



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

TAÍS MACIELE DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E CITOTOXICIDADE
DOS RAIOS X NO EPITÉLIO DA MUCOSA ORAL DE
ADULTOS SUBMETIDOS À TOMOGRAFIA
COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO PARCIAL**

ARACAJU-SE

2017

TAÍS MACIELE DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE E CITOTOXICIDADE
DOS RAIOS X NO EPITÉLIO DA MUCOSA ORAL DE
ADULTOS SUBMETIDOS À TOMOGRAFIA
COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO PARCIAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a
Universidade Federal de Sergipe como pré-requisito
para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Wilton Mitsunari Takeshita.

Co-orientadora: Mestranda Juliana Batista Melo da
Fonte .

ARACAJU-SE

2017

Original research- escrita baseada nas normas da revista *Dentomaxillofacial Radiology*

Normas: <http://www.birpublications.org/page/preparing/dmfr>

Avaliação da genotoxicidade e citotoxicidade dos raios x no epitélio da musoca oral de adultos submetidos à tcfc parcial .

Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of x - rays in the oral musoca epithelium of adults submitted to cbct parcial

AUTORES:

Taís Maciele de Andrade ¹

Juliana Batista Melo da Fonte ²

Wilton Mitsunari Takeshita ³

- 1- Acadêmica de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe- UFS, Aracaju, Brasil.
- 2- Mestranda de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe(UFS), Especialista em Radiologia odontológica e Imaginologia pela Universidade Federal da Bahia(UFBA).
- 3- Radiologista, Mestre, Doutor em Radiologia Odontológica(UNESP-FOSJC) e Pós-doutor em Odontologia Integrada (UEM), professor das disciplinas de Radiologia Básica e Diagnóstico Oral da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Professor de Bioestatística do Mestrado.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a genotoxicidade e citotoxicidade dos raios X no epitélio da mucosa oral de pacientes adultos submetidos à tomografias computadorizadas de feixe cônico parciais.

Métodos: Um total de 15 adultos saudáveis submetidos à TCFC foram incluídos. A coleta do material foi realizada em duas etapas: imediatamente antes e dez dias após a obtenção da TCFC, por meio de esfregaço no fundo de vestibulo da mucosa oral. O material foi processado e foram confeccionadas as lâminas para então ser realizada a análise microscópica. Após isso, foi realizada análise estatística descritiva e inferencial ao nível de significância de 5%.

Resultados: Com relação a frequência (%) de MNC (mutagenicidade) não houve diferença estatística significante comparando os diferentes tempos de coleta antes e depois da realização das TCFCs parciais ($p=0,088$). Com relação às outras alterações avaliadas (citotoxicidade) também não houve diferença estatisticamente significante na aquisição parcial ($p=0,496$).

Conclusão: A partir desses dados concluímos que a TCFC parcial pode não induzir efeitos genotóxicos e citotóxicos, necessitando de mais estudos que viabilizem essa comparação para melhor compreensão.

Descritores: Genotoxicidade. Testes para micronúcleos. Tomografia computadorizada de feixe cônico.

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the genotoxicity and cytotoxicity of X-rays in the oral mucosa epithelium of adult patients submitted to partial conical beam computed tomography.

Methods: A total of 15 healthy adults undergoing CBCT were included. The material was collected in two stages: immediately before and ten days after the CBCT, by means of a smear in the vestibular fundus of the oral mucosa. The material was processed and the blades were prepared for the microscopic analysis. After that, a descriptive and inferential statistical analysis was performed at a significance level of 5%.

Results: With regard to frequency (%) of MNC (mutagenicity) there was no statistical difference between the different collection times before and after the partial CBCTs ($p = 0.088$). Regarding the other alterations evaluated (cytotoxicity) there was also no statistically significant difference in partial acquisition ($p = 0.496$).

Conclusion: From these data we conclude that the partial CBCT does not induce genotoxic and cytotoxic effects, requiring further studies that make this comparison possible for a better understanding

Key-words: Genotoxicity. Micronucleus test. cone beam computed tomography.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3. RESULTADOS	10
4. DISCUSSÃO.....	11
5. CONCLUSÃO.....	13
6. REFERÊNCIAS	14

INTRODUÇÃO

A tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC), é uma ferramenta que tem revolucionado o diagnóstico e o plano de tratamento na área odontológica.^{1,2} Ela é considerada um método não invasivo, rápido, fidedigno e de alta precisão diagnóstica com melhor especificidade e sensibilidade em comparação a outros métodos de diagnóstico por imagem. Esta permite visualizar todas as estruturas em camadas de imagens nos planos axiais, coronais, sagitais e oblíquas, assim como as reconstruções tridimensionais, delimitando as irregularidades, principalmente dos tecidos mineralizados, com uma definição considerável, diferente das radiografias convencionais, que projetam em um só plano todas as estruturas atravessadas pelos raios X.³⁻⁵ A TCFC possui indicação em inúmeras áreas da Odontologia, como na Implantodontia, Ortodontia, Endodontia e Cirurgia Oral Menor, oferecendo planejamento seguro e preciso.^{6,7}

Em comparação com a tomografia computadorizada helicoidal, a tecnologia da TCFC possui vantagens importantes na prática clínica, como a minimização da dose de radiação, exatidão na imagem, rápido tempo de execução e menor produção de artefatos⁸, além disso, difere ao que diz respeito ao tamanho e tipo de Voxel –na TCFC é isotrópico e na TCH é anisotrópico- e em relação ao campo de visão (FOV – “*Field of view*”).

O campo de visão, ou FOV, é a área escaneada do paciente e varia de aparelho para aparelho, levando-se em consideração principalmente o tamanho da área útil do detector ou sensor de imagem. Os aparelhos tomográficos computadorizados de feixe cônico podem ser classificados quanto ao tamanho do campo de visão (FOV): 1. aparelhos de pequeno volume; 2. aparelhos de grande volume; 3. aparelhos de grande e pequeno volume. Aparelhos de pequeno volume possuem um FOV de até 8x8 cm. A vantagem desta aquisição é poder avaliar apenas as regiões de interesse, em alta resolução, sem expor o paciente à radiação em áreas sem interesse, de forma desnecessária. Na eventual necessidade de um campo maior de imagem, dois ou mais volumes podem ser adquiridos para complementar o exame. O pequeno volume é a escolha adequada nos casos em que a alta resolução se faz necessária.⁹⁻¹¹

No entanto, apesar de a TCFC proporcionar grande benefício ao exercício da Odontologia, seu uso deve estar indicado mediante justificativa clínica, pois sabe-se que os

raios X podem induzir efeitos citotóxicos e causar danos ao DNA. O estudo da frequência de micronúcleos tem sido utilizado para verificar efeitos genotóxicos em tecidos humanos, assim como o grau de exposição e a extensão do dano que um agente ambiental provocou no DNA.^{12,13,14} Os micronúcleos são fragmentos de cromossomos ou cromossomos inteiros que foram perdidos durante a mitose celular devido a um evento clastogênico (que provoca quebra cromossômica) ou aneugênico (que interfere no fuso mitótico). Os raios X são agentes clastogênicos e induzem a formação de micronúcleos, além de outras alterações nucleares.^{15,16,17}

O epitélio da mucosa oral pode ser considerado o tecido eleito para análise dos efeitos da radiação X, pois as células esfoliadas são facilmente coletadas por meio da citologia esfoliativa. Segundo Sarto et al.¹⁸, os efeitos das radiações podem ser estudados por meio da citologia esfoliativa em base líquida, por ser de simples execução, baixo custo e não invasiva, além de otimizar a análise microscópica das lâminas com maior número de células epiteliais individuais descamadas. Para a análise do efeito dos raios X sobre tecidos epiteliais está indicado o uso do teste de micronúcleos aliado à contagem de alterações nucleares degenerativas.²⁰

Tem sido relatado que o uso de radiografias convencionais, como a radiografia panorâmica e a telerradiografia lateral, podem produzir efeitos citotóxicos e causar danos ao DNA, mas ainda são escassos os trabalhos que discutem esses efeitos citotóxicos e genotóxicos produzidos pelo uso da tomografia computadorizada de feixe cônico parcial. Em vista disso, o presente projeto de pesquisa avaliou a genotoxicidade e a citotoxicidade dos raios X no epitélio da mucosa oral de pacientes adultos submetidos à tomografia computadorizada de feixe cônico parcial.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo deu início após a submissão e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Hospital Universitário, da Universidade Federal de Sergipe, seguindo as normas da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde(CNS). A amostra constituiu-se de 15 adultos, de ambos os sexos, com idades entre 18 e 60 anos, que procuraram atendimento em uma clínica particular de radiologia odontológica na cidade de Aracaju-SE e que necessitaram da realização de Tomografia computadorizada de feixe cônico

parcial(50x37mm). Os adultos foram convidados a participar do estudo e receberam informações do mesmo. Aqueles que concordaram, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Os critérios de inclusão foram de pacientes saudáveis de ambos os sexos, sem alterações de mucosa oral e que necessitassem de TCFC parcial. Não foram incluídos adultos com doenças sistêmicas e/ou lesões na mucosa oral, adultos que foram submetidos a exame radiográfico em região de cabeça até 21 dias antes do início do estudo, adultos fumantes e/ou que fazem uso de drogas e bebidas alcoólicas, adultos que fizeram uso contínuo de colutório contendo álcool no último mês.

O processamento laboratorial foi realizado no Laboratório de Morfologia e Patologia Experimental – LMPE – da Universidade Tiradentes, Aracaju/SE-Brasil. A coleta do material e a confecção das lâminas foram testados e padronizados por meio da realização de um estudo piloto.

A coleta das células realizou-se em duas etapas: imediatamente antes e 10 dias após a obtenção da TCFC parcial. O período de dez dias foi escolhido por encontrar-se dentro do ciclo de *turnover* celular, que ocorre em até 21 dias. Foi realizado um esfregaço no fundo de vestibulo da mucosa oral na região onde foi realizada a TCFC parcial. A confecção das lâminas seguiu os seguintes passos: Os frascos foram homogeneizados em um aparelho agitador de tubos tipo vórtex à velocidade quatro, por 20 segundos. Em seguida, foram centrifugados a temperatura ambiente, por cinco minutos a 800 rpm, 130 de gravidade. As células foram dispostas cuidadosamente sobre lâminas de vidro com o auxílio de uma pipeta de 1000 µL. As lâminas foram deixadas para secar por 24hs e após secas foram coradas pela técnica Feulgen-Rossenbeck modificada

A análise microscópica foi realizada por um único examinador, e o mesmo foi calibrado por um patologista oral experiente. A contagem dos micronúcleos seguiu os critérios descritos por Sarto et al ¹⁸- consistem em pequenas massas nucleares delimitadas por membrana, separadas do núcleo principal -para mensuração dos danos ao DNA/genotoxicidade. Já para análise das alterações citotóxicas: picnose, cariorréxe, cariólise foram utilizados os critérios descritos por Tolbert et al ²⁰:

- Picnose: o núcleo é visualizado como um ponto pequeno, escuro e denso, o qual não apresenta estrutura de cromatina perceptível.

- Cariorréxe: condensação da cromatina em várias partículas, apresentando fragmentação do núcleo em pequenos corpos arredondados ou ovalados dentro do citoplasma intacto. Estas partículas são de número variável, surgindo como pontos negros ou formações alongadas, inteiramente separadas umas das outras ou ligadas por uma tênue linha de cromatina.

- Cariólise: dissolução do núcleo caracterizada pela sua ausência. Esta alteração nuclear, quando vista ao microscópio, demonstra uma coloração pálida e fraca.

O aparelho utilizado para obtenção da tomografia foi o Carestream CS 9000 3D (Carestream Health Inc Rochester/NY-Estados Unidos). O regime aplicado foi o de 70 kV, 10 mA e 10,8 segundos, sob voxel de 100 x 100 x 100 μm e FOV de 50 x 37 mm.

Para definição dos testes estatísticos a serem empregados, paramétricos ou não-paramétricos, verificou-se a normalidade das distribuições amostrais pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Assim, utilizou-se o teste paramétrico de Wilcoxon intra-grupos, para comparação da mutagenicidade e citotoxicidade, antes e depois da TCFC. A análise estatística foi desenvolvida no software IBM SPSS 22.0 Statistics for Windows (Chicago. SPSS Inc). Considerou-se $p < 0,05$ para significância estatística.

Erro intra-examinador foi avaliado. Com máquina fotográfica digital, capturou-se a imagem de 600 células no microscópio com aumento de 400 vezes. O avaliador caracterizou essas 600 células, indicando se estavam normais ou alteradas, especificando as alterações conforme os parâmetros descritos na metodologia. Essas imagens foram reavaliadas 15 dias após e cada célula foi reclassificada. Para descrever a intensidade da concordância entre dois ou mais juizes, utilizou-se a medida Kappa que é baseada no número de respostas concordantes, ou seja, no número de casos cujo resultado é o mesmo entre os juizes. O teste Kappa foi empregado para avaliar a concordância entre as avaliações, o examinador mostrou-se com concordância quase perfeita com valor de Kappa igual à 0,86.

RESULTADOS

No quadro 1 mostra a frequência de micronúcleos e outras alterações antes e após a TCFC parcial e o desvio padrão.

Com relação frequência (%) de MNC (mutagenicidade) não houve diferença estatística significativa comparando os diferentes tempos de coleta antes e depois da realização das TCFCs parciais ($p=0,088$). Com relação às outras alterações avaliadas (citotoxicidade) também não houve diferença estatisticamente significativa na aquisição parcial ($p=0,496$).

Quadro 1 Frequência (%) de Células Micronucleadas (MNC) e outras alterações por meio do Teste de Wilcoxon, antes e depois, em diferentes aquisições de tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC).

Antes da exposição				Depois da exposição				
TCFC	MNC		Outras alterações		MNC		Outras alterações	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Parcial (n=15)	11,3	±5,18	26,84	±22,95	15,01	±9,75	28,90	±24,46

* $p<0,05$ (diferença estatística significativa)

DISCUSSÃO

A tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) trata-se de um método de diagnóstico por imagem que utiliza a radiação ionizante e permite obter a reprodução de uma secção do corpo humano em quaisquer uns dos três planos do espaço. A TCFC permite analisar as estruturas em camadas, principalmente os tecidos mineralizados, com boa definição, permitindo a delimitação de irregularidades tridimensionalmente.²¹Várias são as especialidades da Odontologia, que fazem uso desse método diagnóstico de imagem para complementação do seu plano de tratamento, como a Ortodontia, Implantodontia entre outras.

Os avanços na TCFC proporcionam algumas vantagens na prática clínica como tempo de aquisição de imagens mais curtos, campo de visão (*Field of view* - FOV) menor e redução de 40% na dose de radiação que o paciente recebe nas exposições.²²Em relação ao campo de visão, a TCFC proporciona imagens com campo de visão pequeno, onde só será analisado à área de interesse, com alta resolução sem expor o paciente à radiação desnecessária. Mas, mesmo em baixa dose, sua indicação deve ser mediante justificativa clínica, pois sabe-se que à radiação ionizante podem induzir efeitos citotóxicos e causar danos ao DNA.

Uma maneira de estudar os efeitos da radiação em uma população exposta é conduzir pesquisas utilizando parâmetros biológicos com manifestações em curto prazo e identificar os

danos resultantes da exposição aos raios X. As informações obtidas podem ser usadas como um aviso do risco potencial, em longo prazo, de problemas de saúde, principalmente em crianças.¹⁷

O estudo da frequência de micronúcleos tem sido utilizado para verificar efeitos genotóxicos em tecidos humanos, assim como o grau de exposição e a extensão do dano que um agente ambiental provocou no DNA.^{12,13,14} Sua formação se deve a alterações estruturais cromossômicas espontâneas ou decorrentes de fatores ambientais²³ ou, ainda, a falhas no fuso mitótico, sendo, portanto, excluído do novo núcleo formado na telófase. O micronúcleo em ensaio de esfoliação de células bucais, é um método útil e minimamente invasivo para monitorizar alterações genéticas em seres humanos.

Lorenzoni et al ¹⁵, por meio do teste de micronúcleo, realizaram um estudo para avaliar a mutagenicidade (micronúcleo) e a citotoxicidade (cariorréxe, picnose e cariólise) em células epiteliais orais esfoliadas de crianças expostas à tomografia computadorizada de feixe cônico ou ao protocolo ortodôntico. Foi observado que não houve diferença significativa no número de células micronucleadas entre o período pré e pós-irradiação em ambos os grupos, não evidenciando efeito mutagênico; Esse resultado foi semelhante ao observado no presente trabalho de pesquisa, em que não houve diferença antes e depois da TCFC. Por outro lado, a radiação ionizante causou alterações nucleares relacionadas a citotoxicidade nos dois grupos, especialmente no que realizou a TCFC. Em contra posição, nosso trabalho obteve resultado diferente em relação à citotoxicidade em que não houve diferença estatisticamente significativa antes e depois da TCFC; Esse resultado achado pode estar relacionado ao equipamento de TCFC, cuja à aquisição no trabalho de Lorenzoni et al ¹⁵, foi utilizado o Icant com dois protocolos de obtenção de imagem: FOV 13 cm (120 kV, 46,72 mAs, 40 segundos) e FOV 22 cm (120 kV, 47,74 mAs, 40 segundos) e o presente trabalho utilizou o Carestream CS 9000 3D (Carestream Health Inc Rochester/NY-Estados Unidos) com regime utilizado FOV 50x37mm (70 kV, 10 mA e 10,8 segundos, sob voxel de 100 x 100 x 100 µm). Esse regime adotado pelo presente trabalho foi menor, ou seja, o paciente recebeu um dose de radiação menor, favorecendo, assim, a não produção de efeitos citotóxicos e genotóxicos.

Carlin et al ⁸, realizaram um estudo utilizando apenas TCFC e teve como objetivo avaliar o dano ao DNA (micronúcleos) e morte celular (picnose, cariólise e cariorréxe) em células da mucosa oral esfoliadas de adultos após a exposição. Nenhuma diferença estatisticamente significativa na frequência de micronúcleos foi observada antes e depois da exposição da tomografia computadorizada cone beam. Em contraste, a tomografia foi capaz de aumentar outras alterações nucleares estreitamente relacionados com citotoxicidade tal

como cariorrexe, picnose e cariólise. Entretanto, o presente estudo obteve resultado diferente em relação às alterações nucleares estritamente relacionadas à citotoxicidade, não havendo diferença estatisticamente antes de depois da TCFC . São necessários mais estudos para possível comparações de dados e assim, obter resultados concluintes sobre o possível efeito citotóxico da TCFC sobre o epitélio da mucosa oral.

No entanto, o estudo realizado por Ribeiro et al ¹⁷, em que houve à associação de TCFC e radiografia panorâmica, que teve como método de estudo a biomonitorização citogenéticas com foco em células da mucosa oral em indivíduos expostos a radiação ionizante, obteve o resultado que o raio X podem induzir danos ao DNA e citotoxicidade nas células da mucosa oral. Contrapondo esses achados, o presente estudo obteve resultado diferente em relação a ambas as alterações -genotoxicidade e citotoxicidade- podendo estar relacionado a quantidade de radiação à qual o paciente foi exposto no estudo de Ribeiro et al., já que houve associação de TCFC e radiografia panorâmica entende-se que a formação de micronúcleos é dose dependente e varia conforme o tipo de radiação utilizada e a radiosensibilidade do tecido envolvido..

O estudo realizado apresentou limitações importantes quanto ao aparelho utilizado e à amostra. Quanto ao aparelho, o presente estudo utilizou o Carestream CS 9000 3D (*Carestream Health Inc Rochester/NY-Estados Unidos*) e os demais estudos ^{17,18} utilizaram o i-CAT CBCT (*Image Sciences International, Hatfield, PA*). Em relação à amostra, o alto custo da TCFC comparada à outras tomadas radiográficas dificultou à obtenção do N amostral, assim como , a pouca solicitação de TCFC parcial pelos cirurgiões-dentistas. Portanto novos estudos devem ser elucidados para os diferentes aparelhos, com diferentes tamanhos de FOV.

CONCLUSÃO

A partir desses dados concluímos que a TCFC parcial pode não induzir efeitos genotóxicos e citotóxicos, necessitando de mais estudos que viabilizem essa comparação para melhor compreensão .

REFERÊNCIAS

1. Jaju PP, Jaju SP. Clinical utility of dental cone-beam computed tomography: current perspectives. *Clin Cosmet Investig Dent* 2014; 6:29-43.
2. Takeshita WM, Iwaki LV, DA Silva MC, Sabio S, Albino PF. Comparison of periapical radiography with cone beam computed tomography in the diagnosis of vertical root fractures in teeth with metallic post. *J Conserv Dent* 2014; 17:225-9.
3. Farman AG, Scarfe WC. Development of imaging selection criteria and procedures should precede cephalometric assessment with cone-beam computed tomography. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2006; 30:257-65.
4. Takeshita WM, Chicarelli M., Iwaki LC. Comparison of diagnostic accuracy of root perforation, external resorption and fractures using cone-beam computed tomography, panoramic radiography and conventional & digital periapical radiography. *Indian J Dent Res* 2015; 6:619-26.
5. Takeshita WM, Vessoni Iwaki LC, Da Silva MC, Tonin RH. Evaluation of diagnostic accuracy of conventional and digital periapical radiography, panoramic radiography, and cone-beam computed tomography in the assessment of alveolar bone loss. *Contemp Clin Dent* 2014; 5: 318-23.
6. Jadeja N, Matariya RG, Patel B, DAS M, Gohil M, Parikh R. J., et al. Role of Cone Beam Computed Tomography in Dentistry: A Review of Literature. *J Res Adv Dent* 2015; 4:77-83.
7. European Commission. Radiation protection no. 172: Evidence based guidelines on cone beam CT for dental and maxillofacial radiology. 2012. *Ofício das Publicações Oficiais das Comunidades Europeias*.

8. Carlin V, Artioli AJ, Matsunamoto MA, Filho HN, Borgo E, Oshima CTF, Ribeiro DA. Biomonitoring of DNA damage and cytotoxicity in individuals exposed to cone beam computed tomography. *Dentomaxillofacial Radiology* 2010; 39:295–299.
9. Mozzo P, Procacci C, Tacconi A, Martini PT, Andreis IAB. A new volumetric CT machine for dental imaging based on the cone-beam technique: preliminary results. *European radiology* 1998; 8: 1558-1564.
10. Scarfe WC, Farman AG. What is Cone-Beam CT and How Does it Work? *Dent Clin N Am.* 2008; 52:707–730.
11. Bilinski JM. Estudo comparativo entre as tomografias computadorizadas fan beam e cone bean: revisão de literatura[Monografia]. Apresentada ao curso de Especialização em Radiologia Odontológica e Imaginologia, da Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde, da Universidade Tuiuti do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Radiologia Odontológica e Imaginologia 2011.
12. Ceppi M, Biasotti B, Fenech M, Bonassi S. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutat* 2010; 705: 11-9.
13. Kashyap B, Reddy PS. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. *Journal of Cancer Research and Therapeutics.* 2012; 8: 184-191.
14. Ribeiro DA, Sannomiya EK, Pozzi R, Miranda SR, Angelieri F. Cellular death but not genetic damage in oral mucosa cells after exposure to digital lateral radiography. *Clin Oral Invest.* 2011; 15: 357–360.

15. Lorenzoni DC, Fracalossi ACC, Carlin V, Ribeiro DA, Sant'anna EF. Mutagenicity and cytotoxicity in patients submitted to ionizing radiation A comparison between cone beam computed tomography and radiographs for orthodontic treatment. *Angle Orthodontist*. 2013; 83: 104-109.
16. Ribeiro DA. Cytogenetic biomonitoring in oral mucosa cells following dental X-ray. *Dentomaxillofacial Radiology* 2012; 41: 181–184.
17. Ribeiro DA, Oliveira AG, Castro GM, Angelieri F. Cytogenetic biomonitoring in patients exposed to dental X-rays: comparison between adults and children. *Dentomaxillofac Radiol*. 2008; 37: 404-7.
18. Sarto F, Finotto S, Giacomelli L, Mazzotti D, Toraanin R, Levis AG. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis* 1987; 2: 11-17.
19. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Krsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger, E, Knasmueller S, Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2009; 4: 825-37.
20. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation Research*. 1992; 271: 69-77.
21. Garib DG, Raymundo JJR, Raymundo MV, Raymundo DV, Ferreira SN. Tomografia computadorizada de feixe cônico (Cone beam): entendendo este novo método de diagnóstico por imagem com promissora aplicabilidade na Ortodontia. *Maringá* 2007; 12: 139-156.
22. Rodrigues AF, Vitrali RWF. Applications of Computed Tomography in Dentistry. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, João Pessoa. 2007; 7(3):317-324.

23. Rieger RMA, Green MM. A Glossary of Genetics and Cytogene- Glossary of Genetics and Cytogenetics. London: Allen and Unwin 1968; 507.
- .

GUIA DO AUTOR DENTOMAXILLOFACIAL RADIOLOGY

<http://www.birpublications.org/page/preparing/dmfr>

Research Articles

Research articles should describe your novel original research in a clear, reproducible way. Research articles should be no more than 7000 words, with generally no more than 50 references.

The abstract for research articles should be constructed under the following subheadings:

- Objectives;
- Methods;
- Results;
- Conclusions;

More information on preparing your submission can be found [here](#).

- You should give sufficient background to your work and the reference list should be representative of the field.
- The method should be described clearly.
- Any limitations of the work should be addressed and discussed.
- The conclusions drawn should be consistent with the results obtained.
- The images included should be clear enough such that the work can be understood.
- Any ethical approval statements should be included where relevant.
- Appropriate statistical analysis of results should be carried out where relevant.

Example research article

Preparing your submission

For guidelines regarding word count, figure/table count and references for all DMFR article types see [here](#).

Authors' names and affiliations should not appear anywhere on the manuscript pages or the images (to ensure blind peer-review).

Teeth should be designated in the text using the full English terminology. In tables and figures individual teeth can be identified using the FDI two-digit system, i.e. tooth 13 is the first permanent canine in the right maxilla region.

- [Author contribution statement](#)
- [Title page](#)

- [Abstract](#)
- [Main text](#)
- [References](#)
- [Tables](#)
- [Figures](#)
- [Appendices](#)
- [Supplementary material](#)
- [Units, symbols and statistics](#)

[Submit now !](#)

Author contribution statement

DMFR requires that an author contribution statement accompany each submission, outlining the contributions of each author towards the work. A template statement can be downloaded [here](#).

DMFR requires that for all submitted papers:

- All the authors have made substantive contributions to the article and assume full responsibility for its content; and
- All those who have made substantive contributions to the article have been named as authors.

The [International Committee of Medical Journal Editors](#) recommends the following definition for an author of a work, which we ask our authors to adhere to:

Authorship be based on the following 4 criteria [1]:

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

1 The International Committee of Medical Journal Editors, Roles and Responsibilities of Authors, Contributors, Reviewers, Editors, Publishers, and Owners: Defining the Role of Authors and Contributors, http://www.icmje.org/roles_a.html

Title page

The title page is a separate submission item to the main manuscript and should provide the following information:

- Title of the paper. Abbreviations other than CT or MRI should not be used in the title.

- A shortened version of the title (no more than 70 characters in length, including spaces) should be provided for use as the running head. Abbreviations are permissible.
- Type of Manuscript ([see all types of manuscript](#))
- Author names should appear **in full** (in the format: "first name, initial(s), last name), qualifications and affiliations.
- Statement indicating any source of funding or financial interest where relevant should be included.
- A cover letter or statement can be included into the title page, but please note this is not a compulsory item.

Blind title page

A blind title page should be included with the full manuscript, giving only the title (i.e. without the authors' names and affiliations), for use in the peer-review process.

Abstract

The abstract should be an accurate and succinct summary of the paper, not exceeding 250 words. For papers containing research: the abstract should be constructed under the following subheadings:

- **Objectives;**
- **Methods;**
- **Results;**
- **Conclusions.**

These subheadings should appear in the text of the abstract and the abstract should not contain references. The abstract should: indicate the specific objective or purpose of the article; describe the methods used to achieve the objective, stating what was done and how it was done; present the findings of the methods described – key statistics should be included; present the conclusion of the study based solely on the data provided, and highlight the novelty of the work.

Beneath the abstract please select up to 5 keywords from the current [Medical Subject Headings \(MeSH\)](#).

Main text

Please organise your paper in a logical structure with clear subheadings to indicate relevant sections. It is up to the authors to decide the specific nature of any subheadings as they see fit. Research papers typically follow the structure:

- Introductory section;
- Methods and materials/patients;
- Results;
- Discussion;

- Conclusion;
- Acknowledgments (if relevant).

Present results in a clear logical sequence. The conclusions drawn should be supported by the results obtained and the discussion section should comment critically on the findings and conclusions as well as any limitations of the work.

Acknowledgments should be brief and should indicate any potential conflicts of interest and sources of financial support.

An appendix may be used for mathematical formulae or method details of interest to readers with specialist knowledge of the area.

In addition:

- Avoid repetition between sections.
- Avoid repetition of text featured in tables and the main body of the article.
- Abbreviations and acronyms may be used where appropriate, but must always be defined where first used.
- The names and locations (town, country) of manufacturers of all equipment and non-generic drugs must be given.
- Avoid the use of footnotes.
- Use SI units throughout the text (Grays, Sieverts not RADs and REMs).

References

- Authors are responsible for the accuracy of the references. Only papers closely related to the work should be cited; exhaustive lists should be avoided. All references must appear both in the text and the reference list.
- References should follow the Vancouver format.
- In the text, references are cited in numerical order as superscript numbers starting at 1. The superscript numbers are placed AFTER the full point.
- At the end of the paper they should be listed (double-spaced) in numerical order corresponding to the order of citation in the text.
- A reference cited in a table or figure caption counts as being cited where the table or figure is first mentioned in the text.
- Papers in press may be included in the list of references.
- Do not include references to uncompleted work or work that has not yet been accepted for publication. Abstracts and/or papers presented at meetings not in the public domain should not be included as references.
- References to private communications should be given only in the text (i.e. no number allocated). The author and year should be provided.
- If there are 6 or fewer authors, list them all. If there are 7 or more, list the first 6 followed by et al.
- Abbreviations for titles of medical periodicals should conform to those used in the latest edition of Index Medicus.
- The first and last page numbers for each reference should be provided.
- Abstracts and letters must be identified as such.

Examples of references:

Journal article:

Gardner DG, Kessler HP, Morency R, Schaffner DL. The glandular odontogenic cyst: an apparent entity. *J Oral Pathol* 1988; 17:359–366.

Journal article, in press:

Dufoo S, Maupome G, Diez-de-Bonilla J. Caries experience in a selected patient population in Mexico City. *Community Dent Oral Epidemiol* (in press).

Complete book:

Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. *Histological typing of odontogenic tumours* (2nd edn). Berlin: Springer Verlag, 1992.

Chapter in book:

DelBalso AM, Ellis GE, Hartman KS, Langlais RP. Diagnostic imaging of the salivary glands and periglandular regions. In: DelBalso AM (ed). *Maxillofacial imaging*. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1990, pp 409–510.

Abstract:

Mileman PA, Espelid I. Radiographic treatment decisions - a comparison between Dutch and Norwegian practitioners. *J Dent Res* 1986; 65: 609 (Abstr 32).

Letter to the Editor:

Gomez RS, de Oliveira JR, Castro WH. Spontaneous regression of a paradental cyst. *Dentomaxillofac Radiol* 2001; 30: 296 (letter).

Journal article on the internet:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

Homepage/Web site:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Tables

Tables should be referred to specifically in the text of the paper but provided as separate files.

- Number tables consecutively with Arabic numerals (1, 2, 3, etc.), in the order in which they appear in the text.
- Give each table a short descriptive title.
- Make tables self-explanatory and do not duplicate data given in the text or figures.
- Aim for maximum clarity when arranging data in tables. Where practicable, confine entries in tables to one line (row) in the table, e.g. “value (±sd) (range)” on a single line is preferred to stacking each entry on three separate lines.
- Ensure that all columns and rows are properly aligned.

- Include horizontal rules at the top and bottom of a table and one below the column headings. If a column heading encompasses two or more subheadings, then the main headings and subheadings should be separated by a single short rule. No other rules should be included, neither horizontal nor vertical.
- Appropriate space should be used to separate columns. Rows should be double-spaced.
- A table may have footnotes if necessary. These should be referred to within the table by superscript letters, which will then also be given at the beginning of the relevant footnote. Begin each footnote on a new line. A general footnote referring to the whole table does not require a superscript letter.
- Define abbreviations in tables in the footnotes even if defined in the text or a previous table.
- Submit tables as editable text.

Figures

Figures should be referred to specifically in the text of the paper.

- Number figures consecutively using Arabic numerals (1, 2, 3, etc.) and any figure that has multiple parts should be labelled alphabetically (e.g. 2a, 2b).
- Concise, numbered legend(s) should be listed on a separate sheet. Avoid repeating material from the text.
- Abbreviations used in figures should be defined in the caption.
- Labelling of artwork should be Arial 8 point font.
- Ideally, figure sizes should be 84 mm wide, 175 mm wide or the intermediate width of 130 mm.

Files

- Supply image files in EPS, TIFF, PDF or JPEG format.
- TIFF is preferred for halftones, i.e. medical images such as radiographs, MR scans etc.
- EPS is preferred for drawn artwork (line drawings and graphs).
- For JPEG files, it is essential to save at maximum quality, i.e. “10”, to ensure that quality is satisfactory when the files are eventually decompressed.
- Files supplied in Word, PowerPoint or Excel may prove acceptable, but please supply in EPS, TIFF or JPEG if practicable. Other formats will not be usable.
- Do not supply GIF files – GIF is a compressed format that can cause quality problems when printed.
- Upload each figure separately and numbered.

Colour

- Unless essential to the content of the article, all illustrations should be supplied in black and white with no colour (RGB, CMYK or Pantone references) contained within them.
- The cost of reproduction of colour images will be charged to the author at the following rates: £300 for one colour image, £500 for two colour images and £100 for each subsequent additional colour image. All prices are exclusive of UK VAT.
- Images that do need to be reproduced in colour should be saved in CMYK, with no RGB or Pantone references contained within them.

Resolution

- Files should be saved at the appropriate dpi (dots per inch) for the type of graphic (the typical screen value of 72 dpi will not yield satisfactory printed results). Lower resolutions will not be usable.
- Line drawings – save at 800 dpi (or 1200 dpi for fine line work).
- Halftone and colour work – save at 300 dpi.

Composition

- The image should be cropped to show just the relevant area (i.e. no more than is necessary to illustrate the points made by the author whilst retaining sufficient anatomical landmarks). The amount of white space around the illustration should be kept to a minimum.
- Supply illustrations at the size they are to be printed, usually 76 mm wide (single column of text) or for especially large figures 161 mm (two columns of text).
- Annotations, e.g. arrows, should be used to indicate subtle but salient points. All annotations should be included within the images supplied.
- Patient identification must be obscured.

Additional points to note:

- Do not put a box around graphs, diagrams or other artwork.
- Avoid background gridlines unless these are essential (e.g. confidence limits).
- Fonts should be Adobe Type 1 standard – Helvetica or Times are preferred.
- Ensure that lettering is appropriately sized – should correspond to 8 or 9 pt when printed.
- Include all units of measurement on axes.
- All lines (e.g. graph axes) should have a minimum width of $\frac{1}{4}$ pt (0.1 mm) otherwise they will not print; 1 pt weight is preferable.
- Avoid using tints (solid black and white or variations of crosshatching are preferred), but any tints that are used must be at a minimum 5% level to print (but do not use too high a tint as it may print too dark).
- Do not use three-dimensional histograms when the addition of a third dimension gives no further information.

Appendices

Appendices should be used to include detailed background material that is essential for the understanding of the manuscript e.g. statistical analyses, very detailed preliminary studies, but which is too comprehensive to include as part of the main text.

Where possible, authors are encouraged to include all relevant material in the main body of the text, however, if an appendix is necessary it should be supplied as a separate file. If more than one appendix is included, these should be identified using different letters.

- An appendix may contain references, but these should be listed separately and numbered A1, A2, etc.
- Appendices must be referred to in the main text in the relevant section.

Supplementary Material

Supplemental material is intended for material that would add value to your manuscript but is not essential to the understanding of the work. Supplementary material is typically used for including material that can not be accommodated in print form, for example multimedia files such as dynamic images, video/audio files etc.

There are no restrictions on supplementary file formats, though it is recommended that authors choose file types that the majority of readers will be able to open e.g.

- Text/Data: PDF, Word, Excel, Powerpoint, .txt
- Graphics: TIF, PNG, JPEG, GIF
- Video: AVI, MOV, MP4, MPEG, WMV
- Audio: mp3, m4a

Units, symbols and statistics

Authors should use the International System of Units (SI) [1]. Units of radiation should be given in SI, e.g. 1 Sv, 1 Gy, 1 MBq. Exceptions are mmHg for blood pressure and g dl⁻¹ for haemoglobin. For guidance, authors can refer to the publication Units, Symbols and Abbreviations. A guide for medical and scientific authors [2].

- All radiation factors (dose/time/fractionation) must be listed.
- Equations should be numbered (1), (2) etc. to the right of the equation. Do not use punctuation after equations.
- Do not include dots to signify multiplication – parameters should simply be typed closed up, or with a multiplication sign if necessary to avoid ambiguity.

Statistical Guidelines

The aim of the study should be clearly described and a suitable design, incorporating an appropriate number of subjects, should be used to accomplish the aim. It is frequently beneficial to consult a professional statistician before undertaking a study to confirm it has adequate power, and presentation of a power calculation within the paper demonstrates the ability of the study to detect clinically or biologically meaningful effects.

Details should be provided on selection criteria, whether data were collected prospectively or retrospectively, and any exclusions or losses to follow-up that might affect the study population. Information on subject characteristics in groups being compared should be given for any factors that could potentially bias the comparison of the groups; such information is often best presented in a tabular format in which the groups are in adjacent columns. If the study was randomized, details of the randomization procedure should be included.

Measures of variation should be included for all important results. When means are presented, the standard deviation or the standard error of the mean should also be given, and it should be clear which of these two measures is being quoted. When medians are given, measures of variation such as the interquartile range or overall range should also be included. Estimates of differences, e.g. between two means being compared, should be provided with 95% confidence limits to aid the reader and author to interpret the results correctly. Note that

estimation of the size of effects, e.g. treatment or prognostic factor effects, is as important as hypothesis testing.

Statistical procedures should be described and referenced for all p-values given, and the values from which they were derived should be included. The validity of statistical procedures should also be confirmed, e.g. the t-test requires normal distribution(s) in the basic data and the chi-squared test is not valid when the expected numbers in cells are less than 5. Data may sometimes be transformed, e.g. using a log or square root transformation, to achieve normality. Non-parametric tests should be used when the conditions for normality are not met. It should be noted, however, that the Wilcoxon signed rank test (the non-parametric equivalent of the paired t-test) is semi-quantitative. If more than two groups are being compared then an analysis of variance should be performed before undertaking comparisons of pairs of groups. You are advised to seek the help of a professional statistician if you are uncertain of the appropriateness or interpretation of statistical methods.

Analysis of repeated measurements on the same subject can give rise to spurious results if comparisons are made at a large number of different time points. It is frequently preferable to represent each subject's outcome by a single summary measure chosen for its appropriateness. Examples of such measures are the area under the curve, the overall mean, the maximum or minimum, and the time to reach a given value. Simple statistics can then be applied to these summary measures.

The results of the evaluation of a test procedure should state clearly the criteria used to define positivity, and the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value should all be quoted together with their 95% confidence limits.