

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
DOUTORADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA INTEGRADA

FELIPE BRAVO MACHADO DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO PERIODONTAL EM
PACIENTES PORTADORES DE DIABETES TIPO 2, ATRAVÉS DE PARÂMETROS
CLÍNICOS, INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO - ENSAIO CLÍNICO
RANDOMIZADO**

Recife – PE

2014

FELIPE BRAVO MACHADO DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO PERIODONTAL EM
PACIENTES PORTADORES DE DIABETES TIPO 2, ATRAVÉS DE PARÂMETROS
CLÍNICOS, INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO - ENSAIO CLÍNICO
RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Colegiado da Pós-Graduação em Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Clínica Odontológica Integrada.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Cimões Jovino Silveira

Co-orientador: Prof. Dr. Gustavo Pompermeir Garlet

Recife – PE

2014

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A553a Andrade, Felipe Bravo Machado de.
 Avaliação da resposta ao tratamento periodontal em pacientes
 portadores de diabetes tipo 2, através de parâmetros clínicos,
 inflamatórios e do metabolismo ósseo - ensaio clínico randomizado /
 Felipe Bravo Machado de Andrade. – 2014.
 58 f.: il.; tab.; 30 cm.

 Orientadora: Renata Cimões Jovino Silveira.
 Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
 Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2014.

 Inclui referências, apêndices e anexos.

 1. Diabetes Mellitus. 2. Periodontite crônica. 3. Interleucina-6. I.
 Silveira, Renata Cimões Jovino (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2017-203)

TÍTULO DO TRABALHO: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA AO TRATAMENTO PERIODONTAL EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES TIPO 2, ATRAVÉS DE PARÂMETROS CLÍNICOS, INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO

NOME DO ALUNO: FELIPE BRAVO MACHADO DE ANDRADE

TESE APROVA EM 04 DE AGOSTO DE 2014

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

5º _____

Profa. Dra. ALESSANDRA DE ALBUQUERQUE TAVARES CARVALHO (Examinador Interno) - Universidade Federal de Pernambuco

4º _____

Prof. Dr. DANYEL ELIAS DA CRUZ PEREZ (Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

3º _____

Prof. Dr. TIBÉRIO CESAR UCHOA MATHEUS

(Examinador Interno) - Universidade Federal de Pernambuco

2º _____

Profa. Dra. ULLY DIAS NASCIMENTO TÁVORA CAVALCANTI

(Examinador Externo) – UNINASSAU

1º _____

Prof. Dr. SÉRGIO BARTOLOMEU DE FARIAS MARTORELLI

(Examinador Externo) - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DO RECIFE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa.Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof.Dr. Arnaldo de França Caldas Junior

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof.Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa.Dra. Flavia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. LirianeBaratellaEvêncio

Prof.Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof.Dra. Maria Luiza dos Anjos Pontual

Prof.Dr. Paulo Sávio AngeirasGoes

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profa.Dra. Silvia Regina Jamelli

Prof.Dra. Simone Guimaraes Farias Gomes

Prof.Dr. Tibério César Uchoa Matheus

MEMBROS COLABORADORES

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

SECRETARIA

Oziclere Sena de Araújo

Aos meus pais Fernando Antônio Machado de Andrade e Maria de Fátima Bravo Machado de Andrade por tudo que vocês sempre fizeram por mim, pela minha educação e caráter, pela dedicação eterna à família e pelo exemplo de integridade que vocês sempre foram. Sem vocês, nada disso seria possível. À minha irmã, Rafaella Bravo Machado de Andrade, por todo o companheirismo durante toda a vida, meu exemplo maior de honestidade e retidão. À minha esposa, Júlia Figueirêdo de Melo, por esses 10 anos caminhando juntos e por tudo que você representa para mim. A minha vida não seria possível sem a sua presença. À minha professora Renata Cimões, exemplo maior de responsabilidade e dedicação com a docência, sempre presente em todas as etapas da minha vida acadêmica e a quem serei eternamente grato.

AGRADECIMENTOS

Ao professor, **Gustavo Pompermeir Garlet** por toda orientação e por ter sido parte fundamental da minha pesquisa.

A todos os **professores do curso de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)** pelos conhecimentos transmitidos. Meus sinceros agradecimentos.

À minha amiga **Bruna de Carvalho Farias Vajgel**, minha companheira de pesquisa, por sua dedicação incondicional, caráter e organização. Não conseguiríamos chegar ao final da jornada sem a sua ajuda. Meus eternos agradecimentos.

A todos os colegas de turma, **Talita, Bruna, Catarina, Thaís, Cláudia, Gilberto, Leogenes, Irani, Elvia, Paulo Henrique, Leonardo, Daene, Breno, Igor e Andreza** pela convivência maravilhosa e pelos momentos de alegria e tristeza que compartilhamos. Obrigado pelo companheirismo.

Aos amigos, **Rodrigo Alves Ribeiro, Keila Christina Raposo Lucena e Thaís Malheiros Chaves**, por toda colaboração durante a realização desta pesquisa. Meus sinceros agradecimentos.

Às cirurgiãs-dentistas, **Raphaela Mendonça de Luna e Alyne Moura da Silva**, pelo apoio fundamental à execução da pesquisa. Sem vocês, nossa jornada teria sido muito mais difícil. Meu eterno agradecimento.

Às técnicas de enfermagem **Mônica e Michele**, por todo apoio com a coleta e processamento dos materiais. Meus agradecimentos eternos.

Aos nossos **pacientes**, por depositarem em nós a confiança para conduzir uma pesquisa clínica, sem vocês nada disso seria possível. Meu eterno agradecimento.

À secretária **Oziclere** por todo carinho e serviço prestado a nossa turma. Meus sinceros agradecimentos.

À auxiliar de limpeza **Tânia** pelo carinho especial comigo e fundamental ajuda em momentos difíceis.

A todos os **funcionários** da UFPE pela colaboração durante o curso.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, através de um estudo do tipo ensaio clínico randomizado, o impacto do tratamento periodontal em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo II, através da análise nos níveis séricos de IL-6, OPG e RANK-L. Dos 154 pacientes triados inicialmente, 76 pacientes foram incluídos e randomicamente alocados em três grupos: G1 (n=29) – 4 sessões de raspagem e alisamento corono-radicular convencional; G2 (n=25) – sessões de debridamento apenas com ultrassom; G3 (n=22) – sem tratamento periodontal. Parâmetros clínicos periodontais e do controle glicêmico foram coletados nos meses 0, 3 e 6. Em relação aos níveis de OPG, RANKL, IL-6 e média da profundidade de sondagem (PS), houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,001$) quando comparados os meses 3 e 6 de todos os parâmetros. Entre os meses 3 e 6 a única variável com diferença estatisticamente significativa foi a Profundidade de Sondagem. Para o grupo controle, não houve redução estatisticamente significativa nos níveis de OPG, RANKL e IL-6. Quanto ao tipo de tratamento periodontal proposto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1 e 2 quando avaliada a redução dos níveis de OPG, RANKL, IL-6 e da PS. Houve redução da PS, níveis de marcadores inflamatórios (IL-6) e envolvidos no processo de reabsorção óssea (RANKL e OPG), em pacientes diabéticos tipo 2, após o tratamento periodontal não-cirúrgico.

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus. Periodontite Crônica. Interleucina-6

ABSTRACT

This study aimed to evaluate, through a randomized clinical trial, the impact of periodontal treatment in type II diabetes patients, analyzing the level of IL6, OPG and RANKL. 76 out of 154 patients initially screened, were included and randomly allocated into three groups: G1 (n = 29) –periodontal conventional scaling and root planing, G2 (n = 25) – ultrasound debridement, G3 (n = 22) - no periodontal treatment. Periodontal and glycaemic index were collected at 0, 3 and 6 months. Levels of OPG, RANKL, IL6 and average of Sounding Probe were reduced between months 0 and 3 ($p < 0,001$). There was no statistically difference on control group in the period of the study. When the two different types of treatment were compared, there was no statistically difference between the groups. This study showed reduced levels of IL-6, OPG and RANKL, on type 2 diabetic patients, after non-surgical periodontal treatment

Keywords: Diabetes Mellitus. Chronic Periodontitis. Interleukin-6

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DOS PACIENTES	36
TABELA 02	MÉDIA E DESVIO PADRÃO DA PS EM CADA PERÍODO (MÊS 0, 3 E 6) SEGUNDO OS GRUPOS	37
TABELA 03	MÉDIA E DESVIO PADRÃO DAS VARIÁVEIS RANKL, OPG, IL6 E PS EM CADA PERÍODO (MÊS 0, 3 E 6) SEGUNDO OS GRUPOS	37
TABELA 04	MÉDIA E DESVIO PADRÃO DAS VARIÁVEIS RANKL, OPG, IL6 E PS EM CADA PERÍODO (MÊS 0, 3 E 6) COMPARANDO O GRUPO 1 E 2 EM CADA PERÍODO (MÊS 0,3 E 6)	38
TABELA 05	PERCENTUAL DE SÍTIOS COM DOENÇA PERIODONTAL NOS MESES 0, 3 E 6 SEGUNDO A DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS	38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	PROCEDIMENTOS REALIZADOS DE ACORDO COM O MÊS DE AVALIAÇÃO	38
FIGURA 2	FLUXOGRAMA DA PESQUISA	39
FIGURA 3	MÉDIA DA DIFERENÇA TOTAL ENTRE O MÊS 0 E O MÊS 6 DA VARIÁVEL OPG E IL6	40
FIGURA 4	MÉDIA DA DIFERENÇA TOTAL ENTRE O MÊS 0 E O MÊS 6 DA VARIÁVEL RANKL E PROFUNDIDADE DE SONDAGEM	40

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CONSORT	Consolidated Standards of Reporting Trials
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
ReBEC	Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos
CNS	Conselho Nacional em Saúde
PS	Profundidade de sondagem
RG	Recessão gengival
PIC	Perda de inserção clínica
ISG	Índice de sangramento gengival
IPV	Índice de placa visível
G1	Grupo experimental 1
G2	Grupo experimental 2
G3	Grupo controle
SPSS	Statistical Package of Social Science
TNF- α	Fator de necrose tumoral
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6
RANK	Receptor Ativador Nuclear

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	15
2	ARTIGO: PERIODONTITE CRÔNICA E DIABETES TIPO II: ESTUDO DO IMPACTO DO TRATAMENTO PERIODONTAL NA SEVERIDADE DE AMBAS AS PATOLOGIAS ATRAVÉS DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO - ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	16
2.1	RESUMO	16
2.2	ABSTRACT	17
2.3	INTRODUÇÃO	18
2.4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.5	RESULTADOS	25
2.6	AGRADECIMENTOS	28
3	CONCLUSÕES	29
	REFERÊNCIAS	30
	APÊNDICES	41
	APÊNDICE A – FICHA CLÍNICA	41
	APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	46
	ANEXOS	47
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA	47
	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	48

1 APRESENTAÇÃO

Sabe-se que doença periodontal é considerada a sexta complicação mais comum do paciente diabético e que o descontrole glicêmico influencia a inflamação dos tecidos de suporte dos dentes. Pouco se estudou, no entanto, sobre os efeitos da terapia periodontal na melhora dos marcadores sistêmicos de inflamação. Desta maneira, este trabalho se propôs a analisar, através de um ensaio clínico randomizado, o impacto do tratamento periodontal em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo II, através da análise nos níveis séricos de IL-6, OPG e RANK-L.

2 PERIODONTITE CRÔNICA E DIABETES TIPO II: ESTUDO DO IMPACTO DO TRATAMENTO PERIODONTAL NA SEVERIDADE DE AMBAS AS PATOLOGIAS ATRAVÉS DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DO METABOLISMO ÓSSEO - ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

2.1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, através de um estudo do tipo ensaio clínico randomizado, o impacto do tratamento periodontal em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo II, através da análise nos níveis séricos de IL-6, OPG e RANK-L. Dos 154 pacientes triados inicialmente, 76 pacientes foram incluídos e randomicamente alocados em três grupos: G1 (n=29) – 4 sessões de raspagem e alisamento corono-radicular convencional; G2 (n=25) – sessões de debridamento apenas com ultrassom; G3 (n=22) – sem tratamento periodontal. Parâmetros clínicos periodontais e do controle glicêmico foram coletados nos meses 0, 3 e 6. Em relação aos níveis de OPG, RANKL, IL-6 e média da profundidade de sondagem (PS), houve redução estatisticamente significante ($p < 0,001$) quando comparados os meses 3 e 6 de todos os parâmetros. Entre os meses 3 e 6 a única variável com diferença estatisticamente significante foi a Profundidade de Sondagem. Para o grupo controle, não houve redução estatisticamente significante nos níveis de OPG, RANKL e IL-6. Quanto ao tipo de tratamento periodontal proposto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1 e 2 quando avaliada a redução dos níveis de OPG, RANKL, IL-6 e da PS. Houve redução da PS, níveis de marcadores inflamatórios (IL-6) e envolvidos no processo de reabsorção óssea (RANKL e OPG), em pacientes diabéticos tipo 2, após o tratamento periodontal não-cirúrgico.

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus. Periodontite Crônica. Interleucina-6

2.2 ABSTRACT

This study aimed to evaluate, through a randomized clinical trial, the impact of periodontal treatment in type II diabetes patients, analyzing the level of IL6, OPG and RANKL. 76 out of 154 patients initially screened, were included and randomly allocated into three groups: G1 (n = 29) –periodontal conventional scaling and root planing, G2 (n = 25) – ultrasound debridement, G3 (n = 22) - no periodontal treatment. Periodontal and glycaemic index were collected at 0, 3 and 6 months. Levels of OPG, RANKL, IL6 and average of Sounding Probe were reduced between months 0 and 3 ($p < 0,001$). There was no statistically difference on control group in the period of the study. When the two different types of treatment were compared, there was no statistically difference between the groups. This study showed reduced levels of IL-6, OPG and RANKL, on type 2 diabetic patients, after non-surgical periodontal treatment

Keywords: Diabetes Mellitus. Chronic Periodontitis. Interleukin-6

2.3 INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus engloba um grupo de doenças metabólicas crônicas caracterizadas por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos (1;2). Em 2010, estimou-se que 285 milhões de adultos da população mundial apresentava diabetes mellitus (tipo I e II), e em 2030 é esperado que esta enfermidade atinja 438 milhões de adultos (3), estando a maioria destes residentes em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (2). No Brasil, estima-se que 7,6 milhões de adultos apresentavam diabetes mellitus em 2010 (3), e em 2030 é esperado que este número atinja uma média de 11,3 a 12,7 milhões de adultos (3;4).

O grau de hiperglicemia está diretamente relacionado com o aparecimento de complicações associadas ao diabetes, como a retinopatia, nefropatia, problemas micro e macrovasculares (doenças cardíacas e acidente vascular cerebral) e neuropatia (5; 6). Dados do United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) demonstraram que a redução da hiperglicemia pode diminuir o risco de aparecimento dessas complicações (5). Os autores demonstraram que para cada 1% de redução da hemoglobina glicosilada (HbA1c), houve uma redução de risco de 21% para qualquer complicação relacionada ao diabetes; 21% para mortes relacionadas ao diabetes; 14% de infarto agudo do miocárdio; e 37% para complicações microvasculares (5).

A doença periodontal é considerada a sexta complicação clássica mais frequente da diabetes e é a complicação bucal mais significativa (7). A periodontite é definida como uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte dos dentes, tendo como fator de risco primário a placa dentária (8-10). Esta enfermidade acomete um grande número de indivíduos em todo o mundo (11), e é considerado o maior problema oral presente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (12). A área total da superfície de tecidos periodontais inflamados e ulcerados de um indivíduo com periodontite tem sido estimada ser equivalente à área da superfície da palma da mão (13), demonstrado a potencialidade de produção de mediadores inflamatórios por parte da doença periodontal.

Na tentativa de explicar por que pacientes diabéticos têm um risco aumentado de apresentar a doença periodontal, alguns estudos têm sugerido que uma resposta imune alterada,

a defesa do hospedeiro prejudicada e aumento da susceptibilidade à infecção em pacientes diabéticos podem ser responsáveis pelo aparecimento desta enfermidade (14; 15).

Estudos já comprovam que a inflamação desempenha um papel fundamental na doença periodontal de pacientes diabéticos (16-24), e tem sido demonstrado que pacientes diabéticos com doença periodontal têm níveis significativamente mais elevados de mediadores inflamatórios no fluido gengival em comparação com pacientes não diabéticos. Assim, sugere-se que esta presença exacerbada de mediadores inflamatórios, como a IL-6, pode predispor um indivíduo a uma doença sistêmica mais grave.

Elevados níveis circulantes de interleucina 6 (IL-6) podem agravar a resistência à insulina e, assim, prejudicar o controle glicêmico. Assim, a doença periodontal, através do desencadeamento da produção dessas citocinas pró-inflamatórias, pode ter um impacto significativo sobre o estado metabólico no diabetes (14;15).

Embora o diabetes tenha sido associado à perda óssea, a falta de consenso a cerca do mecanismo que leva à menor formação óssea e atraso no reparo ósseo, tem sido alvo de estudos. Os novos conhecimentos acerca da fisiologia das células ósseas sugerem que alterações nos níveis de osteoprotegerina (OPG) e receptor ativador de NF- κ B(RANK) estão associadas à remodelação óssea, onde a diminuição de OPG e aumento da quantidade de RANK ligante (RANK-L) levam a um aumento da atividade osteoclástica. Como a doença periodontal e o diabetes mellitus estão relacionados com reabsorções ósseas, o mecanismo de balanço de OPG/RANK também tem sido investigado em ambas as patologias.

O processo de reabsorção óssea se dá através da ligação do receptor ativador de NF- κ B(RANK) com o RANK ligante (RANK-L), o que resulta em osteoclastogênese de células progenitoras e da ativação dos osteoclastos maduros. A OPG funciona como um receptor do RANK-L, e compete com o RANK para se ligar ao RANK-L. Todos os fatores que inibem ou estimulam a reabsorção óssea via osteoclastos agem via RANK-L, RANK e/ou OPG (47-49)

Diversos estudos têm relatado uma associação bidirecional da periodontite com a diabetes mellitus, sugerindo que a inflamação crônica proveniente da doença periodontal pode influenciar negativamente no controle glicêmico dos pacientes diabéticos, e a hiperglicemia, por sua vez, pode piorar a severidade da doença periodontal (6). Alguns estudos têm observado que a prevalência e a severidade da doença periodontal em indivíduos diabéticos tem se

mostrado mais elevada do que na população em geral (14; 15). Estudos sugerem que o tratamento periodontal interfere positivamente no controle metabólico (16-24), enquanto outros não estabelecem este efeito benéfico (25-29). Simpson et al. (6); Darre et al. (30); Teeuw et al. (31) através de revisões sistemáticas e meta-análises, sugerem a existência de alguma evidência de que o tratamento periodontal é capaz de interferir positivamente no controle glicêmico de pacientes diabéticos, no entanto esta influência não foi observado no estudo de Janket et al. (32).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar, através de um estudo do tipo ensaio clínico randomizado, o impacto do tratamento periodontal em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo II, através de parâmetros clínicos periodontais (Profundidade de Sondagem - PS), parâmetros inflamatórios (nível sérico de IL-6) e marcadores do metabolismo ósseo (níveis séricos de OPG e RANK-L), além de avaliar se há diferença entre dois tipos de tratamento periodontal.

2.4 MATERIAS E MÉTODOS

Para elaboração deste estudo de ensaio clínico randomizado duplo cego, controlado, foram obedecidos os critérios do CONSORT GROUP(33).

Os pacientes foram selecionados dentre aqueles encaminhados do Hospital Ermírio de Moraes, centro de referência de tratamento de pacientes diabéticos do Recife, do serviço de endocrinologia do hospital das Clínicas (UFPE) e os que procuraram o serviço da clínica de pós-graduação em Odontologia da UFPE para tratamento odontológico, no período de maio de 2011 a abril de 2013. O período de acompanhamento de cada paciente totalizou 6 meses. Todos os indivíduos foram voluntários, e após a explicação dos objetivos da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), obedecendo à resolução 196/96 do CNS.

Para serem incluídos no estudo, os participantes deveriam apresentar diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 (34) e presença de periodontite crônica diagnosticada clínica e radiograficamente (35). Além disso, tinham que ter idade ≥ 35 anos; ter pelo menos 15 dentes presentes; apresentar hemoglobina glicosilada (Hb1Ac) $\geq 6,5\%$. Os participantes foram excluídos se tivessem recebido tratamento periodontal e feito uso de antibióticos nos últimos 6 meses; gestantes ou lactantes; se tivessem usado anti-inflamatórios de forma crônica; apresentassem condição sistêmica que pudesse interferir no curso da doença periodontal (condições imunológicas) e se fossem fumantes.

O período inicial (mês 0) foi realizado em seis etapas (Figura 1):

1) Todos os voluntários participaram de uma entrevista inicial para verificação dos critérios de inclusão e exclusão adotados;

2) Os participantes incluídos foram avaliados, através do exame periodontal, por um examinador previamente treinado e calibrado, onde foram registrados dados de profundidade de sondagem (PS) - com uma sonda manual milimetrada tipo Universidade Carolina do Norte (PCPUNC 15® Hu-Friedy). Todos os dentes, exceto os terceiros molares, foram examinados em seis sítios por dente (mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, médio-lingual e mesio-lingual). Além da profundidade de sondagem, dados como recessão gengival (RG), perda de inserção clínica (PIC), índice de sangramento gengival (ISG) (36) e índice de placa visível (IPV) foram anotados com finalidade diagnóstica(36). Foram também

anotados dados relativos ao controle glicêmico (glicemia em jejum, Hb1Ac e triglicerídeos) e perfil lipídico (colesterol total e frações) dos pacientes (essenciais para o diagnóstico do diabetes e para acompanhar o controle da doença);

3) Foram coletados aproximadamente 8 mL de sangue de cada paciente em um tubo tijolo (BD Vacutainer®, Juiz de Fora, Brasil) de 10mL, a vácuo com gel, por técnicas de enfremagem. Após a coleta, o material foi centrifugado no laboratório de análises clínicas do Hospital das Clínicas (UFPE) por 5 minutos. O soro foi congelado a -20°C até o momento da análise.

4) A randomização (tipo simples) foi realizada com a entrega dos envelopes opacos, selados e sequencialmente numerados ao paciente e este só foi aberto pelo clínico responsável pelos tratamentos. Para mascaramento dos resultados, tanto o paciente quanto o examinador não tinham conhecimento sobre os tratamentos aplicados em cada grupo;

4) Todos os pacientes passaram por uma fase de controle de placa supragengival, com instruções sobre higiene oral, profilaxia para remoção de placa e realização de demais procedimentos odontológicos necessários para a manutenção do controle de placa, como remoção de dentes comprometidos, restaurações provisórias e permanentes, ajustes das restaurações existentes e encaminhamento para tratamento endodôntico. Também foram fornecidos a todos os pacientes kit de higiene bucal contendo escovas com cerdas macias, fio dental, e dentifrício nos períodos da realização do exame periodontal (momento inicial, após 3 e 6 meses).

5) Após a fase de controle de placa foi iniciada a fase do tratamento periodontal, conforme cada grupo:

- **Grupo experimental 1 (G1)** – Foram realizadas sessões de raspagem e alisamento corono-radicular convencional, no máximo 4 sessões com intervalo de 1 semana, e duração máxima de 60 minutos cada sessão. Sob anestesia local, foram utilizadas curetas Gracey e aparelho ultrassônico. Para todos os pacientes foi seguida uma sequência de tratamento, iniciando-se pelo quadrante superior direito, quadrante superior esquerdo, quadrante inferior esquerdo e finalizando no quadrante inferior direito.
- **Grupo experimental 2 (G2)**– Sob anestesia local foram realizadas duas sessões de debridamento apenas com aparelho ultrassônico, com intervalo máximo de 24 horas.

Cada sessão teve duração máxima de 60 minutos, sendo tratado o arco superior e em seguida o arco inferior.

- **Grupo 3 controle (G3)** – realização de orientação de higiene e adequação do meio bucal sem a realização de tratamento periodontal durante os 6 meses de acompanhamento (grupo controle).

No período de acompanhamento de 3 e 6 meses, todos os pacientes foram reavaliados pelos mesmo examinador quanto ao parâmetros periodontais, além de serem realizadas novas coletas de sangue.

Análise dos níveis de IL-6, OPG e RANKL

As concentrações plasmáticas IL-6, OPG e RANKL foram avaliadas utilizando-se a Tecnologia Luminex, seguindo as orientações dos fabricantes. Micropartículas diluídas (50µL), curva padrão (50µL) e amostras do plasma sem diluição (50µL) foram pipetadas nos poços da placa e incubadas por duas horas. Após três lavagens, um coquetel de anticorpos conjugado à biotina (50µL) foi adicionado e incubado por uma hora à temperatura ambiente. Após outra lavagem, o conjugado estreptoavidina-ficoeritrina (50µL) foi finalmente adicionado, incubado por 30 minutos e as micropartículas foram suspendidas em solução tampão. A análise dos dados foi realizada com software Bio-Plex Manager® (Bio-Rad laboratories, Hercules, California) utilizando o analisador MAGPIX. O sistema utiliza dois lasers, um laser é micropartícula-específica (qualitativo) e o outro laser determina a magnitude do sinal derivado da ficoeritrina (quantitativo). Todos os marcadores foram mensurados por um mesmo kit comercialmente disponível de alta sensibilidade para citocinas em humanos (Linco Research Inc, St Charles, Missouri, USA), seguindo as orientações do fabricante.

Considerações Éticas

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Federal de Pernambuco (UFPE) sob protocolo nº124/2011 (ANEXO B). A pesquisa foi registrada no site de Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob número de identificação universal (UTN) U1111-1124-3635.

Todos os pacientes do grupo controle (grupo 3) receberam o tratamento periodontal após a última avaliação clínica.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada pelo software estatístico SPSS versão 20. Os dados foram analisados primeiramente para detectar a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, como eles não atingiram a normalidade, a análise foi realizada por meio de métodos não-paramétricos. O teste de Wilcoxon foi utilizado para detectar diferenças estatisticamente significativas dentro de cada grupo entre dois momentos (Δ 0 a 3 e Δ 3 a 6). Utilizou-se o teste de U de Mann Whitney para detectar diferenças entre o Grupos 1 e o Grupo2. Os sítios com PS > 4mm foram categorizados como presença de doença periodontal e os demais como saudáveis. Foi utilizado o teste de McNemar para a variável Profundidade de Sondagem no Mês 0, 3 e 6 para a proporção de sítios com doença periodontal. O nível de significância adotado foi de 5%.

2.5 RESULTADOS

No total, foram triados 154 pacientes que compareceram ao serviço da clínica de Pós-Graduação em Odontologia da UFPE, onde 78 pacientes não preencheram os critérios de inclusão (Figura 2). Os 76 pacientes selecionados foram randomicamente alocados nos grupos experimentais e controle. O grupo experimental 1 (G1) apresentou inicialmente 29 pacientes, no entanto 7 pacientes foram excluídos, obtendo-se ao fim do estudo 22 pacientes para análise. O grupo experimental 2 (G2) iniciou-se com um total de 25 pacientes, sendo que 13 foram excluídos posteriormente. Ao fim, o G2 apresentou 12 pacientes para análise. O grupo 3 (G3) foi composto por 22 pacientes, no entanto 6 pacientes não completaram as visitas, obtendo-se ao fim do estudo 16 pacientes para análise.

Caracterização da Amostra

As características sócio-demográficas dos pacientes incluídos na análise estão apresentadas na Tabela 1. Dos 50 participantes que completaram a pesquisa, 33 (66%) eram do gênero masculino e 17 (34%) do gênero feminino. A média de idade foi de $56,9 \pm 9,4$ anos, onde 34% da amostra apresentou 61 anos ou mais. A média de tempo que os participantes reportaram ter diabetes foi de $11,1 \pm 9,9$ anos. A hipertensão foi observada em 66% (33 pacientes) da amostra. Quanto ao uso de insulina, 76% (38 pacientes) relataram fazer uso diário do hormônio.

Durante a fase de adequação bucal, 191 restaurações foram confeccionadas, sendo 59 delas realizadas no G1, 56 no G2 e 76 no G3. Quanto às exodontias, foram realizadas um total de 8 extrações dentárias, sendo 5 no G1, 2 no G2 e 1 no G3.

Parâmetros Clínicos – Média da Profundidade de Sondagem (PS)

Com relação à média da profundidade de sondagem (boca toda), quando comparadas as avaliações inicial (mês 0) e de 3 meses, houve redução de 3,1 para 2,8 nos Grupos 1 e 2 ($p < 0,001$). Quando comparadas as avaliações realizadas nos meses 3 e 6, também houve redução estatisticamente significativa de ambos os grupos de estudo (G1: 2,8 para 2,7; G2: 2,8 para 2,6). No grupo controle (G3), não houve alteração da média da PS entre os meses 0 e 3, porém entre os meses 3 e 6 houve redução de 3,0 para 2,9 ($p < 0,001$). Os dados estão detalhados na tabela 2.

Quando comparadas as médias das diferenças da PS de cada paciente, entre os meses dos exames inicial e final (0 e 6), os grupos 1 e 2 apresentaram uma redução média de 0,3 ou seja, uma redução 3 vezes maior do que no grupo controle, conforme apresentado na Figura 4.

Parâmetros Inflamatórios – Média dos níveis de IL-6

Entre os meses 0 e 3, os níveis de IL-6 do grupo 1 reduziram de 82,2 pg/ml para 61 pg/ml; no grupo 2, a redução foi de 85,1 pg/ml para 62,4 pg/ml, resultados estatisticamente significantes ($p < 0,002$). Foram observadas também reduções dos níveis de IL-6 nos grupos 1 e 2 entre os meses 3 e 6, porém sem significância estatística. No grupo controle (G3), houve aumento dos níveis de IL-6 quando comparados os meses 0, 3 e 6 (85,1 pg/ml, 87,2 pg/ml e 90,2 pg/ml, respectivamente). Os dados estão detalhados na tabela 3.

Quando comparados os meses 0 e 6, os níveis de IL-6 dos grupos 1 e 2 apresentaram uma redução média de 23,6 pg/ml e 24,8 pg/ml respectivamente. O grupo controle apresentou aumento médio de 8,5 pg/ml (Figura 3)

Metabolismo Ósseo – Média dos níveis de OPG e RANKL

Grupos 1 e 2 - Com relação aos níveis de RANKL, notou-se uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,001$) quando comparados os meses 0 e 3 (G1: 32,1 pg/ml para 27,4 pg/ml; G2: 32,9 pg/ml para 28,2 pg/ml). Os níveis de OPG também reduziram entre o período acima citado (G1: 123,5 pg/ml para 100,9 pg/ml; G2: 111,8 pg/ml para 90,9 pg/ml - $p < 0,001$) (Tabela 3)

Quando comparados os meses 0 e 6, a variável RANKL apresentou uma redução média de 5,9 pg/ml (G1) e 4,1 pg/ml (G2) respectivamente. A variável OPG apresentou uma redução média de 23,4 pg/ml (G1) e 17,9 pg/ml (G2). (Figuras 3 e 4)

Grupo 3 (controle) – Com relação aos níveis de RANKL, houve um aumento gradativo entre as avaliações de mês 0, 3 e 6 (30,8 pg/ml no mês 0; 32,1 pg/ml no mês 3 e 34,2 pg/ml no mês 6). Os níveis de OPG foram de: 120,6 pg/ml no mês 0; 119 pg/ml no mês 3 e 122,6 pg/ml no mês 6. (Tabela 3)

Quando comparados os meses 0 e 6, houve aumento médio de 1,5 pg/ml na variável RANKL e de 4,8 pg/ml na variável OPG. (Figuras 3 e 4)

Diferenças entre os tipos de tratamento periodontal

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 1 e 2 (04 sessões com instrumentos manuais e ultrassônicos x 02 sessões com instrumentos ultrassônicos) quando avaliada a redução dos níveis de OPG, RANKL, IL-6 e da PS após o teste de Mann Whitney para amostras independentes, podendo-se concluir que os períodos são semelhantes entre o grupo 1 e grupo 2 (Tabela 4).

Melhora da condição periodontal

Na tabela 05, pode-se observar que no mês 0, em todos os três grupos, o percentual de sítios com doença periodontal é acima de 30%. Entre os meses 0 e 3, os grupos 1 e 2 demonstram uma redução de sítios com doença periodontal estatisticamente significativa ($p=0,000$) passando para 21,7% e 21,3%, respectivamente. Quando comparados os meses 3 e 6, mesmo com a redução de sítios doentes (17,4% e 18,3% respectivamente), não houve significância estatística ($p=0,590$ e $p=0,169$). O grupo controle no mês 6 apresentou uma redução estatisticamente significativa ($p=0,006$), mas ainda permaneceu com um percentual elevado de doença periodontal quando comparado com o exame inicial (34,1% no mês 0 e 29,6% no mês 6).

3 CONCLUSÃO

A presente pesquisa, através de suas análises, conseguiu demonstrar a redução das concentrações de marcadores inflamatórios (IL-6) e do metabolismo ósseo (RANKL e OPG), envolvidos no processo reabsorção óssea, em pacientes diabéticos tipo 2, após o tratamento periodontal não-cirúrgico.

Este estudo foi o primeiro a avaliar os níveis de marcadores inflamatórios e do metabolismo ósseo no plasma, em pacientes diabéticos, através de um ensaio clínico randomizado.

Em um estudo realizado em 2010, avaliou-se os níveis de OPG/RANKL no fluido gengival após tratamento periodontal, em pacientes diabéticos com periodontite, por um período de 6 meses. Os níveis de RANKL foram maiores no grupo de pacientes diabéticos com pobre controle glicêmico quando comparados aos diabéticos bem controlados. Os autores concluíram que a relação OPG/RANK pode ser negativamente influenciada pelo pobre controle glicêmico (55).

Alguns estudos observaram alterações nos níveis de OPG e RANK em pacientes portadores de periodontite crônica (52-54), onde notou-se uma maior proporção da relação RANK/OPG em pacientes portadores de doença periodontal quando comparados aos saudáveis.

Alterações fisiológicas dos níveis de OPG têm sido relacionadas a diversas situações clínicas com reabsorções ósseas excessivas, como, por exemplo, as artrites inflamatórias, osteoporose e metástases ósseas (50-52).

Com relação ao tipo de tratamento periodontal empregado, nossos resultados sugerem que não há diferença estatisticamente significativa entre o tratamento periodontal manual e o ultrassônico. Ambas as formas de tratamento mostraram eficácia na redução de sítios doentes. A instrumentação ultrassônica pode mudar o perfil de atendimento periodontal no serviço público, com mais eficiência no atendimento e menos desgaste físico para o cirurgião-dentista.

AGRADECIMENTOS

Os autores declaram não possuir conflito de interesse na realização da presente pesquisa.
A presente pesquisa foi contemplada pelo Edital MCT/CNPq Nº 014/2010 – Universal.

REFERÊNCIAS

1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2007;30 Suppl 1:S42-47
2. Lalla E, Papapanou PN: Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nature reviews Endocrinology* 2011;7:738-748
3. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice* 2010;87:4-14
4. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 2004;27:1047-1053
5. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000;321:405-412
6. Simpson TC, Needleman I, Wild SH, Moles DR, Mills EJ: Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD004714
7. Loe H: Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes care* 1993;16:329-334
8. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr.: Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology* 1998;25:134-144
9. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U: Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *Journal of clinical periodontology* 2002;29:1023-1028
10. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, Takehara T: Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia in subgingival plaque. *Journal of periodontology* 2008;79:670-676
11. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1996;1:926-932
12. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, Sanz M, Botero JE, Leon R: Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *Journal of clinical periodontology* 2008;35:106-113
13. Page RC: The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1998;3:108-120
14. Cole CM, Sundararaj KP, Leite RS, Nareika A, Slate EH, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, Huang Y. A trend of increase in periodontal interleukin-6 expression across patients with

neither diabetes nor periodontal disease, patients with periodontal disease alone, and patients with both diseases. *J Periodont Res* 2008; 43: 717–722

15. Mealey BL: Periodontal disease and diabetes. A two-way street. *J Am Dent Assoc* 2006;137 Suppl:26S-31S

16. Stewart JE, Wager KA, Friedlander AH, Zadeh HH: The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical periodontology* 2001;28:306-310

17. Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF: Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of periodontology* 2003;74:1361-1367

18. Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdogan MF: The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *Journal of clinical periodontology* 2005;32:266-272

19. Faria-Almeida R, Navarro A, Bascones A: Clinical and metabolic changes after conventional treatment of type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology* 2006;77:591-598

20. Navarro-Sanchez AB, Faria-Almeida R, Bascones-Martinez A: Effect of non-surgical periodontal therapy on clinical and immunological response and glycaemic control in type 2 diabetic patients with moderate periodontitis. *Journal of clinical periodontology* 2007;34:835-843

21. Katagiri S, Nitta H, Nagasawa T, Uchimura I, Izumiyama H, Inagaki K, Kikuchi T, Noguchi T, Kanazawa M, Matsuo A, Chiba H, Nakamura N, Kanamura N, Inoue S, Ishikawa I, Izumi Y: Multi-center intervention study on glycohemoglobin (HbA1c) and serum, high-sensitivity CRP (hs-CRP) after local anti-infectious periodontal treatment in type 2 diabetic patients with periodontal disease. *Diabetes research and clinical practice* 2009;83:308-315

22. Sun WL, Chen LL, Zhang SZ, Ren YZ, Qin GM: Changes of adiponectin and inflammatory cytokines after periodontal intervention in type 2 diabetes patients with periodontitis. *Archives of oral biology* 2010;55:970-974

23. Koromantzios PA, Makrilakis K, Dereka X, Katsilambros N, Vrotsos IA, Madianos PN: A randomized, controlled trial on the effect of non-surgical periodontal therapy in patients with type 2 diabetes. Part I: effect on periodontal status and glycaemic control. *Journal of clinical periodontology* 2011;38:142-147

24. Lin SJ, Tu YK, Tsai SC, Lai SM, Lu HK: Non-surgical periodontal therapy with and without subgingival minocycline administration in patients with poorly controlled type II diabetes: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations* 2012;16:599-609

25. Promsudthi A, Pimapansri S, Deerochanawong C, Kanchanasita W: The effect of periodontal therapy on uncontrolled type 2 diabetes mellitus in older subjects. *Oral diseases* 2005;11:293-298
26. da Cruz GA, de Toledo S, Sallum EA, Sallum AW, Ambrosano GM, de Cassia Orlandi Sardi J, da Cruz SE, Goncalves RB: Clinical and laboratory evaluations of non-surgical periodontal treatment in subjects with diabetes mellitus. *Journal of periodontology* 2008;79:1150-1157
27. Goncalves D, Correa FO, Khalil NM, de Faria Oliveira OM, Orrico SR: The effect of non-surgical periodontal therapy on peroxidase activity in diabetic patients: a case-control pilot study. *Journal of clinical periodontology* 2008;35:799-806
28. Santos VR, Lima JA, De Mendonca AC, Braz Maximo MB, Faveri M, Duarte PM: Effectiveness of full-mouth and partial-mouth scaling and root planing in treating chronic periodontitis in subjects with type 2 diabetes. *Journal of periodontology* 2009;80:1237-1245
29. Correa FO, Goncalves D, Figueredo CM, Bastos AS, Gustafsson A, Orrico SR: Effect of periodontal treatment on metabolic control, systemic inflammation and cytokines in patients with type 2 diabetes. *Journal of clinical periodontology* 2010;37:53-58
30. Darre L, Vergnes JN, Gourdy P, Sixou M: Efficacy of periodontal treatment on glycaemic control in diabetic patients: A meta-analysis of interventional studies. *Diabetes & metabolism* 2008;34:497-506
31. Teeuw WJ, Gerdes VE, Loos BG: Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes care* 2010;33:421-427
32. Janket SJ, Wightman A, Baird AE, Van Dyke TE, Jones JA: Does periodontal treatment improve glycemic control in diabetic patients? A meta-analysis of intervention studies. *Journal of dental research* 2005;84:1154-1159
33. Schulz KF, Altman DG, Moher D: CONSORT 2010 statement: Updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics* 2010;1:100-107
34. Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes care* 2012;35 Suppl 1:S11-63
35. Armitage GC: Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1999;4:1-6
36. Ainamo J, Bay I: Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *International dental journal* 1975;25:229-235
37. Williams RC, Jr., Mahan CJ: Periodontal disease and diabetes in young adults. *Journal of the American Medical Association* 1960;172:776-778

38. Grossi SG, Genco RJ: Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology* 1998;3:51-61
39. Amar S, Han X: The impact of periodontal infection on systemic diseases. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2003;9:RA291-299
40. Graves DT, Cochran D: The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *Journal of periodontology* 2003;74:391-401
41. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM: Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259:87-91
42. Hotamisligil GS: The role of TNF α and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *Journal of internal medicine* 1999;245:621-625
43. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ: Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *Journal of periodontology* 1996;67:1094-1102
44. Grossi SG, Skrepcinski FB, DeCaro T, Robertson DC, Ho AW, Dunford RG, Genco RJ: Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *Journal of periodontology* 1997;68:713-719
45. Iwamoto Y, Nishimura F, Nakagawa M, Sugimoto H, Shikata K, Makino H, Fukuda T, Tsuji T, Iwamoto M, Murayama Y: The effect of antimicrobial periodontal treatment on circulating tumor necrosis factor- α and glycated hemoglobin level in patients with type 2 diabetes. *Journal of periodontology* 2001;72:774-778
46. Jones JA, Miller DR, Wehler CJ, Rich SE, Krall-Kaye EA, McCoy LC, Christiansen CL, Rothendler JA, Garcia RI: Does periodontal care improve glycemic control? The Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. *Journal of clinical periodontology* 2007;34:46-52
47. Ross FP. Ranking the importance of measles virus in Paget's disease. *J Clin Invest* 2000;105:5555-58.
48. 91. Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. Rank-L and Rank:T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol* 2002;20:795-823.
49. Andrade AD, Marinho C F, Barcelos M, Zorzal MB, Conz MB, Vidigal Jr GM. *Biologia óssea: uma revisão da literatura. Revista implantnews* 2007;4(6):659-62.
50. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, Mogi M, Yano K, Tsuda E, Takahashi K, Furuya T, Ishiyama S, Kim KJ, Saito S, Nishikawa T, Takahashi N, Togari A, Tomatsu T, Suda T, Kamatani N. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2001; 44:1003-1012.
51. Golmia, R, Scheinberg, M. Atualização em osteoprotegerina. *Einstein* 2004; 2(3):220.

52. Mogi M, Ootogoto J, Ota N, Togari A. Differential expression of RANKL and osteoprotegerin in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis. *J Dent Res* 2004; 83:166–169.
53. Lu HK, Chen YL, Chang HC, Li CL, Kuo MY. Identification of the OPG/ RANKL system in gingival crevicular fluid and tissue of patients with chronic periodontitis. *J Periodontal Res* 2006; 41(4):354–60.
54. Bostanci N, Ilgenli T, Emingil G, Afacan B, Han B, Töz H, Atilla G, Hughes FJ, Belibasakis GN. Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases: implications of their relative ratio. *J Clin Periodontol* 2007; 34(5):370–76.
55. Santos RS, Lima JA, Gonçalves TED, Bastos MF, Figueiredo LC, Shibli JA ,Duarte PM. Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Ratio in Sites of Chronic Periodontitis of Subjects with Poorly and Well-Controlled Type2 Diabetes. *J Periodontol* 2010; 81(10); 1455-1463

LISTA DE TABELAS

VARIÁVEIS		G1- Convencional		G2-Ultrassom		G3-Controle		TOTAL	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Sexo	Masculino	14	63,6	6	50,0	13	81,3	33	66,0
	Feminino	8	36,4	6	50,0	3	18,8	17	34,0
Faixa etária	De 30 a 40 anos	2	9,1	1	8,3	1	6,3	4	8,0
	De 41 a 50 anos	6	27,3	3	25,0	2	12,5	11	22,0
	De 51 a 60 anos	7	31,8	5	41,7	6	37,5	18	36,0
	De 61 a 70 anos	6	27,3	1	8,3	6	37,5	13	26,0
	Acima de 70 anos	1	4,5	2	16,7	1	6,3	4	8,0
Hipertenso	Sim	16	72,7	6	50,0	11	68,8	33	66,0
	Não	6	27,3	6	50,0	5	31,3	17	34,0
Uso de insulina	Sim	18	81,8	9	75,0	11	68,8	38	76,0
	Não	4	18,2	3	25,0	5	31,3	12	24,0

Tabela 01 – Caracterização da amostra dos pacientes

VARIÁVEL	GRUPO	Mês 0	Δ 0 a 3 p-valor ¹	Mês 3	Δ 3 a 6 p-valor ¹	Mês 6
		Média $\pm$ Dp		Média $\pm$ Dp		Média $\pm$ Dp
PS	G1 - Convencional	3,1 $\pm$ 1,3	0,000*	2,8 $\pm$ 1,3	0,000*	2,7 $\pm$ 1,1
	G2 - Ultrassom	3,1 $\pm$ 1,3	0,000*	2,8 $\pm$ 1,2	0,040*	2,6 $\pm$ 1,1
	G3 - Controle	3,0 $\pm$ 1,2	0,252	3,0 $\pm$ 1,4	0,000*	2,9 $\pm$ 1,2

*Estatisticamente significativa; Dp=Desvio-padrão

1- Teste de Wilcoxon para comparar mês 0 com mês 3 e mês 3 com mês 6.

Tabela 02– Média e desvio padrão da variável PS em cada período (Mês 0, 3 e 6) segundo os grupos

VARIÁVEL	GRUPO	Mês 0	Δ 0 a 3 p-valor ¹	Mês 3	Δ 3 a 6 p-valor ¹	Mês 6
		Média $\pm$ Dp		Média $\pm$ Dp		Média $\pm$ Dp
RANKL	G1 - Convencional	32,1 $\pm$ 7,5	0,000*	27,4 $\pm$ 6,3	0,233	25,4 $\pm$ 6,5
	G2 - Ultrasom	32,9 $\pm$ 4,7	0,011*	28,2 $\pm$ 6,2	0,767	29,7 $\pm$ 3,9
	G3 - Controle	30,8 $\pm$ 7,1	0,063	32,1 $\pm$ 4,7	0,099	34,2 $\pm$ 4,9
OPG	G1 - Convencional	123,5 $\pm$ 23,4	0,000*	100,9 $\pm$ 19,2	0,955	97,4 $\pm$ 18,8
	G2 - Ultrasom	111,8 $\pm$ 19,5	0,004*	90,9 $\pm$ 19,0	0,515	91,4 $\pm$ 11,9
	G3 - Controle	120,6 $\pm$ 18,5	0,796	119,0 $\pm$ 16,5	0,041*	122,6 $\pm$ 22,4
IL6	G1 - Convencional	82,2 $\pm$ 16,4	0,000*	61,0 $\pm$ 15,7	0,691	58,3 $\pm$ 14,2
	G2 - Ultrasom	85,1 $\pm$ 13,1	0,002*	62,4 $\pm$ 13,1	0,953	61,1 $\pm$ 14,8
	G3 - Controle	85,1 $\pm$ 12,0	0,501	87,2 $\pm$ 16,3	0,388	90,2 $\pm$ 9,8

*Estatisticamentesignificante;Dp=Desvio-padrão

1- Teste de Wilcoxon para comparar mês 0 com mês 3 e mês 3 com mês 6.

Tabela 03– Média e desvio padrão das variáveis RANKL, OPG, IL6 em cada período (Mês 0, 3 e 6) segundo os grupos

VARIÁVEL	GRUPO	Mês 0		Mês 3		Mês 6	
		Média $\pm$ Dp	P-valor ¹	Média $\pm$ Dp	P-valor ¹	Média $\pm$ Dp	P-valor ¹
RANKL	G1 - Convencional	32,1 $\pm$ 7,5	0,614	27,4 $\pm$ 6,3	0,815	25,4 $\pm$ 6,5	0,071
	G2 - Ultrasom	32,9 $\pm$ 4,7		28,2 $\pm$ 6,2		29,7 $\pm$ 3,9	
OPG	G1 - Convencional	123,5 $\pm$ 23,4	0,090	100,9 $\pm$ 19,2	0,251	97,4 $\pm$ 18,8	0,467
	G2 - Ultrasom	111,8 $\pm$ 19,5		90,9 $\pm$ 19,0		91,4 $\pm$ 11,9	
IL6	G1 - Convencional	82,2 $\pm$ 16,4	0,815	61,0 $\pm$ 15,7	0,770	58,3 $\pm$ 14,2	0,553
	G2 - Ultrasom	85,1 $\pm$ 13,1		62,4 $\pm$ 13,1		61,1 $\pm$ 14,8	
PS	G1 - Convencional	3,1 $\pm$ 1,3	0,400	2,8 $\pm$ 1,3	0,100	2,7 $\pm$ 1,1	0,010*
	G2 - Ultrasom	3,1 $\pm$ 1,3		2,8 $\pm$ 1,2		2,6 $\pm$ 1,1	

*Estatisticamente significativa; Dp=Desvio-padrão

1- Teste de Mann Whitney para comparar grupos 1 com grupo 2 em cada mês.

Tabela 04 – Média e desvio padrão das variáveis RANKL, OPG, IL6 e PS em cada período (Mês 0, 3 e 6) comparando o grupo 1 e 2 em cada período (mês 0,3 e 6)

GRUPOS	Profundidade de Sondagem				
	% Doença Periodontal (PS>4mm)				
	Mês 0	p-valor ¹	Mês 3	p-valor ¹	Mês 6
G1 - Convencional	31,9	0,000	21,7	0,590	17,4
G2 - Ultrassom	33,6	0,000	21,3	0,169	18,3
G3 - Controle	34,1	0,892	33,3	0,006	29,6

*Estatisticamentesignificante; 1-Teste de McNemar

Tabela 05 -Percentual de sítios com doença periodontal nos meses 0, 3 e 6 segundo a distribuição dos grupos

LISTA DE FIGURAS

PROCEDIMENTOS	MÊS 0	MÊS 3	MÊS 6
Entrevista inicial	X		
Avaliação periodontal	X	X	X
Exames glicêmicos e lipídicos	X	X	X
Coleta de Sangue	X	X	X
Randomização	X		
Orientação e entrega de kit de higiene bucal	X	X	X
Realização de procedimentos básicos para controle da placa supra e subgengival (restaurações provisórias e premanentes, exodontias)	X		
Tratamento periodontal correspondente a cada grupo	X		

Figura 1: Procedimentos realizados de acordo com o mês de avaliação.

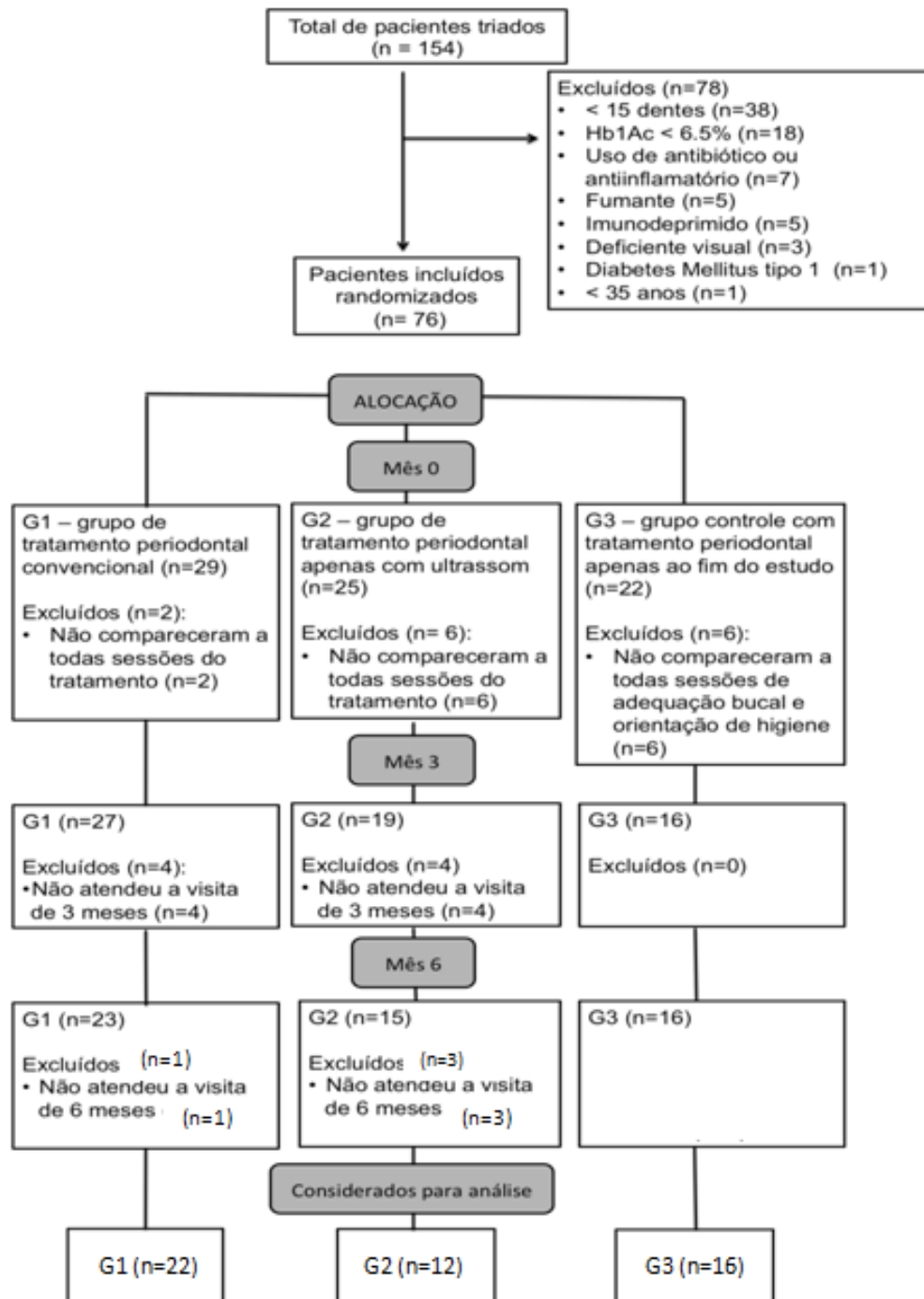


Figura 2: Fluxograma da pesquisa.

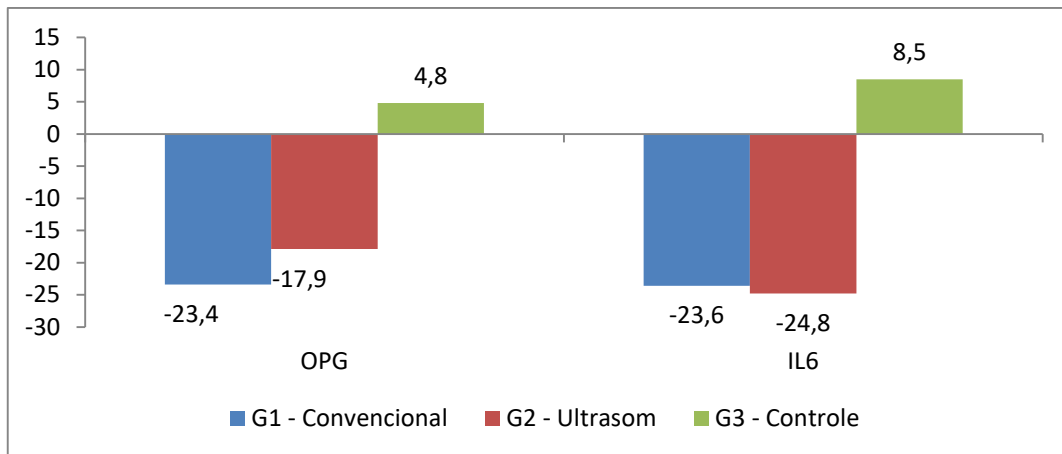


Figura 03 – Média da diferença total entre o mês 0 e o mês 6 da variável OPG e IL6

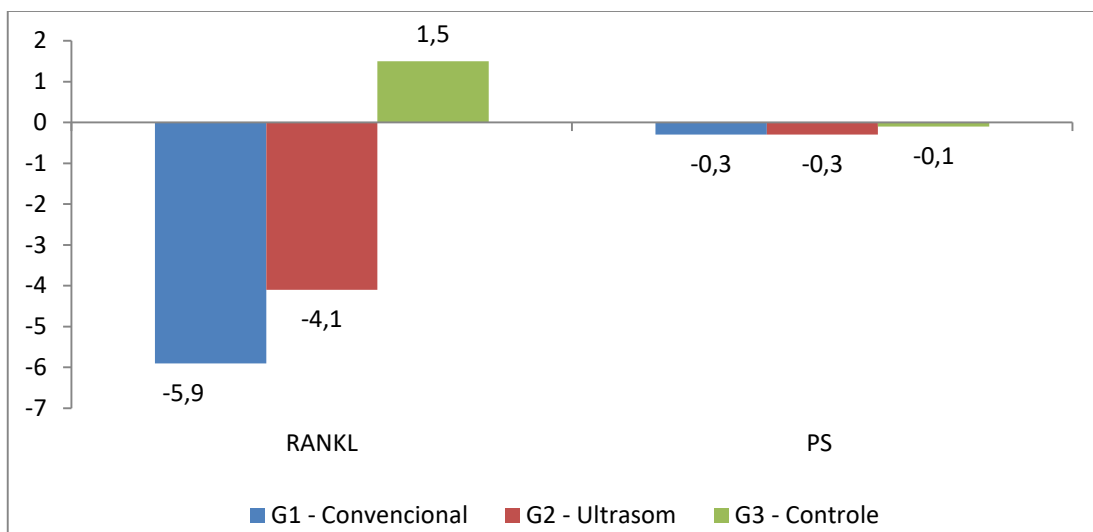


Figura 04 – Média da diferença total entre o mês 0 e o mês 6 da variável RANKL e Profundidade de Sondagem.

APÊNDICES

APÊNDICE A - FICHA CLÍNICA

NOME: _____ Nº _____

SEXO: () Masculino () Feminino DATA: _____

IDADE: _____ PROFISSÃO: _____ RENDA (salários): _____

ESTADO CIVIL: _____ FONE: _____ CEL: _____

HÁBITO DE FUMAR:

() Nunca fumou () Ex-fumante: _____ (anos que parou)

() Fumante: _____ (quantos por dia)

ESCOLARIDADE:

() Não sabe ler ou escrever

() Universidade incompleta

() 1º grau incompleto

() Universidade completa

() 1º grau completo

() Pós-graduação

() 2º grau incompleto

() Não sei

() 2º grau completo

DADOS METABÓLICOS:

Diabético há quanto tempo: _____ Usa insulina: () sim () não

Medicamentos Utilizados: _____

Dados metabólicos	0 meses	3 meses	6 meses
Glicemia em jejum			
Hemoglobina glicada			
Triglicerídeos			
Colesterol total			

FICHA PERIODONTAL – MÊS 0

PACIENTE:_____ DATA:_____

[illegible]

SANGRAMENTO: Faces _____ % _____

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

PLACA: Faces _____ %

[illegible]

FICHA PERIODONTAL – MÊS 3

PACIENTE:_____ DATA:_____

[illegible]

SANGRAMENTO: Faces _____ % _____

[illegible]

PLACA: Faces_____%

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

FICHA PERIODONTAL – MÊS 6

PACIENTE: _____ DATA: _____

Dente	Sondagem (mm)						Recessão Gengival (mm)						Furca			Mob
	Vestibular			Palatina			Vestibular			Palatina			M	D	P	
	D	C	M	D	C	M	D	C	M	D	C	M				
18																
17																
16																
15																
14																
13																
12																
11																
21																
22																
23																
24																
25																
26																
27																
28																
38																
37																
36																
35																
34																
33																
32																
31																
41																
42																
43																
44																
45																
46																
47																
48																

SANGRAMENTO: Faces _____ %

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

PLACA: Faces _____ %

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

PRONTUÁRIO GRUPO: () 01 () 02 () 03

NOME: _____ N° _____

SEXO: () Masculino () Feminino DATA:_____

FONE: _____ CEL: _____

IDADE:_____ HIPERTENSÃO: () SIM () NÃO

MEDICAMENTOS: _____

ALERGIAS: _____

[illegible]

Obs: _____

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DA PESQUISA: Interação entre periodontite crônica e diabetes tipo ii: ensaio clínico randomizado para estudo do impacto do tratamento periodontal na severidade de ambas as patologias, através de parâmetros clínicos, metabólicos, imunológicos e microbiológicos.

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: Renata Cimões Jovino Silveira (Professora de Clínica Integrada UFPE). Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Recife – PE. CEP: 50670-901 Telefone para contato: 21268817 (Secretaria de Pós-graduação em Odontologia da UFPE).

CONTATO COM O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA: Av. Prof. Moraes Rego S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. CEP: 50670-901 Telefone para contato: 21268588

OBJETIVO: Avaliar a interação entre periodontite crônica e diabetes tipo II, através de um estudo tipo ensaio clínico randomizado para avaliar o impacto do tratamento periodontal na severidade de ambas as patologias, através de parâmetros clínicos, metabólicos, imunológicos (OPG e RANK).

METODOLOGIA: Serão avaliados através de um exame clínico índice de placa, sangramento, profundidade de sondagem, perda de inserção. Também serão coletados amostras de placa subgingival com cones de papel e sangue periférico. Além disto, todos os pacientes participantes receberão tratamento periodontal e serão aplicados questionários para avaliação do impacto da doença periodontal na qualidade de vida. Toda documentação obtida com a pesquisa será arquivada em local adequado.

BENEFÍCIOS: Os participantes receberão orientações de higiene oral e como tratar a doença periodontal presente e prevenir sua progressão. Todos os pacientes receberão tratamento periodontal, assim como uma adequação do meio bucal.

RISCOS: Ao paciente submetido à pesquisa, poderá ocorrer o risco de, durante o exame clínico e a realização do tratamento, sentir constrangimento, apresentar sangramento gengival, dor, sensibilidade dentária, no entanto esses sintomas serão minimizados pela experiência do examinador. Poderá os mesmos apresentar hematoma pós-coleta de sangue periférico.

Eu, _____, RG.Nº. _____

Abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo participar desta pesquisa, bem como autorizo toda a documentação necessária, a divulgação e a publicação da mesma, em periódicos científicos, na área de Odontologia.

DIREITOS:

1. A garantia de receber respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa;
2. A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento e deixar de participar no estudo sem que isso me traga prejuízo;
3. A segurança de que não serei identificado e que será mantido caráter confidencial da informação relacionada com minha privacidade;
4. A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito por parte da instrução à saúde, em casos de danos que a justifiquem, diretamente causados pela pesquisa;
5. O compromisso de proporcionar-me informação atualizada durante o estudo, ainda que este possa afetar a minha vontade de continuar participando;
6. Caso existirem gastos adicionais estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Tendo ciência do exposto acima, desejo participar da pesquisa.

Recife, ____ de _____ de _____.

Assinatura do paciente

Assinatura do Pesquisador

Assinatura da Testemunha

Assinatura da Testemunha

ANEXOS

ANEXO A



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº. 124/2011 - CEP/CCS

Recife, 08 de abril de 2011

Registro do SISNEP FR – 363233

CAAE – 0320.0.172.000-10

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 319/10

Título: Interação entre periodontite crônica e diabetes tipo II: ensaio clínico randomizado para estudo do impacto do tratamento periodontal na severidade de ambas as patologias, através de parâmetros clínicos, metabólicos, imunológicos e microbiológicos.

Pesquisador Responsável: Renata Cimões Jovino Silveira

Senhor (a) Pesquisador (a):

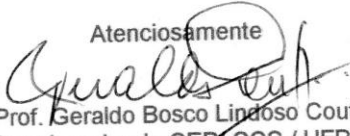
Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, liberando-o para início da coleta de dados em 08 de abril de 2011.

Ressaltamos que a aprovação definitiva do projeto será dada após a entrega do relatório final, conforme as seguintes orientações:

- a) Projetos com, no máximo, 06 (seis) meses para conclusão: o pesquisador deverá enviar apenas um relatório final;
- b) Projetos com períodos maiores de 06 (seis) meses: o pesquisador deverá enviar relatórios semestrais.

Dessa forma, o ofício de aprovação somente será entregue após a análise do relatório final.

Atenciosamente


Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

A
Dra. Renata Cimões Jovino Silveira
Pós-Graduação em Odontologia-CCS/UFPE

ANEXO B

Diabetes Care Instructions for Authors Last updated on January 29, 2013.

Beginning with manuscripts submitted after Jan. 1, 2013, *Diabetes Care* requires authors to report HbA1c levels in both traditional, DCCT-derived units (as %) and SI, IFCC-recommended units (as mmol/mol). Authors should use the NGSP converter for HbA1c, available at <http://www.ngsp.org/convert1.asp>, to calculate HbA1c values as both % and mmol/mol. (Please note the additional link available for converting standard deviations.) Values should first be reported as %, followed by the mmol/mol equivalent in parentheses.

1. ABOUT THE JOURNAL 2. POLICIES 3. EDITORIAL OFFICE CONTACT INFORMATION 4. FORMS AND REQUIREMENTS 5. MANUSCRIPT CATEGORIES 6. MANUSCRIPT FORMAT AND STYLE 7. SUBMITTING A MANUSCRIPT 8. ACCEPTED MANUSCRIPTS 9. FINANCIAL OBLIGATIONS

Diabetes Care takes only online manuscript submissions. The submission site can be found at <http://mc.manuscriptcentral.com/diabetescare>. Please read all instructions carefully. Failure to follow the submission instructions may delay the review process.

1. ABOUT THE JOURNAL

Diabetes Care is a journal for the health care practitioner that is intended to increase knowledge, stimulate research, and promote better management of people with diabetes. To achieve these goals, the journal publishes Original Articles on human studies in the following categories: 1) Clinical Care/Education/Nutrition/Psychosocial Research 2) Epidemiology/Health Services Research 3) Pathophysiology/Complications 4) Cardiovascular and Metabolic Risk

The journal also publishes clinically relevant review articles, letters to the editor, and commentaries. Topics covered are of interest to clinically oriented physicians, researchers, epidemiologists, psychologists, diabetes educators, and other health professionals. The journal does not publish descriptions of study designs without data, papers on in vitro studies, or studies involving animals.

The editor-in-chief of *Diabetes Care*, William T. Cefalu, MD, began his term with the January 2012 issue. Dr. Cefalu's editorial team began reviewing first submissions on July 1, 2011.

2. POLICIES

The American Diabetes Association's Publications Policy Committee follows the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), the World Association of Medical Editors (WAME), and the Committee on Publication Ethics (COPE) for guidance on policies and procedures related to publication ethics. The policies for *Diabetes Care* have been adopted from those three advisory bodies and, where necessary, modified and tailored to meet the specific content, audiences, and aims of *Diabetes Care*. Comprehensive information related to the editorial and ethical policies of *Diabetes Care* can be found in **Publication Policies and Procedures for Diabetes Care**. The Association's Publications Policy Committee or Subcommittee on Ethical Scientific Publications will consider on a case-by-case basis policies that are not addressed in the policies document, which contains information related to the following topics:

- Study Design
- Originality and Prior Publication
- Authorship and Contributions
- Acknowledgments
- Conflict of Interest
- Data Access and Responsibility

- Clinical Trials, Systematic Reviews, and Meta-Analyses
- Plagiarism
- Digital Image Manipulation
- Responses to Possible Scientific Misconduct
- Peer Review
- Editorial Decisions
- Prepublication of Accepted Articles
- Reuse, Post-Prints, and Public Access
- Errata
- Media Embargos
- Advertising
- Supplements

Frequently referenced segments of the document appear below.

2.1. *Diabetes Care* publishes only material that has not been published previously (either in print or electronically) and is not under consideration for publication elsewhere, with the exception of an abstract that is less than 400 words in length. Prior presentation of data (e.g., at a scientific meeting or via webcast) does not preclude publication in *Diabetes Care*, but should be disclosed in the Acknowledgments of the paper and in the author's comments to the editor upon manuscript submission. All submissions to the journal will be scanned for possible duplicate or prior publication using the CrossCheck/iThenticate plagiarism detection system (www.ithenticate.com). Any article that eclipses a certain similarity threshold with another article will be closely reviewed by ADA. Authors who submit previously published work to the journal will be banned from submitting future manuscripts to the journal, and their funding body and/or institution will be notified.

All contributions, including solicited articles and symposia, are critically reviewed by the editors and/or invited referees. Reviewers' comments are usually provided to the authors. The decision of the editors is final.

2.2. Prepublication of Research Articles. To make new research readily available to subscribers, *Diabetes Care* publishes original research articles online ahead of print before the print/online issue becomes available.

Online Ahead of Print articles are citable by their unique DOI (digital object identifier). DOIs for *Diabetes Care* articles begin with 10.2337, followed by the article number assigned when the manuscript was submitted online via the manuscript submission system. (e.g., 10.2337/dc13-1234)

Example: Kohler C, Norton H, Such V, Baldino N: How to cite a prepublished article in ADA journals. *Diabetes Care* 10.2337/dc13-1234. Accessed [insert date]

2.3. Embargo Policy. If you are interested in reporting on a *Diabetes Care* article published online ahead of print, please read the article embargo policy for specific instructions and conditions. Articles that were not prepublished are embargoed until they appear in a final issue of *Diabetes Care Online*.

2.4. Public Access Policy. Since the July 2008 issue, the American Diabetes Association deposits all final print articles accepted for publication in *Diabetes Care* in PubMed Central, a repository of peer-reviewed research maintained by the National Institutes of Health and its affiliates. ADA provides this service at no cost to authors. Articles are accessible on PubMed Central 12 months after the date of final publication in *Diabetes Care*. Authors may submit the accepted version of their *manuscript* to their funding body's repository immediately upon acceptance.

2.5. Clinical Trials. The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) defines a clinical trial as "any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes." All clinical trials submitted to *Diabetes Care* must be registered with an approved ICMJE clinical trial registry (ClinicalTrials.gov, www.ISRCTN.org, www.actr.org.au, www.umin.ac.jp, and www.trialregister.nl). *Diabetes Care* accepts registration of clinical trials in any of the primary registries that participate in the WHO International Clinical Trial Registry Platform. Posting clinical trial results exceeding more than 500 words in a clinical trials registry is considered prior publication. Posting results in the form of a structured abstract (less than 500 words) or table is not considered prior publication. For definitions and further information, please see ICMJE's clinical trials registration policy found in the Uniform

Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Please be sure to include the unique trial number and the name of the registry (e.g., NCTXXXXXXX, ClinicalTrials.gov; or ISRCTNXXXXXXX, www.ISRCTN.org) on the manuscript's title page.

3. EDITORIAL OFFICE CONTACT INFORMATION

Diabetes Care Editorial Office^[SEP]5110 Commerce Square Dr., Suite G^[SEP]Indianapolis, IN 46237^[SEP]phone: (317) 354-1508, ext 1782 fax: (317) 859-3592^[SEP]e-mail: diabetescare@diabetes.org

Lyn Reynolds, Director, Editorial Office^[SEP]Shannon Potts and Jane Lucas, Peer Review Managers^[SEP]Rita Summers, Editorial Assistant^[SEP]Joan Garrett, Editorial Secretary^[SEP]Rachel Castillo, Editorial Secretary

4. FORMS AND REQUIREMENTS

4.1. The Manuscript Submission Form addresses ADA's policies on 1) originality and authorship, 2) copyright assignment, and 3) potential conflict of interest and outlines the Association's permission policies related to reuse and post prints. ADA will also accept ICMJE's Uniform Disclosure Form for Potential Conflicts of Interest. The corresponding author may complete the form on behalf of all authors.

Corresponding authors are encouraged to scan and upload the form to the manuscript submission site with their article files. If this is not possible, the corresponding author may fax (317-859-3592) or e-mail (EditorialOffice@diabetes.org) the completed form for all authors to the Editorial Office immediately after submission. Submissions will not be considered complete until the form has been received.

4.1.2. Statement of Originality and Authorship. *Diabetes Care* subscribes to the requirements stated in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals that authorship implies substantial contributions to conception and design or analysis and interpretation of data and drafting of the article or critical revision for important intellectual content. The editor reserves the right to query authorship contribution.

4.1.3. Copyright Assignment. The American Diabetes Association holds the copyright on all material appearing in *Diabetes Care*, unless the content is produced by an employee of the U.S. government as part of the authors' official duties. The corresponding author must check the appropriate box on the Manuscript Submission Form, which transfers copyright to the ADA in accordance with the Copyright Revision Act of 1976.

4.1.4. Conflict of Interest. Please read the ADA Policy Statement on Duality of Interest and check the box for Potential Conflict of Interest Disclosure on the Manuscript Submission Form.

In addition to completing the Manuscript Submission Form, all submitted papers must include a conflict-of-interest statement for all authors in the Acknowledgments section. If authors have no relevant conflict of interest to disclose, this should be indicated in the Acknowledgments section. Relevant conflict of interest (or lack thereof) should also be disclosed in the authors' comments to the editor during the submission process.

4.5. Author Contributions. Authors are required to include a paragraph in the Acknowledgments section listing each author's

Example: "C.K. researched data. L.R. wrote the manuscript and researched data. H.N. reviewed/edited the manuscript. V.S. contributed to the discussion and reviewed/edited the manuscript. N.B. researched data and contributed to discussion. V.G. wrote the manuscript."

4.6. Writing Groups. The names of members of writing groups should be listed at the end of the paper in the Acknowledgments section (if no more than two or three short paragraphs) or in a separate supplemental online-only file.

4.7. Affiliations. Institutional and/or employment affiliations of all authors should be listed on the title page of the manuscript. In addition, when citing "editorial assistance" or help provided by a colleague, authors are required to list the employer/institution with which that colleague is affiliated.

Example: “The authors acknowledge the editorial assistance of Mark Smith, Global Informatics, Inc.”; “The authors thank Mark Smith, Global Informatics, Inc., for help with preparing the manuscript.”

4.8. Reuse. Authors are permitted to reuse portions of their ADA-copyrighted work in their own work, including tables and figures, and to reuse portions or all of their ADA-copyrighted work for lecture or classroom purposes, provided that the proper citation and copyright information is given.

4.9. Post-Prints. Authors are permitted to submit the accepted version of their *manuscript* to their funding body or institution for inclusion in that funding body or institution’s database, archive, or repository, or to post the accepted version on their personal Web site. These manuscripts may be made freely accessible to the public upon acceptance, provided that the following two conditions are observed:

First, post-prints must include the following statement of provenance and, once the final version has been published in the journal, a link to the final published version of the paper on the journal’s Web site:

This is an author-created, uncopyedited electronic version of an article accepted for publication in *Diabetes Care*. The American Diabetes Association (ADA), publisher of *Diabetes Care*, is not responsible for any errors or omissions in this version of the manuscript or any version derived from it by third parties. The definitive publisher-authenticated version will be available in a future issue of *Diabetes Care* in print and online at <http://care.diabetesjournals.org>.

Second, the version of the manuscript deposited or posted must be identical to the final accepted version, with the exception of the addition of the above statement and any changes necessary to correct errors. Authors may make changes to the posted version to correct mistakes or may issue an erratum at any time. However, the final published version of the manuscript may not be deposited, posted, or later substituted for the post-print.

5. MANUSCRIPT CATEGORIES

See Section 6, Manuscript Format and Style, for detailed instructions on formatting documents.

5.1. Original Articles. Original Articles should be arranged in the following order: title page, structured abstract, introduction (no heading), “Research Design and Methods,” “Results,” “Conclusions,” “Acknowledgments,” “References,” tables, and figure legends.

A **structured abstract** is required for all Original Articles. Abstracts for an Original Article should not exceed 250 words. (This is not to be confused with abstracts submitted to the Annual Scientific Meeting, for which the word limit is higher.) The abstract must be self-contained and clear without reference to the text and should be written for a general journal readership. The abstract format should include four sections: “Objective” (the purpose or hypothesis of study), “Research Design and Methods” (the basic design, setting, number of participants and selection criteria, treatment or intervention, and methods of assessment), “Results” (significant data found), and “Conclusions” (the validity, limitations, and clinical applicability of the study and its results).

The **word count limit** for Original Articles is 4,000 words, excluding words in tables, table legends, figure legends, title page, acknowledgments, and references. In addition, an original article is limited to a combination of 4 tables and figures. **References** are limited to 40 citations.

A conflict-of-interest statement for all authors must be included in the Acknowledgments section of the main document, which should follow the main text and precede the references. If there are no relevant conflicts of interest to disclose, authors should indicate as such in the Acknowledgments section.

In the case of **multicenter studies**, authors should provide a list of participating investigators in an appendix to the paper. Papers will not be reviewed if this information is not included.

Where appropriate, **clinical and epidemiological studies** should be analyzed to see if there is an effect of sex or ethnicity. If there is no effect, it should be stated as such in the “Results” section.

Randomized Clinical Trial reporting: Authors of reports on randomized controlled trials are required to use the instructions and checklist in the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) Statement. The instructions and checklist are designed to ensure that information pertinent to the trial is included in the study report. CONSORT information may be included in a supplemental online-only file so that it does not affect word count limitations.

All **clinical trials** submitted to *Diabetes Care* for consideration of publication must be registered with a clinical trial registry approved by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). Please see Section 2.5 for more information.

5.2. Novel Communications in Diabetes. Novel Communications in Diabetes are designed to provide new and exciting findings in clinical research or clinical care in one or more of the following areas:

- the feasibility of a "proof of concept" principle or idea
 - a novel or innovative finding considered as a pilot study when planning for a larger trial
 - results from early phase human investigation from a small number of subjects including "first in man" studies
 - new technical advances (i.e., early research on artificial pancreas, glucose monitoring) or advances in diagnostic testing
 - studies defining a novel molecular target
 - studies that challenge current thinking for clinical management or novel approach to behavioral management
 - case report/case studies that represent a unique or novel finding on disease presentation or treatment effects
- Novel Communications are not intended to be short reports on studies that are not powered for larger trials or to simply confirm findings from other studies.

A **structured abstract** of no more than 150 words is required. The abstract must be self-contained and concise, without reference citations, and written for a general journal readership. The abstract should be followed by a short introduction (two to three sentences) and four concise sections: Research Design and Methods, Results, Conclusions, and References. **References** are limited to no more than 15. In addition, Novel Communications may contain only one table or one figure.

The format of the title page, margins, text, table, figure, and font size for Novel Communications is the same as for Original Articles. Manuscripts should be double spaced, written in Arial or Times New Roman 12 point font, and saved as a .doc, .txt, or .rtf file. See Sections 6.2 and 6.3 of Manuscript Format and Style.

The **word count limit** for Novel Communications is 1,350 words, including the 150 word abstract. Tables, figures, legends, the title page, acknowledgments, and references are not included in the word count.

Novel Communications in Diabetes are freely accessible to readers upon publishing.

5.3. Letters. All Letters are published only in the online version of *Diabetes Care*. Letters are listed in the table of contents of the print version and are assigned an "E" page number. Each letter is assigned a unique DOI (digital object identifier); when citing a letter, include the DOI (e.g., 10.2337/dcXX-XXXX).

Letters do not have abstracts, should not exceed 500 words (excluding a maximum of 5 references). As with all submissions, letters should be double-spaced and include a title page.

Diabetes Care accepts three types of letters:

Comment Letters comment on a recently published article and should include the cited paper as reference 1 in the reference list. It should be submitted within 3 months of the article's printed publication. Comment letters do not have tables or figures.

Response Letters are an invited letter from the cited author that replies to the comment letter and should include the comment letter as reference 1 in the reference list. Response letters do not have tables or figures.

Observation Letters comment on a relevant finding related to clinical care or research or present a case

report/case study. Observation letters are allowed either one table or one figure.

All letters require a signed Manuscript Submission Form from the author(s). A conflict-of-interest statement for all authors must be included in the Acknowledgments section of the main document. If there are no relevant conflicts of interest to disclose, authors should indicate as such in the Acknowledgments section.

All letters are freely accessible to readers upon publishing.

5.4. Commentaries. *Diabetes Care* publishes Commentaries by invitation only. Commentaries normally accompany an original article and are invited by the editors. Instructions will be provided at the time of solicitation. As with any submission, commentaries should include a title page and be double-spaced. A commentary is limited to 1,200 words and 25 references, and it should not include an abstract.

All commentaries require a signed Manuscript Submission Form from the author(s). A conflict-of-interest statement for all authors must be included in the Acknowledgments section of the main document. If there are no relevant conflicts of interest to disclose, authors should indicate as such in the Acknowledgments section.

5.5. Review Articles and Meta-analyses. Please read the criteria and formatting guidelines for meta-analyses and systematic review articles. While a meta-analysis may be submitted to the journal with prior approval from the editors, review articles are only published in *Diabetes Care* if they have been invited or approved by the editors prior to submission. If you would like to submit an uninvited review article, you must first submit a proposal to the editors.

The proposal should include: 1) a detailed outline of the content of the proposed review; 2) a general idea of the amount of original literature to be summarized; and 3) the background of the author(s) and a description of expertise in the area to be discussed in the review. It is anticipated that the author(s) will have worked and published in the area covered by the review. The author should also state why he/she feels this particular review is suited for *Diabetes Care* and why the review would appeal to the readership.

Lastly, the authors must disclose whether they propose to write the entire article themselves, whether they received any form of sponsorship or honorarium for the material, and whether a pharmaceutical company, or its representative, was involved in the funding or authorship. In addition, the authors must point out any potential conflict of interest with a company whose products will be discussed in the review.

All proposals should be submitted by e-mail (as Word document attachments) to Lyn Reynolds in the Editorial Office (lreynolds@diabetes.org). Review Articles submitted without prior approval or invitation will be returned. All Review Articles (whether invited or by query) are subject to peer review.

Once approved, Review Articles are limited to 5,000 words, 60 references, and an unstructured 250-word abstract.

5.6. Editorials. Editorials are accepted by invitation only from the Editorial Committee. As with all submissions, an editorial must include a title page and authors must provide a signed Manuscript Submission Form. The word limit for an Editorial is 1,500 words, not including references. Editorials normally do not contain figures or tables. A conflict-of-interest statement for all authors should be included at the end of the text or the Acknowledgments section, if one is included. Please label this section “Disclosure.” If the authors have no relevant conflict of interest to disclose, please indicate so in this section.

5.7. Perspectives. Perspectives highlight recent exciting research, not primarily that of the author(s), and may provide context for the findings within a field or explain potential interdisciplinary significance (similar to that of a Review Article). Invited Perspectives commenting on articles in *Diabetes Care* should add a dimension to the research and not merely be a summary of the experiments presented in the article. It can also be a critical review, which is more interpretational than a summary, and if justified by a strong rationale it can propose a novel hypothesis.

The format of a Perspective is similar to that of an Original Article. Perspectives may have a short **unstructured abstract**, which is recommended for Medline indexing.

The **Word limit** is 4,000 words (excluding the title page, acknowledgments, references, tables and figures, and table/figure legends). The main text should be double-spaced with 1" justified margins.

References are limited to no more than 50 and should be single spaced. References should not be included as endnotes but should be independent (that is, if the reference number in the text was to be deleted, the reference would not automatically disappear from the reference list).

The article can contain no more than a combination of 8 tables and/or figures. Tables must be included in the text after the reference list. Please use the "insert table" command in Word to create tables. (Do not use the tab or return key to create the table.) Each piece of data should appear in its own cell. Table titles and legends need to be above or below the table, not inside the table. Figures should be uploaded separately and in their original file format (that is, from the program they were created in and saved in the same format. Example: If a figure was created in Powerpoint, it must be saved as a .ppt file; if a figure was created in Adobe Illustrator, it must be saved as an .ai file).

If necessary, supporting documents/data not for publication can be uploaded to the submission site for review purposes. (When uploading, be sure each file is clearly labeled "supporting document/data.")

During the submission process, a box is provided for you to type a short note to the Editorial Office or Editor. If this is an invited article, please indicate it here. As with all submissions, invited articles are sent out for peer review, and the final decision is dependent on the comments of the reviewers.

5.8. Supplements. Supplements must be approved prior to submission. A proposal for a supplement should first be submitted to the Publications Department of the ADA (ckohler@diabetes.org) and must specify the following:

- The name of the organization(s) sponsoring and funding the supplement (not merely the name of the public relations agency handling its publication).
- If the supplement is based on a symposium, where and when the symposium was held and how the speakers and papers were selected.
- Whether authors will be paid and, if so, how much.

If the proposal is approved, it will be forwarded to the Editor of *Diabetes Care*. Initial approval by the ADA does not commit the Editor to accept a proposal in whole or part. All manuscripts are subject to the same peer review as other manuscripts in the journal.

For complete instructions on submitting a supplement, please contact the Editorial Office.

6. MANUSCRIPT FORMAT AND STYLE

Articles must be in clear and understandable English. Non-native English authors are encouraged to seek the assistance of an English-proficient colleague, or a communications agency, such as American Journal Experts, to help improve the clarity and readability of a paper before it is submitted to the journal.

For specific information on the parameters and limits for various manuscript categories (e.g., section headings, word limits, etc.), see section 5, Manuscript Categories.

6.1. Title Page. Every manuscript, regardless of article type, must have an accompanying title page. In addition to the title, the title page should include a short running title (less than 47 characters and spaces combined); the first name, middle initial, last name, and highest academic degree of each author; affiliation (in English) of each author during the time the study was conducted; name, current address, telephone number, fax number, and e-mail address of the corresponding author; and the word count and number of tables and figures.

6.2. Main Document. The main document file includes the title page, abstract, main text, acknowledgements, figure legends, references, and tables. Please do not use headers, footers, or endnotes in your paper.

The Main Document should be in Word document format (not as a PDF). This will allow our Editorial Office to verify the word count and our production staff to turn your paper (if accepted) into an article.

6.3. Text Composition. Articles should be written in clear, concise English following the recommendations for scientific writing found in *Scientific Style and Format*, the Council of Science Editors (CSE) style manual (7th ed., 2006, Reston, VA, Council of Science Editors). All accepted manuscripts will be edited according to the CSE style manual and *The Chicago Manual of Style* (16th ed., 2010, Chicago, IL, The University of Chicago Press) by ADA professional publications staff. The authors are responsible for all statements made in their articles or editorials, including any editing changes made by staff. Proof pages will be sent to the corresponding author and should be read carefully.

The designations *type 1 diabetes* and *type 2 diabetes* should be used when referring to the two major forms of diabetes. Abbreviations for diabetes, such as T2D for *type 2 diabetes*, should not be used. The term *diabetic* should not be used as a noun.

All manuscripts should be double-spaced, in Arial or Times New Roman 12-point font, and saved as a .doc, .txt, or .rtf file. In addition, please do not "lock" or "page protect" your document, and avoid using footnote and endnote functions.

6.4. Abbreviations and Units. Abbreviations should be used only when necessary, e.g., for long chemical names (HEPES), procedures (ELISA), or terms used throughout the article. See the list of abbreviations that need not be defined; all others must be defined at first use. Abbreviate units of measure only when used with numbers. Abbreviations may be used in tables and figures. The CSE style manual contains lists of standard scientific abbreviations.

Clinical laboratory values and units should be in Système International (SI) form. Kilocalories should be used rather than kilojoules.

HbA1c values should be dually reported as “% (mmol/mol).” Please use the NGSP’s HbA1c converter at <http://www.ngsp.org/convert1.asp> to calculate HbA1c values as both % and mmol/mol.

6.5. Font. Text, including title and author names, should be in 12-point Arial or Times New Roman. Please avoid using boldface font. Text in tables should be no smaller than 10-point font.

6.6. Margins. Margins should be 1" at the top and bottom and 1" on the left and right sides.

6.7. Acknowledgments. The acknowledgments are located after the main text and before the reference list. Acknowledgments should contain the author contributions paragraph, brief statements of assistance, the guarantor's name (person[s] taking responsibility for the contents of the article), funding/financial support, and reference to prior publication of the study in abstract form, where applicable.

6.8. References. The reference list should go at the end of the document, after the main text and acknowledgments (if applicable) and before the tables. Original Articles are limited to 40 references. Letters are allowed 5 references. Review Articles are allowed 60 references, and meta-analyses should have no more than 40 references.

Reference numbers in the text should appear in chronological order in normal type and in parentheses [e.g., “In the study by Norton et al. (23)...”]. Please do not use the footnote or endnote function to cite studies or create a reference list. A reference manager must have the ability to customize the display of references. For example, the reference application should have the option to list the references at the end of the paper, as opposed to listing the references as endnotes or footnotes at the bottom of each page, and should not embed the list in the text as a series of endnotes/footnotes. When using a reference manager (e.g., Thomson's EndNote Reference Program), don't forget to generate the list as a bibliography in a style suitable to *Diabetes Care*, and then save and submit as the final step to creating the references. Otherwise, references should be manually inserted.

All authors must be listed by first initials and last name in each reference, and please provide inclusive page numbers. Journal titles should be abbreviated according to the National Library of Medicine’s List of Journals Indexed for Medline; for unlisted journals, please provide complete journal titles. Material in press may be cited, but copies of such material may be requested. Authors are responsible for the accuracy of the references. Click [here](#) for examples of how references should be formatted.

6.9. Supplemental Data. Non-essential tables and figures may accompany articles as online-only supplemental files, but authors are asked to include a comment to the editor at the time of manuscript submission that explains the rationale and justification for submitting and possibly posting the supplemental materials.

All online-only supplementary files should be combined in one document file (whenever possible) and uploaded separately during the submission process. This file must be clearly labeled as **“Online-Only Supplemental Material.”** In addition, supplemental online-only files must be referenced in the main text of the manuscript at least once (e.g., “Supplemental Table S1”).

All online-only supplemental files are subject to review, but such files will not be copyedited or proofread by ADA production staff. As such, authors are encouraged to review their supplemental files carefully before submitting them.

Lists that include names of **principal investigators or writing groups** may also be submitted as online-only supplements if they exceed 150 words. Otherwise, the names of principal investigators or writing groups should be listed in an appendix at the end of the main document, before the references.

6.10. Tables. Each table should be inserted on a separate page at the end of the document with the table number, title, and legend indicated. Table legends should be inserted below the table and should not be included inside the table. Tables should be created using Word and the "Insert Table" command. Please use Arial or Times New Roman font, no smaller than 10-point. Tables with internal divisions are not allowed (Tables 1A and B) and should be submitted as individual tables (Tables 1 and 2). Please avoid using shading within a table. If a table includes data that require explanation in the legend, apply the following sequence of symbols, from top to bottom, left to right: *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, ††, ‡‡.

6.11. Figures. *Diabetes Care* uses digital publishing methods throughout the journal production process. If your article is accepted, it will be published in both the print and online journal. The following sections provide information on how to format your figures to ensure the best possible reproduction of your images.

Size. Figures should be produced at the size they are to appear in the printed journal. Please make sure your figures will fit in one, two, or three columns in width. Multi-paneled figures should be assembled in a layout that leaves the least amount of blank space.

1 column = 13 picas wide, 2.2 in, 5.6 cm^[1]_{SEP} 2 columns = 28 picas wide, 4.6 in, 11.7 cm^[1]_{SEP} 3 columns = 41 picas, 6.8 in, 17.3 cm

Font. At 100% size, fonts should be 8-10 points and used consistently throughout all figures.

Text. Information on the axes should be succinct, using abbreviations where possible, and the label on the y-axis should read vertically, not horizontally. Key information should be placed in any available white space **within** the figure; if space is not available, the information should be placed in the legend. In general, figures with multiple parts should be marked A, B, C, etc., with a description of each panel included in the legend rather than on the figure.

Line and bar graphs. Lines in graphs should be bold enough to be easily read after reduction, as should all symbols used in the figure. Data points are best marked with the following symbols, again assuring that they will

be readily distinguishable after reduction: ○ ● □ ■ △ ▲. In the figure legend, please use words rather than the symbols; e.g., "black circles = group 1; white squares = group 2; black bars = blood glucose; white bars = C-peptide." Bars should be black or white only, unless more than two datasets are being presented; additional bars should be drawn with clear bold hatch marks or stripes, **not** shades of gray.

Line or bar graphs or flow charts with text should be created in black and white, **not** shades of gray, which are difficult to reproduce in even tones.

Formatting digital figures files for print and online reproduction. To meet ADA's quality standards for

publication, it is important to submit digital art that conforms to the appropriate resolution, size, color mode, and file format. Doing so will help to avoid delays in publication and maximize the quality of images, both online and in print. Please refer to ADA's Digital Art Guidelines when preparing your files. If you are unable to provide files that meet the specifications outlined in the Guidelines, you may submit your original source files (files from the program in which they were originally created).

Reproductions. If materials (e.g., figures and/or tables) are taken from other sources, the author must provide written permission for reproduction from the original publisher and author at the time of submission. In addition, the source should be cited at the end of the figure legend. For more information, refer to Permissions: Help for Authors.

Digital image manipulation. The American Diabetes Association has adopted the statement developed by the *Journal of Cell Biology* as its policy on the manipulation of digital images:

"No specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. The grouping of images from different parts of the same gel, or from different gels, fields, or exposures must be made explicit by the arrangement of the figure (i.e., using dividing lines) and in the text of the figure legend. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if they are applied to the whole image and as long as they do not obscure, eliminate, or misrepresent any information present in the original, including backgrounds. Without any background information, it is not possible to see exactly how much of the original gel is actually shown. Non-linear adjustments (e.g., changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend."

All digital images in manuscripts accepted for publication will be scanned using image forensics software for any indication of improper manipulation. Cases of questionable or inappropriate image alterations will be referred to the Association's Subcommittee on Ethical Scientific Publications (ESP). The ESP may request the original data from the authors for comparison to the prepared figures. If the authors fail to provide the original data, the acceptance of the manuscript will be revoked. Cases of deliberate misrepresentation of data will result in revocation of acceptance, and will be reported to the corresponding author's home institution and/or funding agency as appropriate.

For examples of what constitutes improper digital manipulation (as well as other forms of scientific misconduct), ADA encourages authors to refer to the 2006 editorial by the *Journal of Clinical Investigation* titled "Stop Misbehaving!" In addition, authors are encouraged to refer to Adobe's white paper on using Photoshop CS3 Extended in biomedical imaging. The paper provides useful information on maintaining image integrity, editing nondestructively, and the medical and scientific image workflow.

7. SUBMITTING A MANUSCRIPT

Please read the complete instructions for authors before submitting your manuscript to *Diabetes Care* via <http://mc.manuscriptcentral.com/diabetescare>.

Your manuscript should be submitted under the user account of the designated **corresponding author** (the contact person listed on the title page of the manuscript). If the corresponding author does not have a user account, please follow the instructions on the submission site.

In the File Upload Center, you will be able to browse your computer for the files associated with your manuscript. When you upload each file, be sure to choose a designation from a pull-down menu that describes the file content (e.g., "Main Document," "Figure," "Table," etc.). In addition, please make sure each file name clearly describes its content (e.g., "figure1.jpg," "table2.doc," "coverletter.doc," etc.).

The system automatically converts files to PDF files. Please do not upload PDF files except for signed Manuscript Submission Forms. Also, please do not upload zip or PowerPoint files.

Instructions for submitting a revised manuscript are included in the initial decision letter. Revisions must meet all formatting requirements and word limits; no exceptions will be made. In addition, all signed manuscript forms must be faxed to the Editorial Office by the time the revision is submitted. If complete forms have not been received, it is likely that the revision will be unsubmitted. Receipt of forms may be verified by contacting Joan

Garrett (jgarrett@diabetes.org).

When submitting a revision, click “create a revision” in your “Author Center” on <http://mc.manuscriptcentral.com/diabetescare>. This will allow the paper to be submitted using the same manuscript number as the original submission. When revising your manuscript, please show corrections by using track changes. Be sure to respond to all reviewer comments on the original submission.

Please include the latest set of files with your revision(s), including the most recent set of all table and figure files. Once your text and image files are uploaded, please view these files to ensure they appear legibly and that all special characters have translated properly. Do not click "Submit Manuscript" until you are satisfied with the quality of the proofs. If you are having trouble uploading files, please contact the Editorial Office for guidance.

8. ACCEPTED MANUSCRIPTS

To make new research readily available to subscribers, *Diabetes Care* publishes original research articles online ahead of print. For detailed information on publish-ahead-of-print articles, see Section 2.2 of Policies.

The designated corresponding author will receive notification of availability of page proofs by e-mail. Corrections should be returned to the Editorial Manager (see contact info below) by fax or e-mail within 24 hours of receipt of the proof. Failure to do so may delay the publication of the article.

Correspondence concerning the copyediting and proofreading of accepted manuscripts should be addressed to Valentina Such, Editorial Manager, *Diabetes Care*, American Diabetes Association, 1701 North Beauregard St., Alexandria, VA 22311; tel: 703-299-2083; fax: 703-253-4870; e-mail: vsuch@diabetes.org.

Correspondence concerning the production of accepted articles and availability of page proofs should be addressed to Amy Gavin, Production Manager, American Diabetes Association, 1701 North Beauregard St., Alexandria, VA 22311; tel: 703-299-2033; fax 703-253-4870; e-mail: agavin@diabetes.org.

9. FINANCIAL OBLIGATIONS

Page charges are assessed for non-invited articles to help defray the costs of publication. The charge is \$90 per page. In addition, each color figure printed will incur a charge of \$475. Color fees are based on individual figures as a whole, not by the part, i.e., A, B, C, etc. Authors will receive an invoice for publication fees, as well as a reprint order form, when page proofs become available. Unless otherwise indicated, it is assumed that the corresponding author takes responsibility for payment.