sup>	0,31 (0,08-1,25)
<b>Apagamento dos bordos citoplasmáticos</b>				
Presente	4 (23,5)	1 (4,6)		
Ausente	13 (76,5)	21 (95,5)	0,147 <sup>b</sup>	6,46 (0,65-64,31)
<b>Homogeneização da cromatina</b>				
Presente	9 (52,9)	10 (45,5)		
Ausente	8 (47,1)	12 (54,6)	0,751 <sup>b</sup>	1,35 (0,38-4,80)
<b>Orangiofilia – alterações reativas</b>				
Hiperparaquetose e paraqueratose	13 (76,5)	12 (54,5)		
Nenhuma	4 (23,5)	10 (45,5)	0,193 <sup>b</sup>	2,71 (0,67 – 10,58)
<b>Alteracoes displásicas e neoplásicas</b>				
Presente	6 (35,3)	2 (9,1)		
Ausente	11 (64,7)	20 (90,9)	0,059 <sup>b</sup>	5,45 (0,94-31,75)
<b>Orangiofilia – alterações displásicas</b>				
Anisonucleose e Diqueratose	4 (23,5)	1 (4,5)		
Nenhuma	13 (76,5)	21 (95,5)	0,147 <sup>b</sup>	6,46 (0,65 – 64,31)

a) Teste t student

b) Teste Exato de Fisher ou Teste qui-quadrado

TABELA 3 – Resultados da análise univariada para os tagSNPs do gene *IL6* entre o grupo caso (n=44) e o grupo controle (n=131).

Grupo		Classificação			Valor de $p^*$	OR (IC95%)
<b>rs1524107 Aditivo</b>	Estudo	CT 6 (14,0)	CC 36 (83,7)	TT 1 (2,3)	0,954	1,02 (0,46 - 2,29)
	Controle	20 (15,9)	104 (82,5)	2 (1,6)		
<b>rs1524107 Dom C</b>	Estudo	TT 1 (2,3)	CT/CC 42 (97,7)	-	0,753	1,48 (0,13 - 17,02)
	Controle	2 (1,6)	124 (98,4)	-		
<b>rs1524107 Rec C</b>	Estudo	CC 36 (83,7)	CT/TT 7 (16,3)	-	0,859	1,09 (0,43 - 2,78)
	Controle	104 (82,5)	22 (17,5)	-		
<b>rs2069835 Aditivo</b>	Estudo	TT 40 (90,9)	CT 4 (9,1)	CC 0 (0)	0,098	0,4 (0,14 - 1,19)
	Controle	100 (80,0)	23 (18,4)	2 (1,6)		
<b>rs2069835 Dom T</b>	Estudo	CC 0 (0)	CT/TT 44 (100)	-	-	-
	Controle	2 (1,6)	123 (98,4)	-		
<b>rs2069835 Rec T</b>	Estudo	TT 40 (90,9)	CT/CC 4 (9,1)	-	0,110	2,5 (0,81 - 7,76)
	Controle	100 (80,0)	25 (20,0)	-		
<b>rs2069837 Aditivo</b>	Estudo	AA 36 (85,7)	AG 6 (14,3)	GG 0 (0)	0,789	0,88 (0,33 - 2,3)
	Controle	112 (88,2)	14 (11,0)	1 (0,8)		
<b>rs2069837 Dom A</b>	Estudo	GG 0 (0)	AG/AA 42 (100)	-	-	-
	Controle	1 (0,8)	126 (99,2)	-		
<b>rs2069837 Rec A</b>	Estudo	AA 36 (85,7)	AG/GG 6 (14,3)	-	0,674	0,8 (0,29 - 2,24)
	Controle	112 (88,2)	15 (11,8)	-		
<b>rs2069838 Aditivo</b>	Estudo	CC 42 (100)	CT 0 (0)	TT 0 (0)	-	-
	Controle	123 (100)	0 (0)	0 (0)		
<b>rs2069838 Dom C</b>	Estudo	TT 0 (0)	CT/CC 42(100)	-	-	-
	Controle	0 (0)	123 (100)	-		
<b>rs2069838 Rec C</b>	Estudo	CC 42 (100)	CT/TT 0 (0)	-	-	-
	Controle	123 (100)	0 (0)	-		
<b>rs2069840 Aditivo</b>	Estudo	CG 15 (38,5)	CC 20 (51,3)	GG 4 (10,3)	0,464	1,22 (0,71 - 2,1)
	Controle	48 (41,0)	53 (45,3)	16 (13,7)		
<b>rs2069840 Dom C</b>	Estudo	GG 4 (10,3)	CG/CC 35 (89,7)	-	0,582	0,72 (0,22 - 2,33)
	Controle	16 (13,7)	101 (86,3)	-		
		CC	CG/GG			

<b>rs2069840 Rec C</b>	Estudo	20 (51,3)	19 (48,7)	-	0,517	1,27 (0,61 - 2,64)
	Controle	53 (45,3)	64 (54,7)	-		
<b>rs2069842 Aditivo</b>		GG	AG	AA	-	-
	Estudo	41 (97,6)	1 (2,4)	0 (0)		
	Controle	123 (100)	0 (0)	0 (0)		
<b>rs2069842 Dom G</b>		AA	AG/GG		-	-
	Estudo	0 (0)	42 (100)	-		
	Controle	0 (0)	123 (100)	-		
<b>rs2069842 Rec G</b>		GG	AG/AA		-	-
	Estudo	41 (97,6)	1 (2,4)	-		
	Controle	123 (100)	0 (0)	-		
<b>rs2069843 Aditivo</b>		GG	AA	AG	0,228	1,49 (0,78 - 2,85)
	Estudo	37 (88,1)	5 (11,9)	0 (0)		
	Controle	111 (90,2)	4 (3,3)	8 (6,5)		
<b>rs2069843 Dom G</b>		AA	AG/GG		<b>0,047</b>	4,02 (1,01 - 16,04)
	Estudo	5 (11,9)	37 (88,1)	-		
	Controle	4 (3,3)	119 (96,7)	-		
<b>rs2069843 Rec G</b>		GG	AG/AA		0,693	0,8 (0,26 - 2,44)
	Estudo	37 (88,1)	5 (11,9)	-		
	Controle	111 (90,2)	12 (9,8)	-		
<b>rs2069845 Aditivo</b>		AA	AG	GG	0,170	0,7 (0,42 - 1,17)
	Estudo	15 (35,7)	18 (42,9)	9 (21,4)		
	Controle	52 (43,0)	55 (45,5)	14 (11,6)		
<b>rs2069845 Dom A</b>		GG	AG/AA		0,120	2,08 (0,82 - 5,3)
	Estudo	9 (21,4)	33 (78,6)	-		
	Controle	14 (11,6)	107 (88,4)	-		
<b>rs2069845 Rec A</b>		AA	AG/GG		0,411	0,74 (0,35 - 1,53)
	Estudo	15 (35,7)	27 (64,3)	-		
	Controle	52 (43,0)	69 (57,0)	-		

\*Modelo de Regressão Logística, teste de Wald,  $p < 0,05$

## FIGURAS



Fig 01. Aspecto clínico da glossite migratória benigna: múltiplas áreas planas avermelhadas com perda das papilas filiformes no dorso da língua.

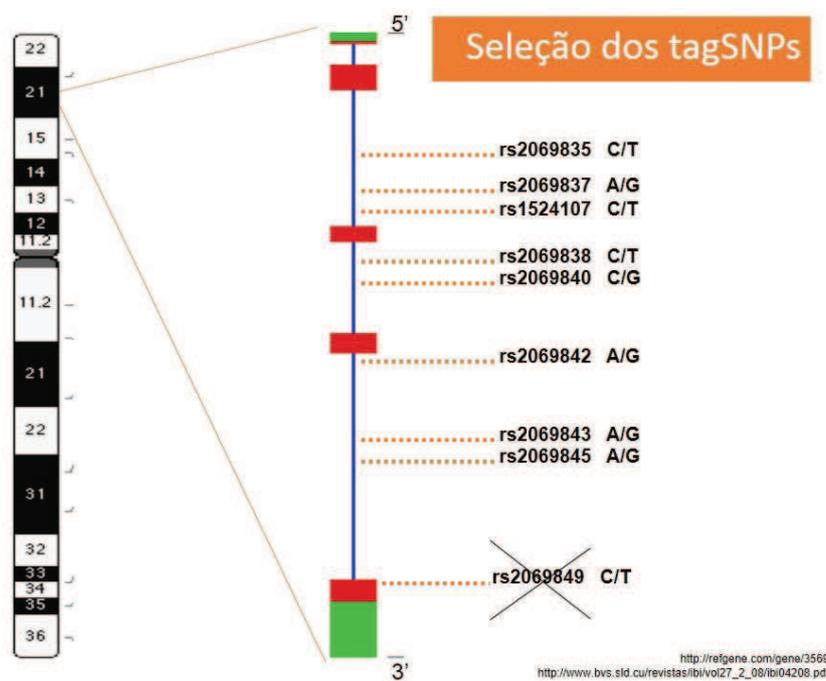


Fig 2. Localização do *IL6* no cromossomo 7. Localização dos Tag SNPs selecionados para o estudo.

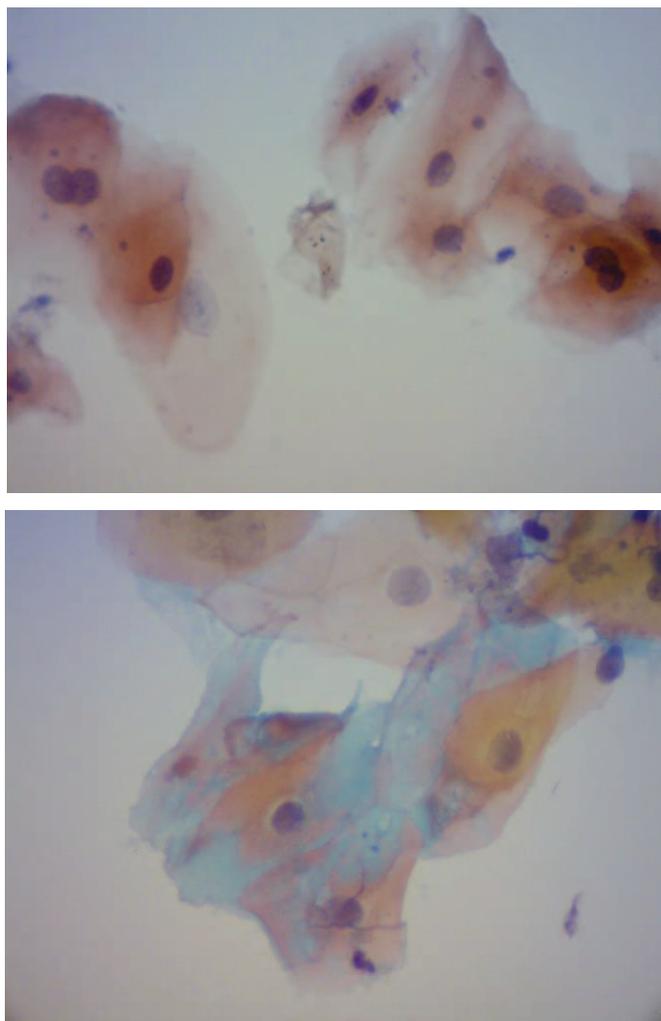


Fig 3. Padrão citológico dos pacientes com GMB: relação núcleo citoplasma aumentada devido a diminuição do citoplasma, binucleação e presença do halo perinuclear.

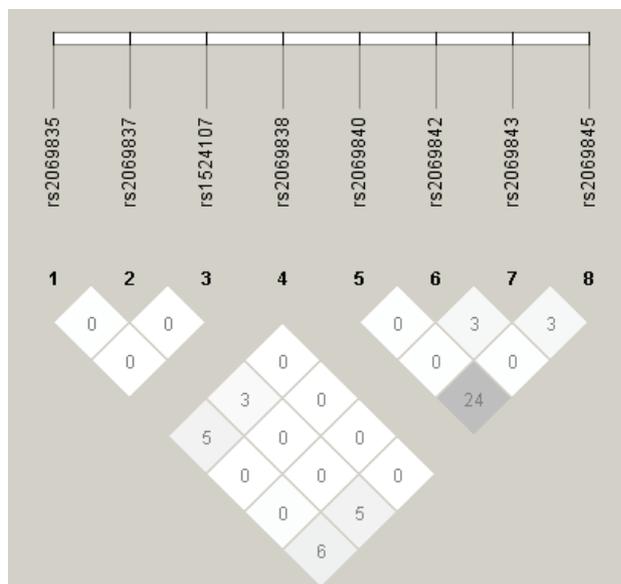


Fig. 4. Análise de desequilíbrio de ligação (DL) entre os tagSNPs do gene *IL6* ( $r^2 > 0,8$ ). O número dentro dos quadrados indica a proporção de DL em %. A intensidade da cor dos quadrados reflete o grau de DL entre dois *loci*: quanto mais escuro o tom da cor, maior o grau de DL entre os SNPs.

ANEXO I -

FICHA CLÍNICA

Número \_\_\_\_\_

Caso

Controle

**1. DATA DO EXAME:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_**2. DADOS PESSOAIS**

Nome \_\_\_\_\_ (iniciais): \_\_\_\_\_

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

Sexo: ( ) F ( ) M Idade: \_\_\_\_\_

Raça: ( ) Branco  
 ( ) Amarelo  
 ( ) Indígena  
 ( ) Pardo  
 ( ) Preto

**3. CLASSIFICAÇÃO ECONÔMICA**

Número de pessoas que moram na casa (inclusive o sujeito da pesquisa): \_\_\_\_\_

ITEM	QUANTIDADE
Televisão em cores	
Rádio (vale também <i>microsystem</i> ou rádio tipo <i>walkman</i> )	
Banheiro	
Automóvel	
Empregada mensalista (que trabalha pelo menos 5 dias por semana)	
Aspirador de pó	
Máquina de lavar roupa	
DVD	
Geladeira duplex (com duas portas)	
Geladeira simples (não duplex)	
Freezer	

Grau de instrução do provedor financeiro da família

	Mãe	Pai	Sujeito
Analfabeto			
Primário incompleto			
Primário completo			
Ginásial incompleto			
Ginásial completo			

Colegial incompleto			
Colegial completo			
Superior incompleto			
Superior completo			

Total de Pontos: \_\_\_\_\_

Classe A1 ( ) Classe A2 ( ) Classe B1( ) Classe B2 ( )

Classe C ( ) Classe D ( ) Classe E ( )

#### 4. ESCALA DE HAMILTON

Escores	0= ausência	1= intensidade ligeira	2= intensidade média	3= intensidade forte	4= intensidade máxima (incapacitante)
HUMOR ANSIOSO- inquietude, temor do pior, apreensão quanto ao futuro ou presente, irritabilidade:	0	1	2	3	4
TENSÃO - sensação de tensão, fadigabilidade, tremores, choro fácil, incapacidade de relaxar, agitação, reações de sobressalto:	0	1	2	3	4
MEDO - de escuro, de desconhecidos, de multidão, de ser abandonado, de animais grandes, de trânsito :	0	1	2	3	4
INSÔNIA - dificuldade de adormecer, sonhos penosos, sono interrompido, sono insatisfatório, fadiga ao acordar, pesadelos, terrores noturnos:	0	1	2	3	4
DIFICULDADES INTELECTUAIS - dificuldade de concentração, distúrbios de memória;	0	1	2	3	4
HUMOR DEPRESSIVO - perda de interesse, humor variável, indiferença às atividades de rotina, despertar precoce, depressão;	0	1	2	3	4
SINTOMAS SOMÁTICOS GERAIS (MUSCULARES) - dores e lassidão muscular, rigidez muscular, mioclonias, ranger de dentes, voz insegura:	0	1	2	3	4
SINTOMAS SOMÁTICOS GERAIS (SENSORIAIS) - visão turva, ondas de calor ou frio, sensação de fraqueza, sensação de picada, zumbidos:	0	1	2	3	4
SINTOMAS CARDIOVASCULARES - taquicardia, palpitações, dores pré-cordiais, batidas, pulsações arteriais, sensação de desmaio:	0	1	2	3	4
SINTOMAS RESPIRATÓRIOS -sensação de opressão, dispnéia, constrição torácica, suspiro, bolo faríngeo:	0	1	2	3	4
SINTOMAS GASTROINTESTINAIS - dificuldade de engolir, aerofagia, dispepsia, dor pré ou pós-prandial, queimações, empanzimento, náuseas, vômitos, cólicas diarréias, constipação, perda de peso:	0	1	2	3	4

SINTOMAS GÊNITO-URINÁRIOS - micções freqüentes, urgência de micção, frigidez amenorréia, ejaculação precoce, ausência de ereção, impotência:	0	1	2	3	4
SINTOMAS DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO - secura na boca, ruborização, palidez, tendência à sudorese, vertigens, cefaléia de tensão:	0	1	2	3	4
COMPORTAMENTO NA ENTREVISTA - <u>Geral</u> : tenso, pouco à vontade, agitação das mãos, dos dedos tiques, inquietação, respiração suspirosa. <u>Fisiológico</u> : eructações, taquicardia em repouso, ritmo respiratório > 20 rpm:	0	1	2	3	4
<b>TOTAL :</b>					

## 5. HISTÓRIA MÉDICA

Data da última consulta médica: \_\_\_\_\_

Está em tratamento médico? Especialidade? \_\_\_\_\_

Fez algum tipo de cirurgia? Qual? \_\_\_\_\_

Doenças	Paciente				Familiares 1 grau				Observações
		sim		não		sim		não	
Diabetes		sim		não		sim		não	_____
Hepatite		sim		não		sim		não	_____
HIV		sim		não		sim		não	_____
Sífilis		sim		não		sim		não	_____
Febre Reumática		sim		não		sim		não	_____
Tuberculose		sim		não		sim		não	_____
Doenças Renais		sim		não		sim		não	_____
Doenças Respiratórias		sim		não		sim		não	_____
Doenças Cardíacas		sim		não		sim		não	_____
Doenças Gastrointestinais		sim		não		sim		não	_____
Doenças Reumáticas		sim		não		sim		não	_____
Doenças Sanguíneas		sim		não		sim		não	_____
Doenças Auto Imunes		sim		não		sim		não	_____
Hipertensão		sim		não		sim		não	_____

Faz uso de alguma medicação? Qual? \_\_\_\_\_

Utilizou medicação nos três últimos meses? Qual? \_\_\_\_\_

É alérgico a alguma coisa? Algum medicamento? \_\_\_\_\_

Fumante? Ex-fumante? Cigarros/dia? \_\_\_\_\_

Bebida de álcool? Frequência? \_\_\_\_\_

MULHER:

Grávida? Quantos meses? \_\_\_\_\_

Lactante? \_\_\_\_\_

Anticoncepcional? \_\_\_\_\_

Reposição hormonal? \_\_\_\_\_

## 6. HISTÓRIA ODONTOLÓGICA

Data da última consulta odontológica \_\_\_\_\_

Está em tratamento odontológico? Qual? \_\_\_\_\_

Quantas vezes escova os seus dentes por dia? \_\_\_\_\_

Fio dental? Quantas vezes? \_\_\_\_\_

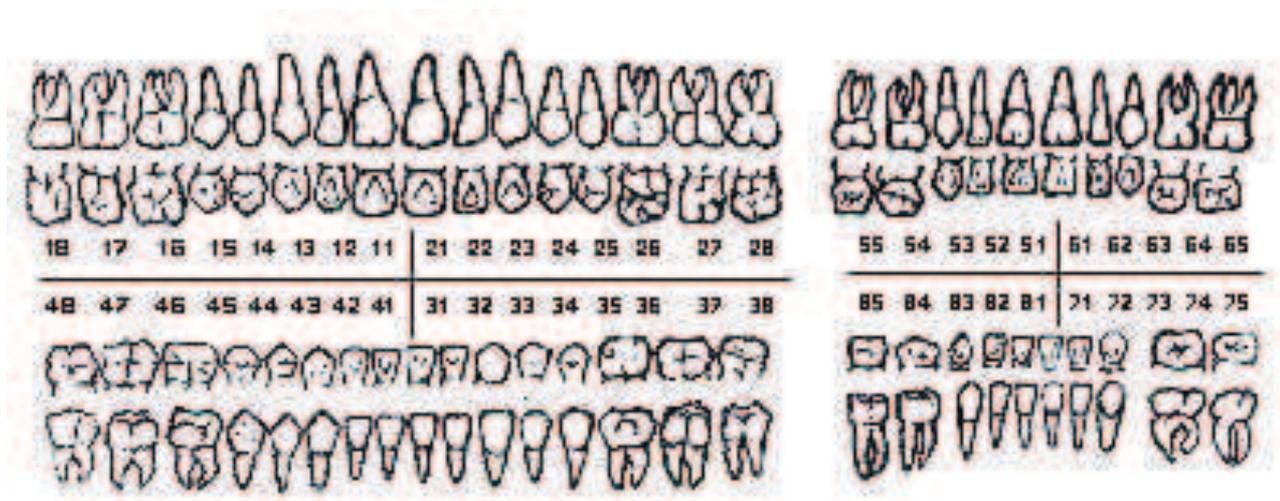
Enxaguatório bucal? Qual? Quantas vezes? \_\_\_\_\_

Gengiva sangra na escovação? \_\_\_\_\_

Bruxismo? Apertamento dental? \_\_\_\_\_

Boca seca? Ardência bucal? \_\_\_\_\_

## CPOD



C: \_\_\_\_\_ P: \_\_\_\_\_ O: \_\_\_\_\_ TOTAL: \_\_\_\_\_

## 7. ALTERAÇÃO

GLOSSITE MIGRATÓRIA BENIGNA

( ) Sim

( ) Não

LÍNGUA FISSURADA

( ) Sim

( ) Não



## ANEXO II - NORMAS PARA PUBLICAÇÃO: ORAL DISEASE

### Author Guidelines

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

**Relevant Documents:** [Copyright Transfer Agreement form](#), [Online Open Order Form](#), [Colour Work Agreement Form](#)

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

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

### 1. GENERAL

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.

### 2. ETHICAL GUIDELINES

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

#### 2.1. Authorship and Acknowledgements

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

*Oral Diseases* 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.

As of September 1st 2007, 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.

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](http://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://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.

### **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://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs\\_copyright.asp](http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp).

### ***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](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://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs\\_copyright.asp](http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp) 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](mailto: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.

### **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.

**Review Papers:** *Oral Diseases* commissions review papers and also welcomes uninvited reviews. Reviews should be submitted via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/odi> and are subject to peer-review.

**Editorials:** These will only be solicited by the editors.

**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.

**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.

**Book Reviews:** These will be solicited by the editors.

## 5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

### 5.1. Page Charge

Articles exceeding 7 published pages are subject to a charge of GBP70 per additional page. One published page amounts approximately to 5,500 characters (excluding figures and tables).

### 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](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](http://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://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**

The journal policy is to encourage references to original papers, not to literature reviews. References in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Brown and Smith, 2005). Three or more authors should always be referred to as, for example, Jones et al., 2005.

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

A list of the references must be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors, (1975), p.36. London: The Royal Society of Medicine.

a) The arrangement of the references should be alphabetical by first author's surname.

b) The order of the items in each reference should be:

(i) for journal references:

last name(s) of all the author(s) and their initials, year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers.

(ii) for book references:

Name(s) of author(s), year, chapter title, title of book, edition, volume, town of publication, publisher, page number(s).

c) Authors' names should be arranged thus:

Smith AB and Jones DE

d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (2005).

e) The title of the paper should be included without quotation marks.

f) The journal title should be abbreviated, should be italicised, and followed by the volume number in bold type and page numbers separated by a dash.

Examples:

Gupta PC, Murti PR, Bhonsle RB, Mehta FS, Pindborg JJ (1995). Effect of cessation of tobacco use on the incidence of oral mucosal lesions in a 10-year study of 12212 users. *Oral Diseases* **1**: 54-58.

Baum BJ, Voutetakis A, Wang J (2004). Salivary glands: novel target sites for gene therapeutics. *Trends Mol Med.* **10**: 585-590.

Shear M and Speight PM (2007). *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions*. Wiley-Blackwell: Oxford.

Scully C (2004). The oral cavity and lips. In: Burns DA, Breathnach SM, Cox N, Griffiths C, eds., *Rooks Textbook of Dermatology*. 7th Edition. Blackwell Science: Oxford, pp.66.1.-66.121.

## 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).

## 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](http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html) . This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs.

Proofs must be returned to the Production Editor within **three days** of receipt.

As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in 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](#).