

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Centro de Ciência da Saúde
Faculdade de Odontologia

Rafaela de Oliveira Torres

**CONDIÇÕES BUCAIS E METABÓLITOS SALIVARES DE PACIENTES COM
MUCOPOLISSACARIDOSE**

Rio de Janeiro
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Centro de Ciência da Saúde
Faculdade de Odontologia

Rafaela de Oliveira Torres

**CONDIÇÕES BUCAIS E METABÓLITOS SALIVARES DE PACIENTES COM
MUCOPOLISSACARIDOSE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria).

Orientadores:

Prof.^a Dra.^a Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Prof.^a Titular da Faculdade de Odontologia da UFRJ

Prof.^a Dra.^a Liana Bastos Freitas-Fernandes

Pós-doc Departamento de Odontopediatria PNPd-CAPES/2018

Rio de Janeiro
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Torres, Rafaela de Oliveira

Condições bucais e metabólitos salivares de pacientes com mucopolissacaridose / Rafaela de Oliveira Torres. - Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Odontologia, 2018.

77 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Ivete Pomarico Ribeiro de Souza e Liana Bastos Freitas-Fernandes

Dissertação (mestrado) – UFRJ, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia, 2018.

Referências bibliográficas: f. 61-65.

1. Mucopolissacaridose. 2. Manifestações bucais. 3. Saliva. 4. Metabolômica. 5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. 6. Odontologia - Tese. I. de Souza, Ivete Pomarico Ribeiro. II. Freitas-Fernandes, Liana Bastos. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-graduação em Odontologia. IV. Título.

DEDICO

Aos meus pais, Giani e Julio

Desde pequena sempre me incentivaram a estudar e correr atrás dos meus maiores sonhos, mesmo que envolvesse sacrifícios. Sempre presentes e apoiando nos momentos mais decisivos da minha jornada acadêmica. Não existem palavras que possam traduzir o sentimento de gratidão e amor que sinto por vocês. Obrigada por sempre me apoiarem, me incentivarem e sacrificarem todos esses anos que não pudemos passar todos os dias juntos. Vocês se sacrificaram, se dedicaram, abdicaram de tempo e de muitos projetos pessoais para que eu tivesse a oportunidade de estudar e de ter uma boa formação profissional, mas também pessoal. Eu devo tudo que sou a vocês, e se sinto orgulho de mim e do lugar aonde cheguei, é porque sei que vocês vieram segurando a minha mão. Todo esse esforço passado tem apenas uma justificativa: orgulhar vocês! Obrigada Deus por ter me enviado pais tão maravilhosos pra mim.

Sabe, se eu tivesse que escolher para vir ainda ao mundo, pediria a Deus, como desejo profundo, para que vocês fossem meus pais mais uma vez.

(Letícia Thompson)

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu querido namorado, Victor Luiz e sua família.

Obrigada pela parceria, amizade e o amor que temos um pelo outro. Obrigada por sempre estar ao meu lado, me apoiando nas minhas escolhas e ajudando sempre que precisei de uma palavra de conforto ou apenas um abraço. Graças a você, ganhei uma segunda família que amo muito, sempre me acolheu tão bem e que torce muito por mim, sem palavras pra agradecer o carinho de sua mãe, **Beth** e sua doce avó **Dona Zilda**. Amo vocês!

Às minhas orientadoras,

Profa. Dra. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Só quem tem a oportunidade de trabalhar com a senhora, sabe que é um privilégio. Um exemplo de profissional, dedicada, sempre disposta a me ajudar e ensinar. Sou grata pela oportunidade que me deu quando ainda eu era aluna de graduação nesta universidade. Foi a senhora que abriu as portas da Odontopediatria pra mim e fez com que eu me encantasse por esta profissão. Serei eternamente grata por todos os ensinamentos e foi um prazer tê-la como orientadora. Muito obrigada!

Prof. Dra. Liana Bastos Freitas-Fernandes

Muito obrigada por todo o apoio, ajuda e carinho comigo durante meu mestrado. Sempre com uma ideia nova, nosso trabalho foi se enriquecendo e eu aprendendo cada vez mais.

Às minhas coautoras,

Profa. Dra. Andréa Vaz Braga Pintor

Não existem palavras que possam expressar minha gratidão por você. Muito obrigada por toda a ajuda durante o curso da minha tese e todos os ensinamentos que tive o prazer de aprender com você. Rimos e trabalhamos muito, foi um prazer à convivência contigo. Muito obrigada por tudo!

Profa. Dra. Ana Paula Canedo Valente

Agradeço a oportunidade de aprender um pouco sobre bioquímica médica e de frequentar o laboratório de RMN. Muito obrigada por me aceitar em seu laboratório e compartilhar seus grandiosos conhecimentos nesta área. Foi um prazer conhece-la e poder trabalhar com a senhora.

Prof. Dra. Tatiana Kelly da Silva Fidalgo

Muito obrigada por toda a ajuda e pelos ensinamentos sobre RMN. Obrigada por ser tão doce comigo.

Aos meus queridos pacientes e seus responsáveis

Sem vocês esse trabalho não existiria. Muito obrigada por confiarem em mim, no meu trabalho e terem participado. Esse trabalho foi feito por vocês e para vocês, mas quem saiu ganhando após esses anos de convivência fui eu. Obrigada por me ensinarem a mesmo passando por situações difíceis e dolorosas, manterem a esperança e o sorriso no rosto. Serei eternamente grata!

As médicas,

Dra. Márcia Ribeiro e Dra. Dafne muito obrigada pelos ensinamentos na área de genética médica e por toda a ajuda prestada.

Ao aluno de iniciação científica, Pedro.

Muito obrigada por todo carinho que teve comigo e pela ajuda no laboratório. Adorei poder trabalhar com você. Obrigada por levar nossos trabalhos sobre MPS aos congressos com tanta dedicação e profissionalismo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus amigos do mestrado: **Ana Lúcia, Hiorran, Julio, Jéssica, Karla, Patrícia, Stefânia e Thayse**. Obrigada pela prazerosa convivência e pelas risadas. Cada um com seu jeitinho, me cativaram de uma forma diferente. Vocês foram muito especiais, estarão sempre em minhas lembranças.

Aos queridos **mestrandos e doutorandos**, obrigada pela convivência diária e todo o sucesso do mundo a vocês! A querida técnica de laboratório, **Amanda Monteiro**, obrigada pelas conversas e momentos descontraídos.

Aos queridos alunos da **especialização**. Foi uma honra ser supervisora da clínica de pacientes especiais. Obrigada por permitirem que compartilhasse com vocês um pouquinho dos meus conhecimentos. Amei ter estado com vocês durante todo o curso.

Aos Professores: **Aline Neves, Andréa Gonçalves, Glória Castro, Luciana Pomarico, Laura Primo, Lucianne Cople Maia, Marcelo Costa, João Farinha e Rogério Gleiser**. Muito obrigada pelos ensinamentos compartilhados conosco durante as clínicas e aulas teóricas.

As queridas **Andréa, Kátia e Mere**, obrigada pela amizade, profissionalismo, disponibilidade em nos ajudar, alegria e maravilhosos momentos vividos juntos. As meninas, **Bebel e Rose**, obrigada pela ajuda, carinho e calma nos momentos de loucura na recepção. Aos funcionários, **Robson, João, Luiza e Kátia**, obrigada pelo carinho comigo e pelo profissionalismo

A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

TORRES, Rafaela de Oliveira **Condições bucais e metabólitos salivares de pacientes com mucopolissacaridose**. Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Mucopolissacaridose (MPS) é uma doença genética hereditária causada pela deficiência de enzimas lisossômicas que afetam o catabolismo de glicosaminoglicanos, acarretando seu acúmulo em diferentes órgãos e tecidos causando alterações sistêmicas e bucais. O objetivo do estudo foi avaliar e descrever as manifestações bucais e caracterizar os metabólitos salivares de pacientes com MPS e através de relatos de caso investigar as manifestações presentes em pacientes com MPS-II com diferentes tempos de diagnóstico e tratamento. Foram selecionados pacientes de dois Centros de Referência em MPS no Rio de Janeiro (Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira e Instituto Fernandes Figueira) os quais foram atendidos na Faculdade de Odontologia – UFRJ. Treze pacientes portadores de MPS dos tipos I, II, IV e VI foram avaliados quanto às manifestações bucais (tecidos moles, relação oclusal, exame periodontal e dental). Amostras salivares foram coletadas de um paciente de cada tipo de MPS e de um paciente saudável para caracterização dos metabólitos salivares usando espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. Os dados foram analisados descritivamente (SPSS 23.0) e empregados os testes Fisher e Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). A amostra foi composta por 3 pacientes MPS-I, 5 MPS-II, 1 MPS-IV e 4 MPS-VI, 4 do sexo feminino e 9 masculino, com idades variando de 2-38 anos. A média de ceo-d/CPO-D variou entre 0-5 e a macroglossia foi a manifestação mais prevalente (61,5%) especialmente no tipo II ($p = 0,019$). O índice de sangramento gengival variou entre os tipos de MPS ($p = 0,038$), maior em pacientes do tipo II. O transpasse horizontal acentuado foi mais prevalente no tipo IV ($p = 0,005$). Foram observadas diferenças nos metabólitos salivares entre os tipos de MPS em relação ao paciente saudável. As manifestações bucais e craniofaciais de pacientes com MPS tipo II com diferentes tempos de diagnóstico e tratamentos foram descritas em dois relatos de casos. Um paciente, gênero masculino, 7 anos de idade com diagnóstico intrauterino recebeu transplante de células-tronco hematopoiéticas aos 70 dias de vida. As principais manifestações bucais e radiográficas foram: macroglossia, mordida cruzada posterior, apinhamento, atraso na erupção, retenção de dentes decíduos, hipoplasia de esmalte, dentes posteriores com raízes curtas e alongamento dos processos estilóides bilateralmente. No segundo relato de caso dois pacientes portadores de MPS-II com diagnóstico tardio apresentaram manifestações craniofaciais e bucais acentuadas, reveladas através do exame tomográfico e avaliação da simetria através da sobreposição de imagens em 3D. Foram observados nesses pacientes: mordida aberta total, arcos dentários expandidos, severa hipoplasia condilar, processos coronóides aumentados além de macroglossia e maloclusão do tipo classe III. Pode-se concluir que a macroglossia e o transpasse horizontal acentuado foram associados respectivamente aos tipos de MPS II e VI. Há evidências da importância do diagnóstico/tratamento precoce na redução das manifestações craniofaciais em paciente com MPS-II. Diferenças nos metabólitos salivares de baixo peso molecular entre paciente saudável e portadores de MPS podem ser promissoras no entendimento da doença.

Palavras chave: mucopolissacaridoses, manifestações bucais, saliva, metabólica, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

ABSTRACT

TORRES, Rafaela de Oliveira. **Condições bucais e metabólitos salivares de pacientes com mucopolissacaridose.** Rio de Janeiro, 2018. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Mucopolysaccharidosis (MPS) is a hereditary genetic disease caused by the deficiency of lysosomal enzymes that affect the catabolism of glycosaminoglycans, causing their accumulation in different organs and tissues causing systemic and oral alterations. The objective of the study was to evaluate and describe oral manifestations and to characterize the salivary metabolites of patients with MPS and through case reports we also investigate the manifestations present in patients with MPS-II with different moments of diagnosis and treatment. Patients were selected from two MPS Reference Centers in Rio de Janeiro (Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira and Instituto Fernandes Figueira), which were attended at the Faculty of Dentistry - UFRJ. Thirteen patients with MPS types I, II, IV and VI were described of oral manifestations (soft tissue, occlusal relationship, periodontal and dental examination). Salivary samples were collected from one patient of each type of MPS as well as healthy ones to characterize the salivary metabolites using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. The data were analyzed descriptively (SPSS 23.0) and the Fisher and Kruskal-Wallis tests were used ($p < 0.05$). The sample consisted of 3 MPS-I, 5 MPS-II, 1 MPS IV and 4 MPS-VI, 4 females and 9 males, with ages varying from 2-38 years. Mean of dmft / DMFT varied between 0-5 and macroglossia was the most prevalent manifestation (61.5%), especially type II ($p = 0.019$). The gingival bleeding index varied among MPS types ($p = 0.038$), higher in type II patients. The accentuated horizontal transpiration was more prevalent in type IV ($p = 0.005$). Differences were observed in salivary metabolites between MPS types in relation to the healthy patient. The oral and craniofacial manifestations of patients with MPS type II with different moments of diagnosis and in addition the treatment were described in two case reports. A 7-year-old male patient with intrauterine diagnosis received hematopoietic stem cell transplantation at 70 days of age. The main oral and radiographic manifestations were: macroglossia, posterior crossbite, crowding, delayed eruption, retention of deciduous teeth, enamel hypoplasia, posterior teeth with short roots and stretching of styloid processes bilaterally. In the second case report, two patients with MPS-II with late diagnosis showed marked craniofacial and buccal manifestations revealed by tomographic examination and evaluation of symmetry through the overlapping of 3D images. These patients were: total open bite, expanded dental arches, severe condylar hypoplasia, increased coronoid processes in addition to macroglossia and class III malocclusion. We concluded that the macroglossia and the accentuated horizontal transpiration were associated respectively with the MPS II and VI types. The importance of early diagnosis / treatment in the reduction of craniofacial manifestations in patients with MPS-II has been demonstrated. Differences in low molecular weight salivary metabolites between healthy and MPS patients may be promising on understanding this disease.

Keywords: mucopolysaccharidoses, oral manifestations, saliva, metabolomics, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1

Figure 1: Intra oral view from 3 patients with MPS: a,b) type VI and c) type II. The patients showing some manifestations of MPS: malocclusion, anterior open bite and dental calculus.39

Figure 2: Representative¹H NMR saliva spectra differences among groups. a) saliva sample from health patient, b) patient with MPS type I, c) patient with MPS type II, d) patient with MPS type IV and e) patient with MPS type VI. Resonance assignments of specific metabolites are identified.40

Artigo 2

Figure 1: Facial characteristics and hands view of the MPS II patient, not showing the typical coarse face or claw like hands.45

Figure 2: Intra-oral view: a) frontal view, b) upper view, c) lower view.46

Figure 3: Radiographic and tomographic (using the Kodak 9500 device with the following acquisition parameters: 90 kVp, 10 mA, 10.3 sec exposure time, 0.3 mm voxel and 18.4 cm x 20.6 cm FOV (field of view)): a) panoramic radiography, b, c) right and left interproximal radiographies, d,e) Tomography lateral view showing right and left measurement of stylohyoid processes.46

Artigo 3

Figure 1: Facial characteristics of the MPS II patients: a) patient 1, b) patient 2...57

Figure 2: Intra-oral view: a) frontal view of patient 1, b) frontal view of patient 2...57

Figure 3: 3D surface models obtained from the CBCT of the 2 patients with MPS; a) patient 1 and b) patient 257

Figure 4: 3D voxel based registration of patient 2 used for image analysis: yellow, original 3D surface model; blue, mirrored 3D surface model; a) cranial base superimposition; b) mandibular superimposition.....58

Figure 5: a) 3D reconstruction of patient 1 with MPS-II; b) 3D reconstruction the mandible of normal patient; c,d) 3D overlapping (best fit superimposition) of two mandibles with similar lengths: MD from a healthy patient (green) and from patient 1 with MPS (yellow).....58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação das mucopolissacaridoses.....17

Artigo 1

Table 1: Clinical and demographic characterization of the patients with MPS. 41

Table 2: Distribution of variables sample (n=12)*, association (X^2 and Kruskal-Wallis) and correlation (Spearman and Pearson) of each investigated according with the MPS type ($p < 0.05$). 42

Artigo 2

Table 1: The main clinical oral and craniofacial manifestations of MPS patients. 45

LISTA DE ABREVIATURAS

CPOD	Dentes Cariados, Perdidos, Obturados
CNRMN	Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas
CCS	Centro de Ciências da Saúde
dmft	Decayed, Missed, Filled, Teeth
DSS	4-4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic acid
D ₂ O	Deuterium oxide
FO	Faculdade de Odontologia
GAGs	Glicosaminoglicanos
IFF	Instituto Fernandes Figueira
IPPMG	Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira
MPS	Mucopolissacaridose
MPS I	Mucopolissacaridose Tipo I
MPS II	Mucopolissacaridose Tipo II
MPS III	Mucopolissacaridose Tipo III
MPS IV	Mucopolissacaridose Tipo IV
MPS VI	Mucopolissacaridose Tipo VI
MPS VII	Mucopolissacaridose Tipo VII
MPS IX	Mucopolissacaridose Tipo IX
N-AC	N-Acetylcysteine
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TA	Termo de Assentimento
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMO	Transplante de Medula Óssea
TOCSY	¹ H- ¹ H total correlation
TRE	Terapia de Reposição Enzimática
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USA	United States of America
1D	1 dimensão
2D	2 dimensões

3D 3 dimensões

LISTA DE SÍMBOLOS

/	Barra
°	Graus
°C	Graus Celsius
=	Igual
±	Mais ou menos
®	Marca Registrada
μ	Micro
mL	Mililitro
<	Menor que
-	Menos
.	Ponto
%	Porcento
P	p valor
pH	Potencial Hidrogeniônico

Sumário

1 INTRODUÇÃO	17
2 PROPOSIÇÃO	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 DELINEAMENTO DA PESQUISA	21
3.1 Desenho do Estudo	21
3.2 Local do Estudo	21
3.3 Seleção da Amostra	22
3.3.1 Critérios de inclusão	22
3.3.2 Critérios de exclusão	23
3.4 Coleta de Dados	23
3.5 Coleta Salivar.....	24
3.7 Processamento e Armazenamento das Amostras Salivares	25
3.8 Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	26
3.9 Análise Estatística	26
4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA.....	27
4.1 Artigo 1: Oral manifestations and salivary metabolites in patients with mucopolysaccharidosis.....	27
4.2 Artigo 2: Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report	27
4.3 Artigo 3: 3D dental and craniofacial manifestations in patients with late diagnosis of mucopolysaccharidosis type II: cases report	27
4.1 Artigo 1:.....	28
4.2 Artigo 2:.....	44
4.3 Artigo 3:.....	48
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
6 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXO 1	67
APÊNDICE 1	68

1 INTRODUÇÃO

As mucopolissacaridoses (MPS) são um grupo de doenças de depósito lisossômico causadas por defeitos genéticos que resultam na ausência ou deficiência grave de hidrolases responsáveis pela degradação de glicosaminoglicanos (GAGs), resultando em seu acúmulo no interior dos lisossomos (GUVEN ET AL., 2008; LEHMAN ET AL., 2011; SARMENTO ET AL., 2015). Existem sete tipos diferentes de MPS (I, II, III, IV, VI, VII e IX), contribuindo para uma grande variação nas apresentações clínicas (Tabela 1). É considerada uma doença autossômica recessiva, com exceção do tipo II, que se encontra ligado ao cromossomo X. (BACH ET AL., 1973; SARMENTO ET AL., 2015). A prevalência mundial de acometimento gira em torno de 1,9 a 4,5/100.000 nascidos vivos (BAEHNER ET AL., 2005; NELSON ET AL., 2003; SARMENTO ET AL., 2015; VIEIRA ET AL., 2008).

Tabela 1: Classificação das mucopolissacaridoses.

Tipo de MPS	Epônimo	Enzima com atividade deficiente
I	Hurler, Hurler-Scheie, Scheie	α -L-iduronidase
II	Hunter	Iduronato-sulfatase
IIIA	Sanfilippo A	Sulfamidase
IIIB	Sanfilippo B	α -N-acetilglicosaminidase
IIIC	Sanfilippo C	Acetil-Coa; α -glicosaminidase acetiltransferase
IIID	Sanfilippo D	N-acetilglicosamina 6-sulfatase
IVA	Morquio A	N-acetil-galactosamina 6-sulfatase (galactose-6-sulfatase)
IVB	Morquio B	β -galactosidase
VI	Maroteaux Lamy	N-acetilgalactosamina 4 – sulfatase (arilsulfatase B)
VII	Sly	β -glicuronidase
IX	Natowicz	Hialuronidase

Fonte: LEHMAN ET AL., 2011

O curso da doença é descrito como crônico, progressivo e multissistêmico afetando os sistemas: cardiovascular, respiratório e neurológico. O paciente pode apresentar as seguintes manifestações: opacificação de córnea, problemas

auditivos, hepatoesplenomegalia, hipertensão, atraso do desenvolvimento psicomotor, face grosseira e alterações osteomioarticulares (VIEIRA ET AL., 2008; CHO ET AL., 2014; GIUGLIANI ET AL., 2015).

Quanto às manifestações bucais, tem sido descritas as seguintes alterações: retenção prolongada de dentes decíduos, dentes impactados, microdontia, macroglossia, giroversão, diastemas, mordida aberta, mordida cruzada, constrição maxilar, côndilos hipoplásicos, ramo mandibular curto e fossa articular irregular, taurodontismo, cistos e hiperplasia gengival (ANTUNES ET AL., 2013; KANTAPUTRA ET AL., 2014; SARMENTO ET AL., 2015). GUVEN (2008) relatam redução dos túbulos dentinários, defeito na junção amelo-dentinária contendo micro espaços e prismas de esmalte localizados irregularmente ().

O tratamento da MPS inclui a terapia de reposição enzimática (TRE) ou transplante de medula óssea (TMO) (TRAN ET AL., 2016). A terapia TRE pode efetivamente melhorar o curso clínico dos pacientes com MPS, reduzindo as complicações relacionadas ao tratamento. No entanto, o TRE não pode atravessar a barreira hematoencefálica e, portanto, não pode melhorar os sintomas neurológicos. Além disso, a TRE tem limitações e é um tratamento contínuo, o que aumenta seu custo (GIUGLIANI ET AL., 2015). O TMO substitui as células de linhagem hematopoiética endógena por células exógenas transplantadas de um doador saudável. Estas podem migrar através da barreira hematoencefálica e expressar enzimas lisossomiais para melhorar os sintomas neurológicos, tornando o TMO vantajoso em relação ao TRE. No entanto, existe uma possibilidade de mortalidade e morbidade relacionadas ao tratamento de TMO em pacientes com MPS e a observação de benefícios neurológicos reais ainda não é clara (WANG ET AL., 2016).

Nas MPS os GAGs parcialmente degradados serão armazenados nos lisossomos e posteriormente excretados na urina. Diante da suspeita da doença, exames de urina podem ser solicitados primeiramente. Testes qualitativos (cromatografia ou eletroforese), identificarão quais GAGs estão aumentados, direcionando a investigação para a realização de ensaios enzimáticos específicos. Diagnóstico definitivo do tipo de MPS é feito através da dosagem da atividade

enzimática específica em plasma, leucócitos ou fibroblastos (SCHWARTZ ET AL., 2001).

O diagnóstico das doenças metabólicas baseado em análise salivar está evoluindo e oferece uma estratégia clínica promissora, caracterizando a associação entre a composição salivar e a doença. O uso da identificação de metabólitos também pode ser uma ferramenta para melhor entender o desenvolvimento da doença e diferenciar indivíduos doentes de saudáveis (CASTAGNOLA ET AL., 2011; ZHANG ET AL., 2012).

Desta forma, métodos como a técnica analítica espectroscópica de ressonância magnética nuclear (RMN) têm sido empregados para identificar e quantificar, simultaneamente, uma ampla gama de compostos orgânicos de baixo peso molecular presentes na saliva. Os metabólitos salivares podem indicar o estado fisiológico ou patológico, e oferecem informações importantes para identificação de marcadores precoces ou diferenciais, ajudando a entender a ocorrência e a progressão de doenças como: cárie dentária, diabetes tipo I e doença renal (ZHANG ET AL., 2012; DE OLIVEIRA ET AL., 2016; ALMEIDA ET AL., 2017).

Até o momento, as manifestações observadas em cada tipo de classificação da MPS apresentam poucas informações, necessitando, portanto, maiores estudos para avaliação dos tecidos moles e duros. Não foram encontradas na literatura consultada informações sobre o perfil metabólico da saliva dos indivíduos portadores desta doença. É altamente relevante caracterizar estes componentes, visando futuras identificações das alterações salivares destes pacientes.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

- Caracterizar as condições bucais e os metabólitos da saliva total de participantes com mucopolissacaridose.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar as manifestações bucais e craniofaciais presentes.
- Comparar os metabólitos da saliva total de participantes com mucopolissacaridose com a saliva total de indivíduo sem evidências clínicas de doenças.
- Avaliar as manifestações bucais e craniofaciais de um paciente com MPS-II diagnosticado e tratado com transplante, após 70 dias do nascimento.
- Analisar as alterações craniofaciais em dois pacientes com MPS-II com diagnóstico tardio, utilizando a tomografia computadorizada em 3D. Comparar os achados com os encontrados em pacientes clinicamente saudáveis.

3 DELINHAMENTO DA PESQUISA

3.1 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo transversal exploratório, descritivo e analítico, visto que o exame clínico craniofacial e a saliva dos participantes foram obtidos em apenas um momento para análise. Também é um estudo laboratorial, considerando que foram realizadas análises bioquímicas da saliva. Foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF–UFRJ) e aprovado sob o protocolo nº 56788816.1.0000.5257 (Anexo 1).

3.2 Local do Estudo

Os dados foram obtidos dos pacientes de dois Centros de Referência para Diagnóstico e tratamento das MPS no Município do Rio de Janeiro:

- Ambulatório de Genética do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG/UFRJ);
- Ambulatório de Genética do Instituto Fernandes Figueira (IFF/FIOCRUZ);

Foram marcadas reuniões com as profissionais responsáveis pelos dois ambulatórios, onde foram apresentados os objetivos e a metodologia a serem utilizadas no estudo. As profissionais envolvidas foram receptivas a colaborar com o estudo.

O estudo foi realizado em dois locais de acordo com sua etapa de desenvolvimento:

- Clínica de Odontopediatria do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (FO/UFRJ) - Seleção de pacientes saudáveis e coleta de dados do paciente saudáveis e com MPS;

- Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas (CNRMN – CCS/UFRJ) - Análise das amostras salivares através de ressonância magnética nuclear.

3.3 Seleção da Amostra

Nos sistemas de informação não há registros disponíveis caracterizando a população acometida pela MPS, que faz parte de grupos de difícil localização e seleção de amostras. Por isso, é difícil a obtenção de uma amostra representativa de indivíduos com a doença na população geral. Assim, optou-se por uma amostra de conveniência do universo de pacientes com MPS atendidos nos locais previamente selecionados do Município do Rio de Janeiro.

Para compor a amostra do estudo foram convidados dois grupos formados por participantes com MPS (Grupo 1) e indivíduos clinicamente saudáveis (Grupo 2). O universo de pacientes com MPS dos dois centros de referência (IPPMG e IFF) que estão em acompanhamento é igual a 23. O Grupo 2 foi composto por indivíduos clinicamente saudáveis, em tratamento na Clínica de Odontopediatria da FO/UFRJ.

Os responsáveis e os participantes da pesquisa foram esclarecidos sobre o objetivo e a metodologia da pesquisa e, aqueles que aceitaram participar de forma voluntária da pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o Termo de Assentimento (TA), nos quais foi utilizada uma linguagem adequada evitando assim, quaisquer dúvidas (Apêndice 1).

3.3.1 Critérios de inclusão

A seleção dos participantes da amostra seguiu os seguintes critérios de inclusão:

Grupo 1:

- Pacientes com diagnóstico estabelecido de mucopolissacaridose de ambos os sexos e idades variando de 2 a 38 anos;

- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo responsável e Termo de Assentimento (TA) pelo participante, quando apto.

Grupo 2:

- Indivíduos sem evidência clínica de alteração sistêmica;
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo responsável e Termo de Assentimento pelo participante.

3.3.2 Critérios de exclusão**Grupo 1:**

- Pacientes debilitados;
- Ausência de assinatura do TCLE e Termo de Assentimento;
- Uso de aparelho ortodôntico

Grupo 2:

- Ausência de assinatura do TCLE e Termo de Assentimento;
- Uso de aparelho ortodôntico

3.4 Coleta de Dados

Foi realizada pelo pesquisador (ROT) entrevista na Clínica de Odontopediatria da FO com os responsáveis de ambos os grupos. As perguntas visaram coletar os seguintes dados: identificação, hábitos alimentares, hábitos de higiene bucal, história odontológica e nível socioeconômico das famílias (Apêndice 2).

Os prontuários médicos dos pacientes do Grupo 1 foram consultados com objetivo de colher informações clínicas e histórico médico dos mesmos (ocorrência de mucopolissacaridose na família, idade do diagnóstico da doença, reposição enzimática e ocorrência de complicações relacionadas à doença). Todas as informações foram registradas em formulário individual (Apêndice 2).

3.5 Coleta Salivar

Para a realização da coleta salivar foi solicitado aos participantes da pesquisa que fizessem um jejum de 1 hora previamente a coleta. Esta foi realizada na clínica de Odontopediatria, com o participante sentado de maneira confortável em um ângulo de 90°, em um ambiente refrigerado e iluminado. A coleta foi realizada com auxílio de um tubo do tipo Falcon, que foi entregue pela pesquisadora ao participante, onde o mesmo foi instruído a expectorar por 2 minutos no mesmo. A amostra salivar coletada foi colocada em um tubo do tipo *Eppendorf*® com a identificação do participante da amostra e acondicionado em isopor com gelo por, no máximo de 2 horas, até o processamento e armazenamento.

3.6 Exame intra-bucal

Feita a coleta salivar, a pesquisadora conduziu o exame intra-bucal utilizando espelho bucal e refletor de luz. Previamente foi realizada calibração (intra-examinador e intre-examinador). Em um formulário foram registradas as alterações em tecidos moles (WHO, 2013), índice de placa O'Leary (O'Leary, 1972) e periodontal (WHO, 2013), índice de cárie ceo-d/CPO-D (WHO, 2013), trauma dental (WHO, 2013) e anomalias dentárias (dente conoide, agenesia e outros). Concluído o exame intra-bucal, foi entregue aos responsáveis pelos participantes do estudo, um kit contendo escova dental e dentifrício fluoretado, além de instrução para higiene bucal adequada e individualizada (Apêndice 2).

Os dados relacionados à presença de problemas oclusais foram baseados nos seguintes critérios: classificação de Angle (Classe I, II e III) apinhamento dentário, giroversão, alterações de trespasse horizontal (normal, aumentado, diminuído e negativo), trespasse vertical (normal, aumentado-mordida profunda, diminuído, negativo e topo a topo), mordida cruzada (posterior e anterior), mordida aberta e atresia dos arcos. Quando pelo menos uma condição for diagnosticada, o examinado foi classificado com algum problema oclusal (WHO, 2013) (Apêndice 3). Os dados clínicos de 13 pacientes saudáveis serão analisados em estudos comparativos no futuro.

Os pacientes que necessitaram de tratamento restaurador odontológico foram agendados para tratamento na Clínica de Odontopediatria. Caso houvesse a presença de alguma alteração de tecidos moles que indicasse a necessidade de biópsia, a mesma seria realizada no mesmo setor.

Após o exame intra-bucal, os participantes do grupo 1 realizaram os exames de imagem (tomografia computadorizada; radiografias periapicais e interproximais em casos de necessidade), no Setor de Radiologia da FO/UFRJ. Fotografias faciais e intra-bucais também foram realizadas.

- **Análise Facial**

Utilizando-se o programa ITK-Snap, segmentações 3D foram construídas a partir das tomografias de feixe cônico obtidas dos pacientes do grupo 1. Em seguida, foram gerados modelos 3D e os modelos de superfície foram orientados em um sistema de coordenadas no programa 3D Slicer. As imagens foram espelhadas e a imagem espelhada foi superposta sobre a original utilizando-se estruturas estáveis na base do crânio, bem como superposições regionais também foram realizadas tendo como referência estruturas estáveis na maxila e mandíbula. A simetria entre os lados direito e esquerdo foi avaliada e foram calculadas as diferenças nos três planos do espaço (x, y, z) (RUELLAS ET AL., 2016).

3.7 Processamento e Armazenamento das Amostras Salivares

Após a coleta salivar a amostra, foi acrescentado o conservante azida sódica (6 µL) e a amostra centrifugada a 10.000 x g a 4° C por 60 minutos (Cientec, CT-15000R, Brasil) para a remoção dos debris celulares no Laboratório Multidisciplinar do Departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia - UFRJ. Logo após, o sobrenadante das amostras salivares foi transferido em alíquotas de 500 µL para tubos plásticos do tipo Eppendorf®, identificados e armazenados a -80°C até o momento da análise bioquímica por RMN (SILWOOD, LYNCH ET AL., 2002) no Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas – CCS/UFRJ.

3.8 Análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Espectros de RMN foram adquiridos usando espectrômetro de RMN 500 MHz (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany) a 25°C (PIOTTO ET AL., 1992; SILWOOD ET AL., 2002; BERTRAM ET AL., 2009). Foi preparada uma amostra representativa de cada tipo de MPS e de um paciente clinicamente saudável, com 500 µL de sobrenadante salivar, 100 µL buffer (pH 7.0) de fosfato de sódio (contendo 60 µL de água deionizada (D2O; Cambridge Isotope Laboratories Inc., USA) e 10 µL de 20 mM 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic ácido (DSS; Sigma-Aldrich, Milwaukee, USA)).

Foi utilizado a sequência de pulso ZGESGP para aquisição do espectro de uma dimensão (1D) tendo supressão de água com filtro CPMG. Para experimento 2D a técnica ¹H-¹H-TOCSY foi realizada para confirmação do assinalamento e avaliação de ambiguidades.

As demais amostras serão analisadas em estudos futuros.

3.9 Análise Estatística

Os dados obtidos através da entrevista e exame intra-bucal, tais como idade, manifestações bucais, resultados do índice ceo-d/CPO-D, foram incluídos e processados no programa estatístico SPSS 23.0 (SPSS Inc, MN, USA). Os testes Exato de Fisher e Kruskal-Wallis foram empregados com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e determinadas às frequências absoluta e relativa, bem como a média e o desvio padrão. Foi utilizado o teste Kappa para obter o nível de concordância intraexaminador e interexaminador.

Os assinalamentos dos metabólitos foram realizados com base no protocolo recomendado por (SILWOOD ET AL., 2002) e o banco de dados Human Metabolome Database (<http://www.hmdb.ca/>).

4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

4.1 Artigo 1: Oral manifestations and salivary metabolites in patients with mucopolysaccharidosis

4.2 Artigo 2: Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report

Artigo publicado na revista Special Care in Dentistry (DOI: 10.1111/scd.12260).

4.3 Artigo 3: 3D dental and craniofacial manifestations in patients with late diagnosis of mucopolysaccharidosis type II: cases report

4.1 Artigo 1:

Title: Oral manifestations and salivary metabolites in patients with mucopolysaccharidosis

Rafaela de Oliveira Torres ^a

Andréa Vaz Braga Pintor ^b

Tatiana Kelly da Silva Fidalgo ^c

Julio Cesar Campos Ferreira Filho ^a

Antônio Carlos de Oliveira Ruellas ^b

Ana Paula Canedo Valente ^d

Liana Bastos Freitas-Fernandes ^b

Ivete Pomarico Ribeiro de Souza ^b

^a MSc student, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.

^b PhD, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.

^c Department of Preventive and Community Dentistry, School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

^d National Center of Nuclear Magnetic Resonance, Medical Biochemistry Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Corresponding author:

Dr. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Rua Professor Rodolpho Paulo Rocco, 325, Ilha do Fundão, Departamento de Odontopediatria e Ortodontia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, CEP: 21941-913- Brazil.

Phone: + (55) 21 3938-2098 Fax: + (55) 21 3938-2010

E-mail: pomarico@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to describe the oral manifestations and salivary metabolites of patients with different types (I, II, IV, and VI) of mucopolysaccharidosis (MPS). A total of 13 patients were evaluated for oral health and manifestations (soft tissue, occlusion relationship, periodontal and dental examination). The sample consisted of 3 MPS-I, 5 MPS-II, 1 MPS-IV, 4 MPS-VI, 9 males and 4 females with ages ranging from 2-38 years. Saliva samples were collected from one patient of each MPS type and from 1 healthy patient to perform a salivary metabolite characterization using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy in a Bruker 500 spectrometer. Clinical data were analyzed descriptively with the software SPSS 23.0. Associations and correlations between the study variables with the types of MPS were tested (Fisher's exact and Kruskal-Wallis) ($p < 0.05$). The median dmft/DMFT ranged from 0-5 and macroglossia was the most prevalent manifestation (61.5%) particularly in MPS-II patients ($p = 0.019$). Gingival bleeding was distributed differently among the MPS-types ($p = 0.038$), higher in MPS-II patients. Increased overjet was more prevalent in MPS-VI patients ($p = 0.005$). It was found difference in some metabolites among the MPS types and between those and the health patient salivary profiles. Different oral manifestations were associated mainly with MPS II and VI types; and salivary low molecular weight NMR-based differences were promising for the understanding of the metabolic pathways of MPS disease.

Keywords: Mucopolysaccharidosis, oral manifestations, craniofacial abnormalities, malocclusions, saliva, NMR

Introduction

The mucopolysaccharidoses (MPS) are a rare group of inherited lysosomal storage disorders caused by genetic defects that result in the absence or severe deficiency of lysosomal hydrolases which are responsible for the degradation of glycosaminoglycans (GAGs) (SARMENTO ET AL., 2015). There are seven different MPS disorders (I, II, III, IV, VI, VII e IX) and an overall incidence of 1.9 a 4.5/100.000 live births have been estimated although the actual incidence of MPS in Brazil is unknown (VIEIRA ET AL., 2008). MPS are autosomal recessive conditions, except for MPS-II in which the pattern is X-linked recessive mode (VIEIRA ET AL., 2008).

The abnormal accumulation of GAGs results in dysfunction of multiple organs affecting the cardiovascular, respiratory, gastrointestinal, skeletal, and central nervous system. Children often present respiratory infections, otitis media with hearing loss, hepatosplenomegaly, joint stiffness, limited function/contracture, and cognitive/behavior problems (GIUGLIANI ET AL., 2014). Oral cavity complications include macroglossia, malocclusion (anterior open bite, anterior/posterior cross bite), limited mouth opening, impacted teeth and delayed dental eruption (ANTUNES ET AL., 2013, GIUGLIANI ET AL., 2014, TORRES ET AL., 2018).

Salivary research is a growing area due to presence of high metabolic information of systemic and oral condition as well as the easiness and painless during collection. Thus, alteration in salivary metabolites can be a key for early detection and also for monitoring systemic disorders (DE OLIVEIRA ET AL., 2016; ALMEIDA ET AL., 2017). Few studies evaluated and described the oral characteristics of MPS patients (ANTUNES ET AL., 2013, RIBEIRO ET AL., 2015), however, the salivary metabolic features remain unknown. Then, the aim of this study was to describe the oral manifestations and to investigate the salivary low molecular weight metabolites of patients with different types of mucopolysscharidosis.

Methodology

This is an observational, cross-sectional study of a group of patients with MPS described as a case series, which was submitted and approved by the local Ethics Committee (56788816.1.0000.5257).

Participants

From a total of 23 patients with different types of MPS (I, II, IV, VI) attending two referral centers for MPS in Rio de Janeiro, Brazil (Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG) and Instituto Fernandes Figueira (IFF)), 13 patients with MPS were selected. Patients severely affected by the MPS symptoms were excluded from the study (n=10). The diagnosis of MPS was confirmed by genetic test and established by the medical team. These patients attending from December 2016 to October 2017 were referred to the Department of Pediatric Dentistry of Universidade Federal do Rio de Janeiro for oral and dental clinical evaluation. Informed consents were obtained from all participants or child's legal guardian, prior to study initiation.

Data Collection Instruments

A single pediatric dentist (ROT) evaluated all the enrolled patients in this study. The examiner was previously trained and calibrated for Kappa intra (KIA) and interexaminer (KIE): malocclusion (KIA=0.999 and KIE=0.900); caries (KIA and KIE= 0.998) and periodontal diseases (KIA=0.942 and KIE=0.934).

Anamnesis included: patient identification; medical and dental history; oral hygiene and dietary habits; and socioeconomic index – IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (ABEP, 2014).

Clinical evaluation involved soft tissue, occlusion relationship (Moyers, 1988), oral hygiene level (Plaque Control Record - O'Leary, 1972), periodontal examination (Gingival Bleeding Index, WHO, 2013) and dental examination-DMFT/dmft index (WHO, 2013). Gingival, dental treatment and preventive measurements were provided for all patients.

Saliva sample collection

Unstimulated whole saliva was collected previously to the oral examination, from one representative patient of each MPS types I, II, IV and VI and from one systemic and oral healthy patient. For saliva sample collection, participants were required to expectorate saliva into a plastic universal tube with sodium azide (6 μ l) immersed on ice. They were asked to refrain from oral activities for one hour prior to saliva collection, which was done between 7:30 – 9:00 a.m. The samples were centrifuged at 10.000 $\times g$ for 60 min at 4°C, and the supernatants (500 μ l) were stored at -80°C until NMR analyses.

Sample preparation and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) measurements

¹H-NMR spectra were acquired using a 500MHz Avance III spectrometer (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany) at 25 °C. Saliva samples were prepared by mixing 500 μ L of saliva supernatant, 100 μ L buffer sodium phosphate (pH 7.0) (containing 60 μ L of deuterated water (D₂O; Cambridge Isotope Laboratories Inc., USA) and 10 μ L of 20 mM 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic acid (DSS; Sigma-Aldrich, Milwaukee, USA)). The CPMG pulse sequence was used for saliva samples at 298 K with 1024 scans. After spectra acquisition, edge effects were evaluated by overlaying all spectra using Topspin (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany). The assignment strategy includes the use of the Human Metabolome database (<http://www.hmdb.ca/>) (WISHART ET AL., 2007), and also previous studies (ALMEIDA ET AL., 2017; DE OLIVEIRA ET AL., 2016).

Data analysis

Data were analyzed descriptively (including one patient with MPS-IV) and by inferential tests with the software SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) for the most representative groups (MPS I, II and VI). First, Shapiro-Wilk revealed a non-normal distribution of the sample and, because of this, scalar variables were described by median and amplitude and non-parametric tests were applied. The

association of nominal study variables were investigated by Fisher's exact and for scalar and ordinal variables were used Kruskal-Wallis test. The correlations of ordinal and dichotomous variables were performed by Spearman correlations and Pearson was selected for scalar variables. The confidence interval was set at 95%.

Results

The sample consisted of 13 subjects (3 MPS-I, 5 MPS-II, 1 MPS-IV, 4MPS-VI), 9 males and 4 females with ages ranging from 2-38 years old and the diagnosis age from 0.33-22 years old, including 3 learning disability ones. Considering the socioeconomic classification, most of the patients were in categories B and C. Oral hygiene instructions were performed by medical doctors (60%) and part of this group had not received any instruction at all (40%), until the first dental appointment at the present study (Table 1 and 2).

Regarding periodontal evaluations, the gingival bleeding was distributed differently among the MPS types ($p=0.038$), ranging from 20.0-100% (median=87.5). Gingival bleeding and O'Leary Plaque indexes were higher in MPS-II patients. Most of the patients have their teeth brush by the caregiver (66.7%). Only 20% of them brush themselves. Permanent dentition was most prevalent, the DMFT ranged 0-5 (median=0) and the macroglossia was the most prevalent manifestation (61.5%) (Table 1) particularly in MPS-II patients ($p=0.019$) (Table 2). Increased overjet was more prevalent in MPS-VI patients ($p=0.005$) while class III malocclusion was the most prevalent molar relationships (Table 2) and 46.1% showed anterior open bite.

Figure 1 shows the intraoral frontal view of patients with different MPS types. The MPS II and VI patients showed: malocclusion, anterior open bite, crowding, gingival bleeding with dental calculus and caries.

Figure 2 shows the representative NMR spectra of salivary samples from health patient (a), patient with MPS type I (b), patient with MPS type II (c), patient with MPS type IV (d) and patient with MPS type VI (e). It can be observed

increased levels of lactate, propionate, alanine and N-AC in the healthy subject in comparison to MPS ones.

Discussion

As far as we know this is the first approach of salivary sample in MPS patients. This study described the clinical oral manifestations and investigated the salivary metabolic profile of patients with different types of mucopolysaccharidosis. MPS patients presented several oral alterations and it seems that the late diagnosis and onset of treatment may have influenced the expression of such manifestations.

Considering the present sample, the median age of diagnosis observed was 5.1 years, which was in agreement with the literature (4.8 years) (VIEIRA ET AL., 2008). However, for the younger patients (2-13 years) the diagnosis was established earlier (2.6 years), showing an improvement on medical diagnosis and patient's health assessment. The older patients with the latest diagnosis and consequent delay in the onset of the treatment showed the most severe symptoms, meanwhile the earlier diagnosed and treated, showed mild clinical, oral and craniofacial radiographic manifestations (TORRES ET AL., 2018). Therefore, the results reinforce the importance of early diagnosis and treatment for the disease course.

Regarding the oral health and self-care, the patients with MPS showed low tooth brushing frequency and many had their hygiene performed mainly by the caregivers. Those difficulties reflected on the high prevalence of gingival bleeding due to the presence of biofilm and dental calculus. In addition, it is important to emphasize that this group received dental advice only from the medical time, and both caregivers and patients had not received individualized oral hygiene instructions according to the needs of each patient. In the literature, some reports have already cited poor oral hygiene associated mainly with periodontal impairment and treatment need in patients with MPS (ANTUNES ET AL., 2013, RIBEIRO ET AL., 2015; MCGOVERN ET AL., 2010). Therefore, the present study reassures the need of education of patients and caregivers based on special

needs oral hygiene protocol (AAPD, 2017-2018) in order to prevent and attend this particularly issue during the maintenance care period.

Regarding on dental caries, our sample presented lower prevalence. However, despite of the increased risk for caries such as high sugar intake, restricted motor coordination, mental disorder, limited dental treatment access and poor oral hygiene, most of the patients demonstrated low caries experience, since the dmft/DMFT was 0 for nine patients (69.2%). The prevalence was higher in the primary teeth of some patients, without significant difference among the MPS types. Furthermore, four patients showed high dmft, compared to the National Survey mean (2.43 teeth) (SB BRAZIL, 2010). Nevertheless, some reports have cited a great number of MPS patients with caries experience (ANTUNES ET AL., 2013; MCGOVERN ET AL., 2010; RIBEIRO ET AL., 2015). More studies should be done aiming the understanding of caries dynamics among MPS patients.

The investigated patients showed the common oral characteristics observed in patients with MPS: macroglossia, dental crowding, open bite, anterior/posterior cross-bite and tooth erupting delay, confirming Antunes *et al.* (2013) and Ribeiro *et al.* (2015) data. However, it was relevant the identification of macroglossia as significantly associated with MPS II, which was the most prevalent type in our sample. Macroglossia has previously been associated with anterior open bite in patients with MPS type IV (BROOKS ET AL., 2005). Besides, regarding open bite vertical malocclusion, while in the healthy population, the prevalence of anterior open bite reported was 12.1% (MACHADO ET AL., 2014), in the present MPS sample it was 46.1%.

The main limitation of this study was the sample size. Though, MPS is a rare genetic disease, which implies high mortality when no treatment is applied and also shows prevalence variation among different geographic locations (VIEIRA ET AL., 2008). Our results agreed with the findings described by Vieira *et al.* (2008), in which a higher prevalence of MPS II and VI associated with a lower prevalence of types IV and I. On the other hand, the MPS types such as III, VII, IX were not observed in our study. Unfortunately, the patients with the most severe medical alterations among the MPS patients of the referral centers could not be

recruited for this study, due to the general conditions and/or difficulties of accessibility to the dental clinic. However, it is important to emphasize that only one patient of sample group had been at a dental office before, which made it difficult to start a relationship with the dentist and the dental treatment. The treatment planning was individualized and basically consisted on oral hygiene prophylaxis, scaling, dental extraction and restorations, as well as the indication for orthodontic treatment.

Although, the clinical and craniofacial oral manifestations of MPS patients have been explored in the literature (ANTUNES ET AL., 2013; RIBEIRO ET AL., 2015, TORRES ET AL. 2018), the salivary features and metabolic differences are still unknown. Since, MPS is a metabolic disease; the application of metabolomics analysis using nuclear magnetic resonance (NMR) can be promising to elucidate a profile of different salivary metabolites. Such approach had already been successful for the identification of metabolic salivary biomarkers in diabetes type I children (OLIVEIRA ET AL., 2016). The preliminary results of the first scanning of the saliva of MPS type I, II, IV, VI patients showed possible differences in MPS types compared to the health patient salivary profiles. Further studies should be done to analyze differences among the MPS types in comparison with healthy pairs.

Conclusion

Different oral manifestations, macroglossia and increased overjet were respectively associated with MPS types II and VI. Salivary low molecular weight NMR-based differences from healthy subject were promising for the understanding of the metabolic pathways of MPS disease.

Funding

This work was supported by CAPES, CNPq and FAPERJ

References

1. Almeida PA, Fidalgo TKS, Freitas-Fernandes, Almeida FCL, Souza IPR, Valente AP. Salivary metabolic profile of children and adolescents after hemodialysis. *Metabolomics*, 2017; 13:141
2. American Academy of Pediatric Dentistry. Management of Dental Patients with Special Health Care Needs. Reference manual, 2017/2018; 39(6)
3. Antunes LAA, Nogueira APB, Castro GF, Ribeiro MG, de Souza IPR. Dental findings and oral health status in patients with mucopolysaccharidosis: a case series. *Acta Odontol Scand.*2013; 71:157–167.
4. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisas (ABEP). Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB). 2014. São Paulo: ABEP; 2014.
5. Brooks DA, Gibson GJ, Karageorgos L, Hein LK, Robertson EF, Hopwood JJ. An index case for the attenuated end of the mucopolysaccharidosis type VI clinical spectrum. *Mol Genet Metab.* 2005;85(3):236-238.
6. Beck M. Therapy for lysosomal storage disorders. *Life.* 2010;62:33^10.
7. de Oliveira LR, Martins C, Fidalgo TK, Freitas-Fernandes LB, Torres RO, Soares AL, Almeida FC, Valente AP, de Souza IP. Salivary Metabolite Fingerprint of Type 1 Diabetes in Young Children. *J Proteome Res.* 2016 Aug 5;15(8):2491-9
8. Giugliani R, Villarreal ML, Valdez CA, Hawilou AM, Guelbert N, Garzón LN, Martins AM, Acosta A, Cabello JF, Lemes A, Santos ML, H Amartino H, Guidelines for diagnosis and treatment of Hunter Syndrome for clinicians in Latin America, *Genet Mol Biol.* 37: (2014) 315–29.
9. Machado DB, Brizon VSC, Ambrosano GMB, Madureira DF, Gomes VE, de Oliveira ACB. Factors associated with the prevalence of anterior open bite among preschool children: A population-based study in Brazil. *Dental Press J Orthod.* 2014 Sep-Oct; 19(5): 103–109.
10. McGovern E, Owens L, Nunn J, Bolas A, Meara AO, Fleming P. Oral features and dental health in Hurler Syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Paediatr Dent.* 2010 Sep 1;20 (5):322-9. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01055.x. Epub 2010 Jun 2

11. Moyers RE. Handbook of orthodontics. 4th ed. Chicago, IL:Year Book Medical Publisher; 1988. p 87–105.
12. O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972; 43:38.
13. Ribeiro EM, Fonteles CSR, Freitas AB, Alves KSS, Monteiro AJ, da Silva CAB. A clinical multicenter study of orofacial features in 26 Brazilian patients with different types of mucopolysaccharidosis. *The Cleft Palate-Craniofacial Journal* 52(3) pp.352-358 May 2015.
14. Sarmiento DJS, de Carvalho SHG, Melo SLS, Fonseca FRA, Diniz DN, Bento PM, Mesquita GQTB, de Melo DP. Mucopolysaccharidosis: radiographic findings in a series of 16 cases. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*. 2015; 120(6):240-245.
15. SB BRAZIL 2010: National Research on Oral Health: main results. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
16. Torres RO, Pintor AVB, Guedes FR, Freitas-Fernandes LB, Barth AL, Horovitz DDG, de Souza IPR. Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report. *Special Care in Dentistry*. 2017 [Epub ahead of print]Article DOI: 10.1111/scd.12260.
17. Vieira T, Schwartz I, Munõz V, Pinto L, Steiner C, Ribeiro M, Boy R, Ferraz V, de Paula A, Kim C, Acosta A, Giugliani R. Mucopolysaccharidoses in Brazil: What Happens From Birth to Biochemical Diagnosis? *American Journal of Medical Genetics Part A* 146A:1741–1747 (2008)
18. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, Cheng D, Jewell K, Arndt D, Sawhney S et al. The human metabolome database. 2007. *Nucleic Acids Research*, 35 (Database issue), D521-D526.
19. World Health Organization. 5th ed. Geneva:WHO; 2013. *Oral Health Surveys Basic Methods*; pp 83-118.
20. Zhang A, Sun H, Wang P, Han Y, & Wang X. Recent and potential developments of biofluid analyses in metabolomics. *Journal of Proteomics*, 75(4), 1079-1088.

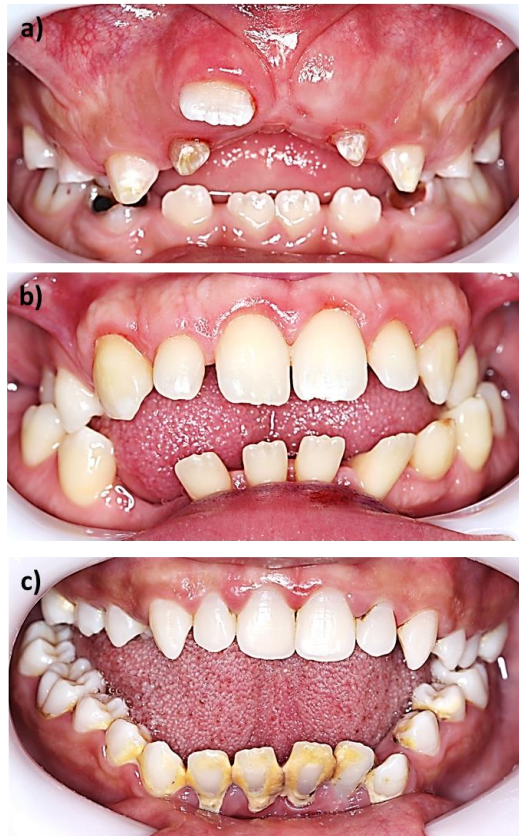


Figure 1: Intra oral view from 3 patients with MPS: a,b) type VI and c) type II. The patients showing some manifestations of MPS: malocclusion, anterior open bite and dental calculus.

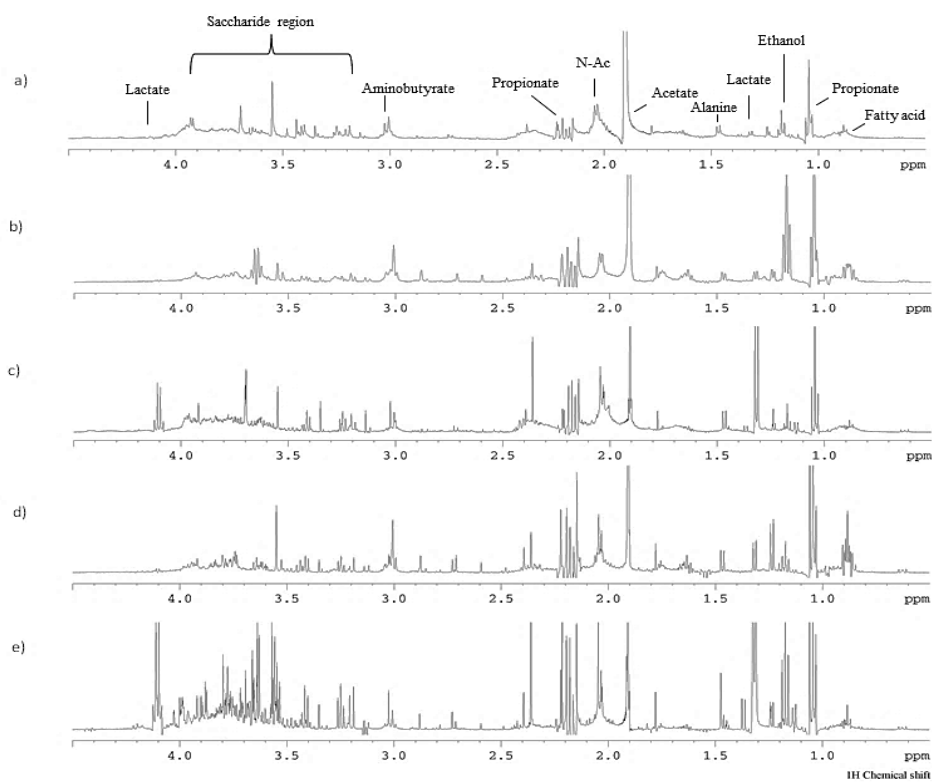


Figure 2: Representative ^1H NMR saliva spectra differences among groups. a) saliva sample from health patient, b) patient with MPS type I, c) patient with MPS type II, d) patient with MPS type IV and e) patient with MPS type VI. Resonance assignments of specific metabolites are identified.

Table 1: Clinical and demographic characterization of the patients with MPS.

Patient	MPS type	Gender	Age (years)	DA (years)	L D	Dentition	D M F T	D of DMFT	GBI (%)	O'Leary PI (%)	Macroglossia	MR	DC	OB	PC	Overjet
1	I	M	9	1.80	N	M	5	5	44.4	41.6	N	AMR	N	N	N	N
2	I	M	12	4.00	N	P	0	0	58.3	30.2	N	Class I	N	N	N	N
3	I	F	2	2.00	-	p	0	0	68.7	43.7	N	AMR	N	N	N	N
4	II	M	7	0.33	Y	M	0	0	76.9	48.1	Y	Class I	Y	N	N	-
5	II	M	6	4.00	Y	M	4	4	100	100.0	Y	AMR	Y	Y	N	-
6	II	M	9	2.00	Y	M	0	0	100	100.0	Y	Class III	N	Y	N	I
7	II	M	23	14.00	N	P	0	0	75.0	100.0	Y	Class III	N	Y	Y	-
8	II	M	38	22.00	N	P	1	0	48.0	45.0	Y	Class III	N	Y	Y	0
9	IV	F	13	1.80	N	P	0	0	39.3	41.9	Y	Class II	N	N	N	N
10	VI	F	7	6.00	N	M	4	4	42.1	38.1	N	AMR	Y	N	N	I
11	VI	M	8	1.80	N	M	4	4	41.1	61.7	N	AMR	Y	Y	N	I
12	VI	F	26	4.00	N	P	0	0	20.0	28.7	Y	AMR	N	Y	N	I
13	VI	M	19	3.00	N	P	0	0	59.1	100.0	Y	AMR	Y	N	N	N

Note: LD –Learning disability, DA- Diagnosis'age, GBI - Gingival bleeding index, MR – molars relationship, DC – dental crowding, OB – open bite, PC- posterior cross bite, M – Male, F – Female, p – primary dentition, m– mixed dentition, P – permanent dentition, N – normal, I – increased, AMR – absence of molar relationship; Y- yes , N- no; IQR – Interval interquartile range.

Table 2: Distribution of variables sample (n=12)*, association (X^2 and Kruskal-Wallis) and correlation (Spearman and Pearson) of each investigated according with the MPS type (p<0. 05).

		% (n) MPS type			CA (p-value)	CC p-value)
		I	II	VI		
Gender	Male	66,7 (2)	100.0 (5)	50.0 (2)	3.11 (0.211)	0.208 (0.517)
	Female	33,3 (1)	-	50.0 (2)		
Median of Age-years (amplitude)		9 (10)	9 (32)	13.5 (19)	0.57 (0.752)	0.142 (0.643)
Median of diagnosis' age (amplitude)		2 (2.2)	4 (21.67)	3.5 (4.2)	0.79 (0.675)	-0.142 (0.644)
Learning disability	Yes	-	60.0 (3)	-	4.95 (0.084)	0.21 (0.538)
	No	100.0 (2)	40.0 (2)	100.0 (4)		
Socioeconomic condition	B	66.7 (2)	40.0 (2)	25.0 (1)	1.23 (0.539)	0.313 (0.322)
	C	33.3 (1)	60.0 (3)	75.0 (3)		
Oral hygiene instructions by medical team	Yes	-	60.0 (3)	75.0 (3)	4.20 (0.122)	-0.540 (0.070)
	No	100.0 (3)	40.0 (2)	25.0 (1)		
Median of Age at first dental care (amplitude)		3 (1)	5 (14)	5 (8)	4.33 (0.115)	0.239 (0.431)
Dentition	Primary	33.3 (1)	-	-	3.39 (0.495)	0.245 (0.444)
	Mixed	33.3 (1)	60.0 (3)	50.0 (2)		
	Permanent	33.3 (1)	40.0 (2)	50.0 (20)		
Median of DMFT (amplitude)		0 (5)	0 (4)	2 (4)	0.74 (0.690)	0.121 (0.693)
Median of decayed teeth (amplitude)		0 (5)	0 (4)	2 (4)	0.23 (0.893)	0.141 (0.645)
Tooth brushing frequency	Once day	66.7 (2)	20.0 (1)	25.0 (1)	7.23 (0.124)	0.149 (0.644)
	Twice day	33.3 (1)	20.0 (1)	75.0 (3)		
	≥ 3 times day	-	60.0 (3)	-		
Who brushes patient' teeth	Patient	33.3 (1)	40.0 (2)	25.0 (1)	2.84 (0.828)	0.070 (0.819)
	Caregiver	66.7 (2)	40.0 (2)	75.0 (3)		
	Both of them	-	20.0 (1)	-		

Median % Gingival bleeding PI (amplitude)		58.30 (24.30)	76.90 (52.0)	41.60 (39.10)	6.57 (0.038) **	-0.552 (0.051)
Median % O'Leary PI (amplitude)		41.60 (13.50)	100.0 (55.5)	49.90 (71.30)	4.46 (0.108)	-0.022 (0.942)
Macroglossia	Yes	-	100.0 (5)	50.0 (2)	7.89 (0.019) **	-0.287 (0.366)
	No	100.0 (3)	-	50.0 (2)		
Molars relationships	Class I		100.0 (1)	25.0 (1)	1.88 (0.400)	0.612 (0.272)
	Class III		-	75.0 (3)		
Dental crowding	Yes	-	40.0 (2)	50.0 (2)	2.10 (0.350)	-0.382 (0.221)
	No	100.0 (3)	60.0 (3)	50.0 (2)		
Anterior cross bite	Yes	-	20.0 (1)	-	1.53 (0.466)	0.47 (0.886)
	No	100.0 (3)	80.0 (4)	100.0 (4)		
Posterior cross bite	Yes	-	40.0 (2)	50.0 (2)	2.10 (0.350)	-0.382 (0.221)
	No	100.0 (3)	60.0 (3)	50.0 (2)		
Overjet	Zero	-	80.0 (4)	-	14.70 (0.005)**	0.425 (0.168)
	Normal	100.0 (3)	-	25.0 (1)		
	Increased	-	20.0 (1)	75.0 (3)		
Anterior open bite	Yes	-	80.0 (4)	50.0 (2)	4.80 (0.091)	-0.309 (0.329)
	No	100.0 (3)	20.0 (1)	50.0 (2)		

* One patient excluded from the sample/ ** p<0.05

4.2 Artigo 2:

ORAL MANIFESTATIONS IN MPS-II PATIENT WITH HSCT

CASE HISTORY REPORT**ABSTRACT**

We described herein the oral and craniofacial features of a 7-year-old boy, diagnosed *in utero* with mucopolysaccharidosis II (MPS II), who was treated with hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) at 70 days of age. The main oral clinical findings were the following: macroglossia, posterior cross-bite, crowding, pointed cuspid teeth, delayed tooth eruption, retained primary teeth, and enamel hypoplasia. The image examination showed: retention eruption, posterior primary teeth with short roots, absence of some permanent teeth, and stretching of the stylohyoid processes bilaterally. This patient showed the importance of early diagnosis and HSCT therapy in attenuating the clinical and radiographic oral and craniofacial manifestations of the MPS II patient.

KEY WORDS: mucopolysaccharidosis II, Hunter syndrome, hematopoietic stem cell transplantation, oral manifestations, craniofacial abnormalities

Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report

Rafaela de Oliveira Torres, MSc Student;¹ Andréa Vaz Braga Pintor, PhD;² Fábio Ribeiro Guedes, PhD;³ Liana Bastos Freitas-Fernandes, PhD;² Anneliese Lopes Barth, PhD;⁴ Dafne Dain Gandelman Horovitz, PhD;⁴ Ivete Pomarico Ribeiro de Souza, PhD^{2*}

¹Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil;

²Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil;

³Department of Oral Pathology, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil; ⁴Department of Genetics, Instituto Fernandes Figueira, Brazil.

*Corresponding author e-mail: pomarico@gmail.com

Spec Care Dentist XX(X): 1-4, 2018

Introduction

Hunter syndrome (also known as mucopolysaccharidosis II [MPS II]) is a rare metabolic disorder with an estimated incidence of 1 in 100,000 live births. The disease is caused by deficient activity of iduronate-2-sulphatase (IDS), a lysosomal hydrolase responsible for the degradation of glycosaminoglycans (GAGs). There are two forms of MPS II based on the length of survival and the presence or absence of central nervous system involvement. The spectrum of the disease ranges from mild chronic to severe forms.^{1,2} The clinical features of MPS II vary significantly from patient to patient, with differences in the age of onset of symptoms, disease rate progression, and severity of signs and symptoms.³

The abnormal accumulation of GAGs results in dysfunction of multiple organs affecting the cardiovascular, respiratory, gastrointestinal, skeletal, and central nervous systems. Children often present with murmur, respiratory infections, otitis media with hearing loss, hepatosplenomegaly, joint stiffness, limited function/contracture, and cognitive/behavior problems.⁴ The main clinical oral and craniofacial manifestations of MPS patients⁴⁻⁶ are described in Table 1.

Management of MPS II includes general clinical support with multiple specialists, enzyme replacement therapy

(ERT) with idursulfase, or hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).² HSCT may replace endogenous hematopoietic lineage cells with exogenous cells transplanted from a healthy donor, which can migrate across the blood-brain barrier and express lysosomal enzymes to improve neurological symptoms, making HSCT advantageous over ERT. However, there is a possibility of treatment-related mortality and morbidity from HSCT in MPS patients, and the real neurological benefits are still unclear.⁷ The reason for this modality of treatment not being considered as the best option by the medical

ORAL MANIFESTATIONS IN MPS-II PATIENT WITH HSCT

Table 1. The main clinical oral and craniofacial manifestations of MPS patients.⁴⁻⁶

Clinical oral manifestations	Craniofacial manifestations
<ul style="list-style-type: none"> • Macroglossia • Thick lips • Anterior open-bite • Posterior cross-bite • Diastema • Narrow and deep palate • Retention, ectopic, and supernumerary teeth • Limited mouth opening 	<ul style="list-style-type: none"> • Short mandibular ramus • Wide mandibular base • Irregular bone cortex • Malformed glenoid cavity • Condilar defect • Wide coronoid process

literature is possibly due to the scarce data available on results and not very good case selection until the present moment.⁸ There are still no published data on oral and craniofacial manifestations of a HSCT early treated child with the neuronopathic MPS II phenotype. The aim of this article is to describe the oral and craniofacial findings of a boy diagnosed early with MPS II (4th month of intrauterine life), 7 years after he received HSCT treatment, showing the importance of early diagnosis and HSCT therapy in attenuating the clinical and radiographic oral and craniofacial manifestations.

Case report

A boy aged 7 years and 9 months was brought by his mother to the Dentistry School of the Pediatric Dental Clinic, Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) with the chief complaint of delayed tooth eruption and retained primary teeth. This report was performed according to the CARE Statement (CARE-Statement.org).

Medical history

The patient's physicians based on the patient medical records drafted this medical history data.

We describe the 7-year follow-up of a child with MPS II who was treated with HSCT with umbilical cord blood cells from a human leukocyte antigen (HLA) nonidentical unrelated donor (match 5/6) at 70 days of age, preceded by ERT. He was investigated prenatally due to positive family history, as an older

brother and an uncle had been diagnosed with Hunter syndrome, both with the severe phenotype. I2S activity was undetectable in fibroblasts of the amniotic fluid at the 4th month of intrauterine life. Urinary GAGs began to decrease during ERT and reached the normal range 3 months posttransplant. At present, GAG levels are within the normal range for age-matched controls.

Follow-up and development

The patient always manifested increased general activity, and as of 3 years of age, he demonstrated aggressive behavior. Despite showing a benefit after introduction of the hearing aid and a decrease in aggressiveness, hyperactive behavior is still present.

An auditory-evoked response test performed at 5 years was compatible with moderate hearing loss. He began to use a hearing device and started to speak short phrases soon thereafter.

His most recent motor evaluation at 7 years of age disclosed adequate muscle

tone, strength, growth charts, and joint range of motion within the normal range. His speech development, however, has been slower. He has no corneal clouding or hepatosplenomegaly. His measured intelligence quotient (IQ) is 47 (Wechsler Intelligence Scale for Children – fourth edition (WPPSI-IV Wechsler, 2003)).

Clinical examination

Extra-oral examination revealed the patient to be of average stature (1.33 m) and high weight (39 kg). His general appearance was average, and he was socially adept and attending mainstream school, although he presented cognitive and behavioral disorders. The face did not show the typical coarsening of facial features observed in MPS II patients. In addition, the hands did not show the typical claw-like hands aspect (Figure 1). Intraoral examination revealed thick lips and macroglossia. The patient was in the mixed dentition period, showing class I malocclusion with incisor crowding, right posterior cross-bite, retained primary teeth (primary mandibular left and right central incisors), and ectopic eruption of the following permanent teeth: mandibular left and right central incisors, mandibular left and right lateral incisors) (Figure 2).

Furthermore, he showed poor oral hygiene with associated marginal gingivitis (Plaque Control Record – O'Leary = 48% and Gum Bleeding Index = 77%). Clinically, the patient was caries free and enamel hypoplasia was noticed in the following permanent teeth: mandibular



Figure 1. Facial characteristics and hands view of the MPS II patient, not showing the typical coarse face or claw like hands.



Figure 2. Intraoral view: (a) frontal view, (b) upper view, and (c) lower view.

left and right central incisors, mandibular left and right lateral incisors, mandibular left and right first molars, and maxillary left and right first molars (Figure 2). Evaluating the patient was difficult due to his hyperactive behavior, aggression, and reduced chair time.

Radiographic findings

A panoramic radiograph (Orthophos XG, Sirona Dental, Germany) showed the following in the primary dentition: delayed eruption, retained teeth (primary mandibular left and right central incisors and primary mandibular right lateral incisor), posterior teeth with short roots, absence of permanent teeth: maxillary right and left canines, and morphologic changes (permanent mandibular left and right canines). The patient presented an image suggestive of an incipient caries lesion at the face of the lower left primary molar

at the interproximal radiographs not confirmed clinically (Figure 3). A periapical radiopacity related to the lower left first molar was observed.

Tomographic findings

A concomitant computed tomography (CT) scan was performed at the Oral Radiology Service of the Dentistry School/UFRJ. To analyze the obtained volume, CS3D Imaging software (Carestream) was used, using axial, sagittal, coronal, oblique, and three-dimensional (3D) reconstructions. It was observed that the patient presented stretching of the stylohyoid processes bilaterally, measuring 25 mm on the right side and 27.8 mm on the left. The other facial anatomical structures were compatible with the following normal tomographic features: bony bases, branch, coronoid process, condylar,

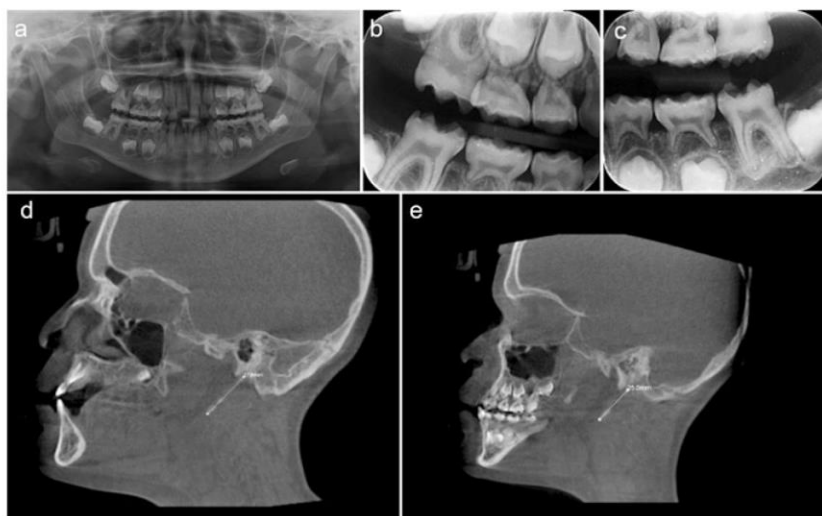


Figure 3. Radiographic and tomographic (using the Kodak 9500 device with the following acquisition parameters: 90 kVp, 10 mA, 10.3 seconds exposure time, 0.3 mm voxel, and 18.4 cm x 20.6 cm FOV (field of view)): (a) panoramic radiography, (b and c) right and left interproximal radiographies, (d and e) tomography lateral view showing right and left measurement of stylohyoid processes.

paranasal sinuses, facial bones, and base of the skull (Figure 3).

Dental management

The management of his oral condition centered on prevention. The patient received dental prophylaxis, oral evaluation, oral hygiene instruction, dietary counseling, and topical fluoride application. The patient and his mother were advised about the importance of regular dental visits, at least every 6 months.

Discussion

The diagnostic process of MPS II is based on biochemical and genetic evaluations. Nevertheless, as an X-linked disorder, a complete anamnesis should include the collection of the family pedigree. The early diagnose of mucopolisacarisidosis is very rare, since the age of onset of signs and symptoms vary from patient to patient. The patient's family history revealed that one maternal uncle and one sibling were affected by MPS II. When the mother showed up pregnant at the genetics clinic, the patient was screened early for the possibility of MPS II, and the prenatal diagnosis was made from the assay of I2S in cultured amniocytes by the 4th month of intrauterine life.

The disease was managed with HSCT from unrelated umbilical cord blood at 70 days of age. This strategy has been successful in modifying the disease course of MPS II by providing sufficient enzyme activity to slow or stop the progression of the illness.^{9,10} However, it remains unclear if the therapy applied early in life could significantly reduce the progression of neurologic alterations.^{11,12} Despite treatment with HSCT, our patient still presented some MPS II features: hearing loss and cognitive/behavioral disorders. His measured IQ is 47, which is considered defective, while the average IQ ranges from 91 to 110.¹³ Meanwhile, his I2S activity, general growth, and motor development were considered normal.

Cognitive and behavioral problems made it difficult to obtain clinical case documentation and to provide clinical dental care. In the literature, behavior disorders such anxiety, hyperactivity,

ORAL MANIFESTATIONS IN MPS-II PATIENT WITH HSCT

aggression, and sleep upset have been reported.^{1,3} Neurological degeneration was found in 23.3% of 77 South American MPS II patients,¹⁴ while Chiong *et al.*¹⁵ found that 91.3% of Filipino MPS II patients revealed development delay/mental disorders.

Our patient's oral evaluation showed poor oral hygiene, although no dental caries were observed. However, the high amount of biofilm reflected on marginal gingivitis in several sites. The mother reported that he only received dental counseling, prophylaxis, and topical fluoride application in the early childhood period. Unfortunately, routine dental attending of these patients is difficult, as they require special care, and few professionals are so qualified.

The following oral characteristics have also been reported for MPS II patients: diastema, open-bite, posterior cross-bite, narrow and deep palate, wide and flat palate, malocclusion, retention/delayed teeth, ectopic teeth, and thick lips.^{3,5,16} Our patient showed some of those features: thick lips, macroglossia, class I malocclusion with incisor crowding, right posterior cross-bite, retained primary teeth, ectopic eruption, and enamel hypoplasia only on the erupted permanent teeth. The last alteration could possibly be associated with the medication and therapy applied by the time of the initial formation of the hard tissues of the permanent first molars and incisors.

The radiographic skeletal findings seen in Hunter's syndrome classically include a short mandibular ramus, condylar defect, wide coronoid process, wide mandibular base, and malformed glenoid cavity.^{5,16} Furthermore, ectopic and impacted teeth have also been reported.^{5,16} We observed stretching of the stylohyoid processes bilaterally and ectopic/retained teeth, while the other oral structures were normal. Meanwhile, Barth *et al.*⁸ described the general features of the patient and observed through the magnetic resonance imaging (MRI) evaluation, that the spine was normal and X-rays showed very mild signs of dysostosis multiplex.

Considering dental condition management, as the patient did not report a clinical complaint, noninvasive dental care

consisting of dental prophylaxis, oral evaluation, oral hygiene instruction, dietary counseling, and topical fluoride application was adopted.^{4,16} The hypoplastic spots were shallow with a hard surface.

Therefore, dental restoration with resin composite was not performed yet. Furthermore, occlusion development should be supervised until the eruption of all permanent teeth. Orthodontic treatment for the posterior cross-bite was planned, as well as the follow-up of the periapical radiopacity related to the lower left first molar.

Conclusion

This patient showed the importance of early diagnosis and HSCT therapy in attenuating the clinical and radiographic oral and craniofacial manifestations of the MPS II patient. Therefore, the patient should be continuously assessed aiming the detection of any health impairment.

Acknowledgment

This work was supported by CAPES, CNPq and FAPERJ.

References

1. Roberts J, Stewart C, Kearney S. Management of the behavioural manifestations of Hunter syndrome. *Br J Nurs* 2010;25:26-30.
2. Peters C, Steward GC. Hematopoietic cell transplantation for inherited metabolic diseases: an overview of outcomes and practice guidelines. *Bone Marrow Transplant* 2003;31:229-39.
3. Giugliani R, Baldo G, Vairo F, Lujan Lopes M, Matte U. The Latin American School of Human and Medical Genetics: promoting education and collaboration in genetics and ethics applied to health sciences across the continent. *J Community Genet* 2015;6:189-91.
4. Giugliani R, Villarreal ML, Valdez CA, *et al.* Guidelines for diagnosis and treatment of Hunter Syndrome for clinicians in Latin America. *Genet Mol Biol* 2014;37:315-29.
5. Antunes LAA, Nogueira APB, Castro GF, Ribeiro MG, deSouza IPR. Dental findings and oral health status in patients with mucopolysaccharidosis: a case series. *Acta Odontol Scand* 2013;71:157-67.
6. Savitha NS, Saurabh G, Krishnamoorthy SH, Nandan S, Ambili A. NS Hunter's syndrome: a case report. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2015;33:66-8.
7. Wang J, Luan Z, Jiang H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in thirty-four pediatric cases of mucopolysaccharidosis—a ten-year report from the China children transplant group. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22:2104-8.
8. Barth AL, de Magalhães TSPC, Reis ABR, *et al.* Early hematopoietic stem cell transplantation in a patient with severe mucopolysaccharidosis II: a 7 years follow-up. *Mol Genet Metabolism Rep* 2017;12:62-68.
9. Guffon N, Bertrand Y, Forest I, A Fouilhoux, R Froissart. Bone marrow transplantation in children with Hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years. *J Pediatr* 2009;154:733-7.
10. Annibali R, Caponi L, Morganti A, Manna M, Gabrielli O, Ficcadenti A. Hunter syndrome (Mucopolysaccharidosis type II), severe phenotype: long term follow-up on patients undergone to hematopoietic stem cell transplantation. *Minerva Pediatr* 2013;65:487-96.
11. Mullen CA, Thompson JN, Richard LA, Chan KW. Unrelated umbilical cord blood transplantation in infancy for mucopolysaccharidosis type IIB (Hunter syndrome) complicated by autoimmune hemolytic anemia. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:1093-7.
12. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Ledbetter N, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K. Mucopolysaccharidosis Type II. *SourceGeneReviews*® [Internet]. Seattle, WA: University of Washington, Seattle; 1993-2017. 2007 Nov 6 [updated 2015 Mar 26].
13. Watkins MW. Structure of the Wechsler Intelligence Scale for Children-Fourth Edition among a national sample of referred students. *Psychol Assessment* 2010;22:782-7.
14. Schwartz IV, Ribeiro MG, Mota JG. A clinical study of 77 patients with mucopolysaccharidosis type II. *Acta Paediatr* 2007;96:63-70.
15. Chiang MAD, Canson DM, Abacan MAR, Baluyot MM, Cordero CP, Silao CLT. Clinical, biochemical and molecular characteristics of Filipino patients with mucopolysaccharidosis type II—Hunter syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2017;12:7.
16. Anekar J, Narayanan DC, Raj AC, Sandeepa NC. A rare case of mucopolysaccharidosis: Hunter syndrome. *J Clin Diagn Res* 2015;9:23-6.

4.3 Artigo 3:

Title: 3D dental and craniofacial manifestations in patients with late diagnosis of mucopolysaccharidosis type II: case reports

Rafaela de Oliveira Torres^a

Andréa Vaz Braga Pintor^b

Fábio Ribeiro Guedes^c

Lucia Helena Soares Cevidanes^d

Liana Bastos Freitas-Fernandes^b

Antônio Carlos de Oliveira Ruellas^b

Ivete Pomarico Ribeiro de Souza^b

^aMSc student, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil

^bPhD, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil

^cPhD, Department of Oral Pathology, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil

^dPhD, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA

Corresponding author:

Dr. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Rua Professor Rodolpho Paulo Rocco, 325, Ilha do Fundão, Departamento de Odontopediatria e Ortodontia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro/RJ, CEP: 21941-913- Brazil.

Phone: + (55) 21 3938-2098 Fax: + (55) 21 3938-2010

E-mail: pomarico@gmail.com

Abstract

The objective of this study was to report the clinical evaluation results and 3D dental and craniofacial characteristics observed in two male patients with mucopolysaccharidosis type II (MPS-II): Patient 1, a 23-years-old, and his uncle, 39 years old (Patient 2). The patients were evaluated clinically (soft tissue evaluation, occlusion, periodontal and dental aspects) and by craniofacial computerized tomography (CT), with evaluation of 3D images in ITK-Snap and 3D Slicer[®] software. Mandibular 3D volumetric label maps were built from CT scans of both patients, and compared through superimposition to a healthy patient's mandibular images. Clinically, the patients presented the following oral manifestations: macroglossia, total open bite and generalized diastemas, and were caries-free. Patient 1 showed dental calculus and bleeding at the gingival margin (71.42%). Patient 2 showed bleeding at the gingival margin (48%), a missing permanent maxillary left central incisor due to trauma, and impacted teeth (permanent mandibular left and right second molars). 3D images showed wide arches, evident antegonial notch, narrow mandibular body in the region of the antegonial notch, bilateral severe condylar resorption and increased coronoid processes. 3D imaging and superimpositions evidenced oral and skeletal displacements, contributing to identifying changes in MPS-II disease in patients with a late diagnosis.

Keywords: Mucopolysaccharidosis II, Hunter syndrome, oral manifestations, craniofacial abnormalities, 3D

Introduction

Hunter syndrome, also known as mucopolysaccharidosis II (MPS-II), is a rare X-linked disorder with an estimated incidence of 1:100.000 live births, in which iduronate-2-sulfatase (I2S), a lysosomal hydrolase responsible for the degradation of glycosaminoglycans (GAGs), is absent or deficient.¹

The resultant accumulation of GAGs causes permanent, progressive tissue and organ dysfunction.^{1,2} The orofacial features commonly include: midfacial third deficiency and a convex profile of the lower facial third, enlarged lips, anterior open bite, diastemas and macroglossia, as well as gingival enlargement.^{2,3}

Although clinical oral and radiographic manifestations of MPS-II have already been described,^{2,3} tomographic evaluations of the craniofacial characteristics of patients diagnosed late with MPS are rare.⁴ Moreover, the advent of three-dimensional (3D) cone-beam computed tomography (CBCT) has allowed the identification of skeletal and dental changes that could not be identified with standard two-dimensional (2D) radiographs. 3D imaging techniques can be used in dentistry for populational and individual assessments through superimposition, aiming to diagnose asymmetry and quantitative/qualitative analyses of tooth and skeletal displacements.^{5,6} Therefore, the aim of this article was for the first time, to evaluate symmetry and proportions of the craniofacial complex of MPS patients through mirrored and superimposed images. Furthermore, to investigate and describe the severity of the clinical oral and craniofacial 3D manifestations of the disorder in two patients with a late disease diagnosis of MPS-II, and to compare the mandibular 3D surface models of the patients with MPS-II with a model of a healthy patient.

Case reports

This report was performed according to the CARE Statement (CARE-Statement.org).

Two MPS-II male patients treated with enzyme replacement therapy (ERT) with idursulfase, nephew and uncle, were referred to the Universidad Federal of Rio de Janeiro for dental evaluation. Both were late diagnosed for MPS II, patient 1, aged 23 years was diagnosed at 14 years of age, while patient 2, aged 39 years old, was diagnosed at 22. The first complained with difficulty in chewing and the latter with multiple diastemas. The patient reported that the missed permanent maxillary left central incisor was extracted due to dental trauma. Anamnesis, clinical examination (soft tissue evaluation, occlusion, periodontal examination and dental examination – DMFT) and CT with evaluation of 3D images in ITK-Snap and 3D Slicer® programs were performed for clinical diagnosis and treatment planning purposes.

On general physical examination, patients were of short stature, showing the typical coarsened faces observed in MPS-II patients, depressed nasal bridge with wide nostrils and bilateral periorbital edema. Both showed claw-like hands and stiff joints (Figure 1). Data was confirmed by the medical records.

Intra-oral examination revealed thick lips, macroglossia, permanent dentition showing class III malocclusion with multiple diastemas, flaring of the anterior teeth and total open bite. The periodontal evaluation revealed poor oral hygiene reflected by marginal gingivitis and dental calculus in both patients. Patient 1 showed Plaque Control Record (PCR) – O’Leary = 100% and Gum Bleeding Index (GBI) = 71.42% and dental calculus (Figure 2a) and patient 2 presented PCR = 45%, GBI = 48%. Both patients were caries free (DMFT = 0) and the patient 2 presented with missing permanent maxillary left central incisor, impacted teeth (permanent mandibular left and right second molar) (Figure 2b).

The CBCT scan was analyzed through evaluation of 3D images in ITK-Snap and 3D Slicer® programs. Both showed total open bite, wide arches, evident antegonial notch, narrow mandible body in the region of the antegonial notch, bilateral severe condylar resorption and increased coronoid processes (Figure 3).

The scan and corresponding 3D models for each patient were mirrored and superimposed over the original. Voxel-based registrations were performed using the cranial base⁷ and mandible⁶ as references for the superimpositions, with the

goal to evaluate symmetry and proportions (Figure 4). The mandibular 3D surface model of one patient with MPS was compared to that of a healthy patient (Figure 5).

The management of the patients included antibiotic prophylaxis, dental calculus scraping and preventive dental care. The patients were advised of the importance of regular dental visits. Such palliative measures were indicated, as orthodontic-surgical management was not feasible due to the systemic conditions.

Discussion

The patients investigated showed the common oral characteristics observed in patients with MPS-II: diastema, open bite, posterior cross-bite, narrow and deep palate, wide and flat palate, malocclusion, retention/delayed teeth, macroglossia and thick lips, as well as limited mouth opening.^{2,3,8} However, ectopic teeth and posterior cross-bite were not observed in neither patients, flaring of the anterior teeth was observed and could be associated to macroglossia. Since, in the literature the influence of forces from mastication and the actions of the lips, cheeks, and tongue on teeth position has already been established¹³ and the association of flaring of anterior teeth and macroglossia was previously reported¹⁴.

The radiographic skeletal and dental findings seen in Hunter's syndrome classically include a short mandibular ramus, condylar defect, wide coronoid process, wide mandibular base, malformed glenoid cavity, and ectopic and impacted teeth.^{3,8,11} In this report, the patients showed the same MPS manifestations.

Furthermore, the craniofacial skeletal conditions of the MPS-II patients investigated were severe and associated with difficulty in chewing; however, no signs or symptoms of temporomandibular joint (TMJ) disorder were observed. Anterior open bite has been associated with macroglossia^{9,10} and hypoplastic or underdeveloped mandibular condyles¹¹ in MPS-VI patients. Kantaputra *et al.*, (2014) observed that the young patients who received early ERT show reduced

craniofacial malformations including hypoplastic mandibular condyles and anterior open bite.¹¹ Similarly, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) attenuated the oral and craniofacial manifestations in a young MPS-II patient.¹² Early treatment seems to contribute favorably for the course of the mucopolissacharidosis.²As the patients had delayed diagnosis, with consequent late-onset ERT treatment, their craniofacial manifestations were severe.⁸ The 3D tomographic skeletal and dental evaluation evidenced total open bite, wide arches, evident antegonial notch, narrow mandible body in the region of the antegonial notch, bilateral severe condylar resorption and increased coronoid processes. Figure 5 displays the comparison between mandibles of similar lengths, one from a healthy patient and one from one of the MPS patients. The proportion between coronoid process and condylar process is different: the MPS mandible has a higher coronoid process and condylar resorption. Such alterations along with the open bite might be implicated in the chewing difficulty reported.

The mirroring and superimposition technique has been used to evidence asymmetric rates of mandibular growth in craniofacial microsomia.⁵ Based on 3D imaging and superimposition (Figure 4), we observed no evident asymmetry in the patient with MPS investigated, comparing right and left sides, although relevant manifestations of craniofacial disorders were evidenced by the 3D evaluations, contributing to understanding of the characteristics of late-diagnosed and treated MPS-II patients. The findings highlight the importance of early diagnosis and special treatment for this group of patients.

Conclusion

Tomographic 3D imaging and superimposition are precise and adequate methods to describe specific changes in oral and craniofacial displacements observed in MPS-II patients: total open bite, wide arches, evident antegonial notch, narrow mandible body in the region of the antegonial notch, bilateral severe condylar resorption and increased coronoid processes. The present cases report clinically found thick lips, macroglossia, class III malocclusion with multiple

diastemas, flaring of anterior teeth and poor oral hygiene reflected by gingival bleeding and dental calculus.

References

1. Giugliani R, Villarreal ML, Valdez CA, Hawilou AM, Guelbert N, Garzón LN, Martins AM, Acosta A, Cabello JF, Lemes A, Santos ML, Amartino H. Guidelines for diagnosis and treatment of Hunter Syndrome for clinicians in Latin America. *Genet Mol Biol.* 2014;37(2):315-329.
2. Ribeiro EM, Fonteles CSR, Freitas AB, Alves KSS, Monteiro AJ, da Silva CAB. A clinical multicenter study of orofacial features in 26 Brazilian patients with different types of mucopolysaccharidosis. *Cleft Palate Craniofac J.* 2015; 52(3):352-358.
3. Antunes LAA, Nogueira APB, Castro GF, de Souza IPR. Dental findings and oral health status in patients with mucopolysaccharidosis: a case series. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71:157-167.
4. Cavaleiro RMS, Pinheiro MGR, Pinheiro LR, Tuji FM, Feio PSQ, de Souza ICN, Feio RHF, de Almeida SC, Schwartz IVD, Giugliani R, Pinheiro JJ, Santana-da-Silva LC. Dentomaxillofacial manifestations of mucopolysaccharidosis VI: clinical and imaging findings from two cases, with an emphasis on the temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013; 116 (2):e141-e148.
5. Solem RC, Ruellas A, Miller A, Kelly K, Ricks-Oddie JL, Cevidanes L. Congenital and acquired mandibular asymmetry: mapping growth and remodeling in 3 dimensions. *Am J Orthodont.* 2016; 150(2):238-251.
6. Ruellas ACO, Yatabe MS, Souki BQ, Benavides E, Nguyen T, Luiz RR, Franchi L, Cevidanes LHS. 3D mandibular superimposition: comparison of regions of reference for voxel-based registration. *PLoS One.* 2016; 11(6):e0157625. doi: 10.1371/journal.pone.0157625
7. Cevidanes LH, Styner M, Proffit WR. [Three-dimensional superimposition of the skull base for the longitudinal evaluation of the effects of growth and of treatment]. *Orthod Fr.* 2009; 80(4):347-357. doi: 10.1051/orthodfr/2009021. PMID: 19954732
8. Anekar J, Narayanan DC, Raj AC, Sandeepa NC, Nappalli D. A rare case of mucopolysaccharidosis: Hunter syndrome. *J Clin Diagn Res.* 2015; 9(4):ZD23-ZD26.

9. Alpöz AR, Çoker M, Çoker E, Ersin NK, Gökçen D, Diggelenc OPV, Huijmansc JGM. The oral manifestations of Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis VI): a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101:632-637.
10. Brooks DA, Gibson GJ, Karageorgos L, Hein LK, Robertson EF, Hopwood JJ. An index case for the attenuated end of the mucopolysaccharidosis type VI clinical spectrum. *Mol Genet Metab.* 2005; 85(3):236-238.
11. Kantaputra PN, Kayserili H, Güven Y, Kantaputra W, Balci MC, Tanpaiboon P, Uttarilli A, Dalai A. Oral manifestations of 17 patients affected with mucopolysaccharidosis type VI. *J Inherit Metab Dis.* 2014; 37:263-268.
12. Torres RO, Pintor AVB, Guedes FR, Freitas-Fernandes LB, Barth AL, Horovitz DDG, de Souza IPR. Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report. *Special Care in Dentistry.* 2018 [Epub ahead of print] Article DOI: 10.1111/scd.12260.
13. Proffit, W. R. Equilibrium theory revisited: factors influencing position of the teeth. *Angle Orthod* 1978. 48:175–186.
14. Hitoshi Hotokezaka, Takemitsu Matsuo, Maki Nakagawa, Akio Mizuno, and Kazuhide Kobayashi (2001) Severe Dental Open Bite Malocclusion With Tongue Reduction After Orthodontic Treatment. *The Angle Orthodontist*: June 2001, Vol. 71, No. 3, pp. 228-236.

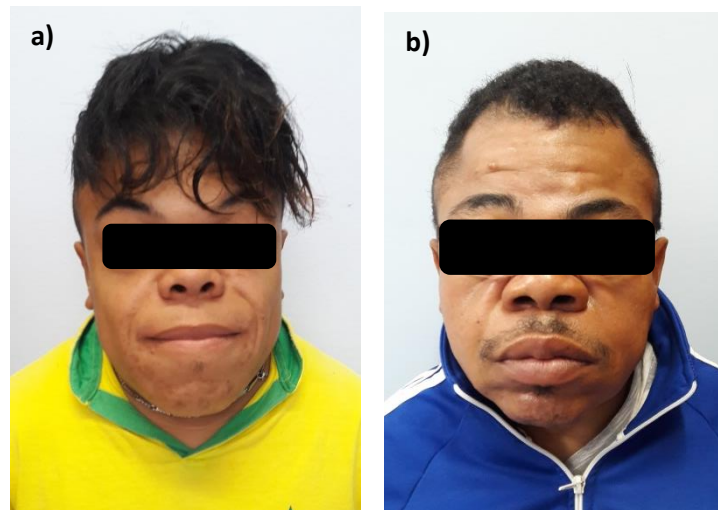


Figure 1: Facial characteristics of the MPS II patients: a) patient 1, b) patient 2.

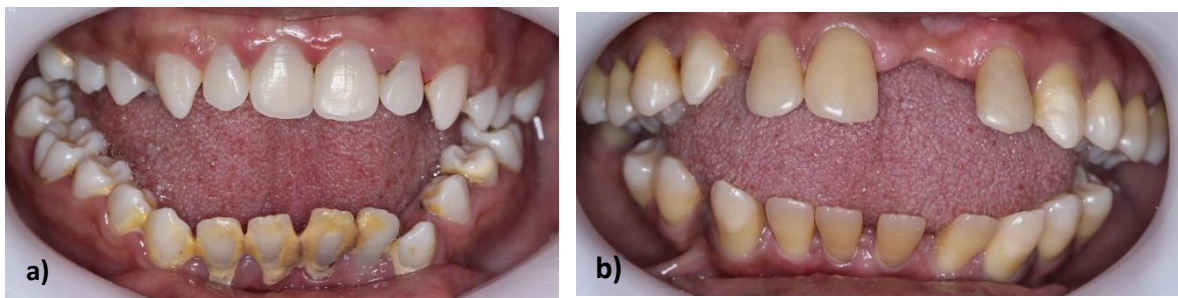


Figure 2: Intra-oral view: a) frontal view of patient 1, b) frontal view of patient 2.

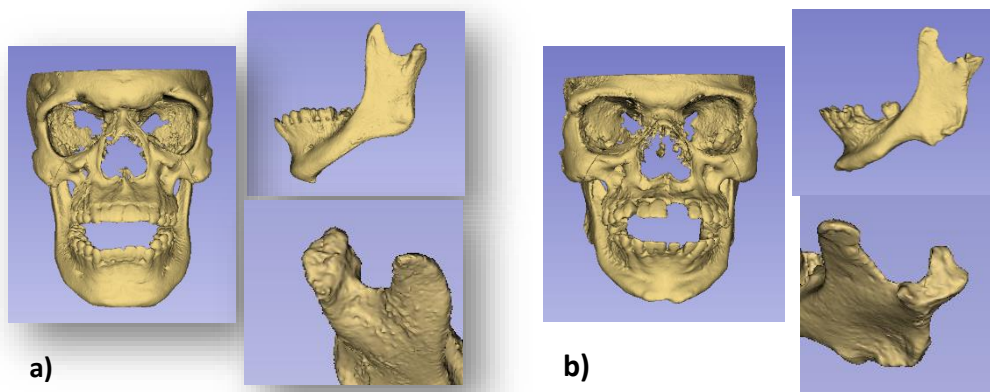


Figure 3: 3D surface models obtained from the CBCT of the 2 patients with MPS; a) patient 1 and b) patient 2.

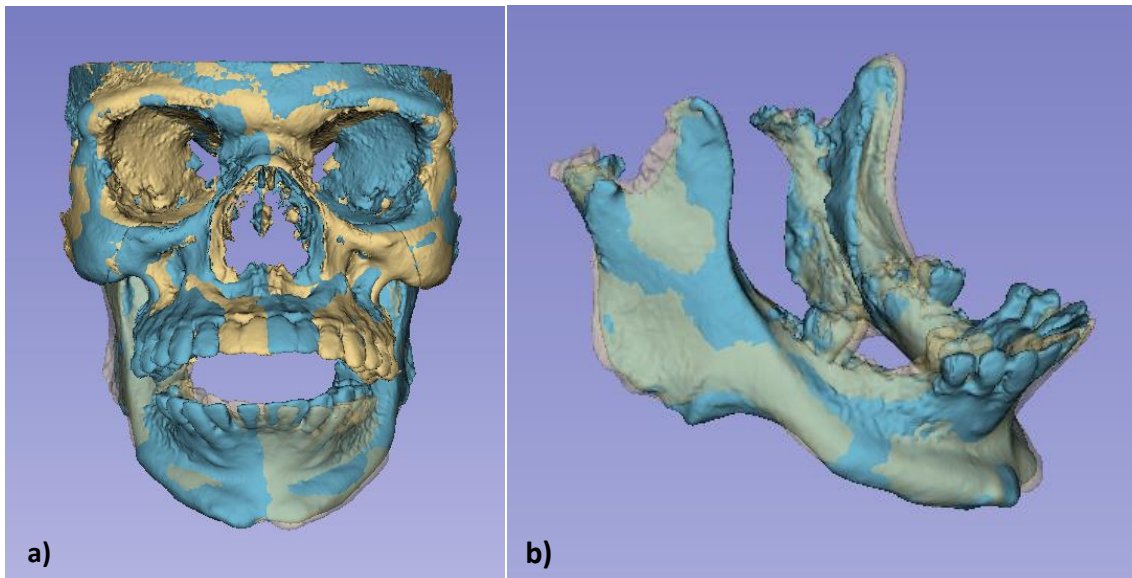


Figure 4: 3D voxel based registration of patient 2 used for image analysis: yellow, original 3D surface model; blue, mirrored 3D surface model; a) cranial base superimposition; b) mandibular superimposition.

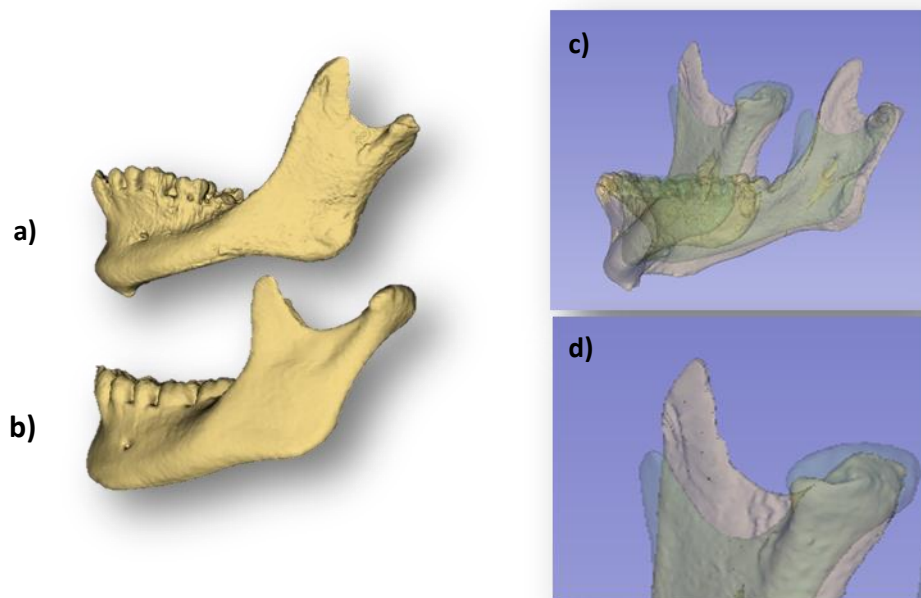


Figure 5: a) 3D reconstruction of patient 1 with MPS-II; b) 3D reconstruction the mandible of normal patient; c,d) 3D overlapping (best fit superimposition) of two mandibles with similar lengths: MD from a healthy patient (green) and from patient 1 with MPS (yellow).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na amostra estudada, a maioria dos pacientes com MPS dos tipos I, II, IV e VI apresentou baixa prevalência de lesões cáries, mesmo apresentando fatores de risco reconhecidamente associados à doença cárie. Dentre esses, observamos: limitação da coordenação motora devido à presença de comprometimento nas articulações, o que dificulta o autocuidado; consumo de alimentos cariogênicos e maloclusão. A prevalência de cárie em pacientes com mucopolissacaridose é controversa. (MCGOVERN ET AL., 2010; ANTUNES ET AL., 2013; RIBEIRO ET AL., 2015; PONCIANO ET AL., 2015; RUY CARNEIRO ET AL., 2017). Assim como no presente estudo, a maior prevalência de cárie foi observada na dentição decídua comparada à dentição permanente em pacientes com MPS (MCGOVERN ET AL., 2010), embora ANTUNES *et al.*, (2013) não tenham observado essa diferença. A alta prevalência de cárie encontrada foi justificada por Ponciano et al. (2015) como decorrente do baixo fluxo salivar e pH ácido em comparação ao grupo controle. Ademais, esses autores encontraram redução da concentração do íon cálcio salivar e aumento da concentração do íon fosfato na saliva de portadores de MPS. Essas alterações podem estar associadas não somente a fatores genéticos, mas também às drogas utilizadas no tratamento (NEDERFORS ET AL., 2004; PONCIANO ET AL., 2015). Novos estudos devem ser realizados para elucidar a expressão da doença cárie nesses pacientes.

Outra relevante alteração bucal encontrada nos pacientes com MPS foram os agravos periodontais: gengivite, sangramento gengival e presença de cálculo dental. Essas alterações são reflexos das limitações, quanto ao autocuidado, encontradas em pacientes com MPS (RUY CARNEIRO ET AL., 2017). Neste estudo, a maioria dos pacientes nunca havia recebido tratamento odontológico e nem instruções de higiene oral individualizada. Estudos prévios relataram a presença de alteração periodontal sugerindo a necessidade de tratamento e acompanhamento odontológico de rotina (ANTUNES ET AL., 2013; RIBEIRO ET AL., 2015; TORRES ET AL., 2018). A hiperplasia gengival fibromatosa foi relatada em alguns estudos (RIBEIRO ET AL., 2015; STRAKA ET AL., 2016) com identificação no nível celular de acúmulo de GAGs no citoplasma e na matriz

extracelular de biópsias gengivais de pacientes portadores de MPS-II (STRAKA ET AL., 2016).

Além das alterações bucais, os pacientes com MPS apresentam múltiplas alterações sistêmicas (VIEIRA ET AL., 2008; GIUGLIANI ET AL., 2015) necessitando de tratamento multidisciplinar, além de cuidados especiais por parte dos responsáveis/cuidadores. Culturalmente no Brasil, as mães são os cuidadores principais e assim foi avaliada a associação entre o Senso de Coerência (SOC) dessas e a condição de saúde bucal de seus filhos portadores de MPS em comparação a daquelas com filhos saudáveis (RUY CARNEIRO ET AL., 2017). O SOC é uma ferramenta usada para avaliar como os indivíduos enfrentam situações de estresse/adversidade e se mantêm saudáveis. A escala varia de 13 (extremo negativo) a 65 (extremo positivo) (ANTONOVSKY, 1993). Os dados mostraram que mães de filhos com MPS apresentaram SOC menor (33.3 ± 4) que aquelas com filhos saudáveis (36.9 ± 4.5) e ainda menor quando associado à presença de cárie em seus filhos (31.5 ± 3.2) ($p < 0,001$).

Outrossim, quando a capacidade de resiliência dos cuidadores frente as demandas dos pacientes com MPS, foi avaliada por diferentes ferramentas (CARVER, 1997; STREISAND, 2001), a aceitação foi a estratégia mais frequente em relação ao manejo da doença ($p < 0,05$). Embora quando informados sobre o curso da doença e a possibilidade da manifestação das alterações, a negação tenha aumentado ($p = 0,02$) (SCHADEWALD ET AL., 2018). Na amostra estudada, apesar de não terem sido investigados estes fatores, percebemos que os cuidadores demonstraram acolhimento e dedicação aos pacientes, muitas vezes evidenciada pela superproteção aos mesmos. Ao mesmo tempo, observamos cooperação e suporte emocional/físico entre os cuidadores de diferentes pacientes criando assim uma rede de colaboração auxiliar no enfrentamento da doença.

Na literatura foi relatado que os pacientes com MPS apresentaram uma perda da qualidade de vida e suas famílias empregaram tempo e recursos nos cuidados a esses pacientes (PÉNTEK ET AL., 2016). Na Europa, o tempo médio estimado nos cuidados informais executados pelos cuidadores é de 51,3

horas/semana. Enquanto o custo anual por paciente referente ao ano de 2012 foi de €24.520 na Hungria, €25.993 na França, €84.921 na Itália, €94.384 na Espanha e €209.420 na Alemanha, sendo observado que os custos foram diferentes para crianças e adultos (PÉNTEK ET AL., 2016). Em adultos a maior parte dos gastos foi relacionada aos medicamentos, consultas médicas, material de saúde e cuidados diretos, enquanto em crianças, medicamentos, as consultas, as internações e os cuidados diretos foram mais onerosos (PÉNTEK ET AL., 2016). No Brasil, dados precisos quanto aos custos relacionados ao tratamento de MPS não estão disponíveis embora se estime que também sejam elevados.

A despeito dos elevados custos, é importante ressaltar que o tratamento é fundamental para alterar positivamente o curso da doença, aumentando assim a longevidade desses pacientes. Em um estudo que avaliou pacientes com MPS-II, se concluiu que o tratamento com a reposição enzimática foi associado ao aumento da sobrevida. A média de sobrevida dos pacientes tratados foi de 33 anos e naqueles que não receberam tratamento, 21 anos (BURTON ET AL., 2017).

Percebemos durante o estudo, as dificuldades no tratamento dos pacientes com MPS, visto que se trata de uma doença rara, com alta mortalidade, com diversas manifestações sistêmicas e bucais que culminam na alta complexidade do seu manejo. Novos estudos deverão ser realizados para a maior compreensão da dinâmica metabólica da doença nas alterações bucais e salivares utilizando novas tecnologias como a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, a qual se mostrou promissora neste estudo.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados é válido concluir que pacientes com mucopolissacaridose apresentaram diversas manifestações bucais e foram encontradas diferenças quanto aos metabólitos salivares de baixo peso molecular frente a paciente saudável.

No que tange às demais proposições:

- Pacientes com mucopolissacaridose apresentaram as seguintes manifestações clínicas bucais: macroglossia, gengivite, maloclusão, retenção prolongada de dente decíduo, dentes inclusos e baixa prevalência cárie dentária. A macroglossia e o transpasse horizontal acentuado foram associados respectivamente aos tipos de MPS II e VI.
- Foram encontradas evidências de diferença nos metabólitos salivares de baixo peso molecular, verificadas através de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, entre o perfil salivar de um paciente saudável e de paciente com MPS.
- As manifestações bucais e craniofaciais encontradas em um paciente com MPS-II diagnosticado e transplantado 70 dias após o nascimento foram: macroglossia, mordida cruzada posterior, apinhamento, atraso na erupção, retenção de dentes decíduos, hipoplasia de esmalte, dentes posteriores com raízes curtas e alongamento dos processos estiloide bilateralmente.
- Em pacientes com MPS-II com diagnóstico tardio foram observadas manifestações craniofaciais acentuadas: mordida aberta total, arcos dentários expandidos, severa hipoplasia condilar, processos coronoides aumentados além de macroglossia e maloclusão do tipo classe III.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida PA, Fidalgo TKS, Freitas-Fernandes LB, Almeida FCL, Souza IPR, Valente AP. Salivary metabolic profile of children and adolescents after hemodialysis. *Metabolomics*, 2017; 13:141.

Antonovsky H, Sagy S. The development of a sense of coherence and its impact on responses to stress situations. *J. Soc Psychol* 1993; 126:213-225.

Antunes LAA, Nogueira APB, Castro GF, Ribeiro MG, Souza IPR. Dental findings and oral health status in patients with mucopolysaccharidosis: a case series. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2013; 71: 157–167.

Bach, G. *et al.* The defect in the hunter syndrome: deficiency of sulfiduronate sulfatase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, Washington, 1973; v.70, n. 7, p. 2134-2138.

Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, Miebach E, Bajbouj M, Whybra C, Kohlschütter A, Kampmann C, Beck M. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inherit Metab Dis.* 2005; 28(6):1011-7.

Bertram, H. C., N. Eggers, *et al.* Potential of human saliva for nuclear magnetic resonance-based metabolomics and for health-related biomarker identification. *Anal Chem* 2009; 81(21): 9188-9193.

Burton B.K, Jago V, Mikl J, Jones S.A. Survival in idursulfase-treated and untreated patients with mucopolysaccharidosis type II: data from the Hunter Outcome Survey (HOS). *J Inherit Metab Dis.* 2017; 40: 867-874.

Carver, C.S. You want to measure coping but your protocol's too long: consider the brief COPE. *Int J Behav Med* 1997; 4(1):92–100.

Castagnola, *et al.*, Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *ACTA otorhinolaryngologica italica*; 31:347-357. 2011.

Cho SY, Sohn YB, JinDK. An overview of Korean patients with mucopolysaccharidosis and collaboration through the Asia Pacific MPS Network. *Intractable & Rare Diseases Research.* 2014; 3(3):79-86.

De Oliveira LR, Martins C, Fidalgo TK, Freitas-Fernandes LB, Torres RO, Soares AL, Almeida FC, Valente AP, de Souza IP. Salivary Metabolite Fingerprint of Type 1 Diabetes in Young Children. *J Proteome Res.* 2016; Aug 5;15(8):2491-9.

Giugliani R, Baldo G, Vairo F, Lujan Lopez M, Matte U. The Latin American School of Human and Medical Genetics: promoting education and collaboration in genetics and ethics applied to health sciences across the continent. *J Community Genet.* 2015; Jul;6(3):189-91.

Guven G, Cehrele ZC, Altun C, Sençimen M, Ide S, Bayari SH, Karaçay S. Mucopolysaccharidosis type I (Hurley syndrome): oral and radiographic findings

and ultrastructural/chemical features of enamel and dentin. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*.2008;105(1):72-8.

Kantaputra PN, Kayserili H, Güven Y, Kantaputra W, Balci MC, Tanpaiboon P, Uttarilli A, Dalal A. Oral manifestations of 17 patients affected with mucopolysaccharidosis type VI. *J Inher Metab Dis*. 2014; 37:263–268.

Lehman TJ, Miller N, Norquist B, Underhill L, Keutzer J. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50(Suppl 5):v41–v48. doi: 10.1093/rheumatology/ker390.

McGovern E, Owens L, Nunn J, Bolas A, Meara AO, Fleming P. Oral features and dental health in Hurler Syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Paediatr Dent*. 2010 Sep 1;20(5):322-9. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01055.x. Epub 2010 Jun 2.

Nederfors T, Nauntofte B, Twetman S. Effects of furosemide and bendroflumethiazide on saliva flow rate and composition. *Arch Oral Biol*. 2004 Jul;49 (7):507-13.

Nelson J, Crowhurst J, Carey B, Greed L. Incidence of the Mucopolysaccharydoses in Western Australia. *American Journal of Medical Genetics* 2003; 123A:310-313.

O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972; 43:38.

Péntek M, Gulácsi L, Brodszky V, Baji P, Boncz I, Pogány G, López- Bastida J, Renata Linertová R, Oliva-Moreno J, Serrano-Aguilar P, Posada-de-la-Paz M, Taruscio D, Iskrov G, Schieppati A, Graf von der Schulenburg J, Kanavos P, Chevreur K, Persson U, Fattore G. Social/economic costs and health-related quality of life of mucopolysaccharidosis patients and their caregivers in Europe. *Eur J Health Econ* (2016) 17 (Suppl 1):S89–S98

Piotto G, M., V. Saudek, *et al*. Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. *J Biomol NMR*. 1992; .2(6): 661-665.

Ponciano S, Areias C, Leão-Teles E, Sampaio-Maia B. Hyposalivation, acidic saliva, decayed teeth and oral yeast prevalence in children with mucopolysaccharidosis. *MedicalExpress (São Paulo, online)* 2015; October; 2(5):M150502.

Ribeiro EM, Fonteles CSR, Freitas AB, Alves KSS, Monteiro AJ, da Silva CAB. A clinical multicenter study of orofacial features in 26 Brazilian patients with different types of mucopolysaccharidosis. *Cleft Palate Craniofac J*. 2015; 52(3):352-358.

Ruellas ACO, Ghislanzoni LTH, Gomes MR, Danesi C, Lione R, Nguyen T, McNamara Jr JÁ, Cozza P, Franchi L, Cevidanes LHS. Comparasion and reproducibility of 2 regions of reference for maxillary regional registration with

cone-beam computed tomography. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. Vol 149. Issue 4. April 2016, 533-542.

Ruy Carneiro NC, Duda Deps T, Campos França E, Ribeiro Valadares E, Almeida Pordeus I, Borges-Oliveira AC. Oral health of children and adolescents with mucopolysaccharidosis and mother's Sense of Coherence. *Spec Care Dentist*. 2017 Sep;37(5):223-229. doi: 10.1111/scd.12238. Epub 2017 Oct 8.

Sarmiento DJS, de Carvalho SHG, Melo SLS, Fonseca FRA, Diniz DN, Bento PM, Mesquita GQTB, de Melo DP. Mucopolysaccharidosis: radiographic findings in a series of 16 cases. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*. 2015; 120(6):240-245.

Schadewald A, Kimball E, Ou L. Coping Strategies, Stress, and Support Needs in Caregivers of Children with Mucopolysaccharidosis. *JIMD Report*. 2018.

Schwartz, IV; Matte, US; Leistner, S; Giugliani, R. Mucopolissacaridoses. In: Carakuschanki G. *Doenças genéticas em pediatria*. 2001; 1^o edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. p. 180-184.

Silwood, C. J., E. Lynch, ET AL. ¹H and (13) C NMR spectroscopic analysis of human saliva. *J Dent Res* 2002; 81(6): 422-427.

Straka Michal, Danišovič Ľuboš , Bzdúch Vladimír , Polák Štefan , Varga Ivan. The significance of electron microscopic examination of gingiva in cases of Hunter syndrome and hereditary gingival fibromatosis. *Neuroendocrinology Letters* 2016; Volume 37(5): 353-360.

Streisand R, Braniecki S, Tercyak KP, Kazak AE. Childhood illness-related parenting stress: the pediatric inventory for parents. *J Pediatr Psychol* 2001; 26(3):155–162.

Torres RO, Pintor AVB, Guedes FR, Freitas-Fernandes LB, Barth AL, Horovitz DDG, de Souza IPR. Oral and craniofacial manifestations in a Hunter syndrome patient with hematopoietic stem cell transplantation: A case report. *Special Care in Dentistry*. 2018 [Epub ahead of print] Article DOI: 10.1111/scd.12260.

Vieira T, Schwartz I, Munõz V, Pinto L, Steiner C, Ribeiro M, Boy R, Ferraz V, de Paula A, Kim C, Acosta A, Giugliani R. Mucopolysaccharidoses in Brazil: What Happens From Birth to Biochemical Diagnosis? *American Journal of Medical Genetics Part A* 2008; 146A:1741–1747.

Wang J, Luan Z, Jiang H, Fang J, Qin M, Lee V, Chen J. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thirty-Four Pediatric Cases of Mucopolysaccharidosis-A Ten-Year Report from the China Children Transplant Group. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Nov; 22(11):2104-2108.

World Health Organization. 5th ed. Geneva:WHO; 2013. *Oral Health Surveys Basic Methods*;pp 83-118.

Zhang A., Sun H., Wang X. Saliva Metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis and treatment. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2012; 168(6):1718-1727.

ANEXO 1

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
/HUCFF/ UFRJ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PERFIL SALIVAR E CONDIÇÕES BUCAIS DE PACIENTES PORTADORES DE MUCOPOLISSACARIDOSE

Pesquisador: Rafaela de Oliveira Torres

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 56788816.1.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO
FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.615.749

Apresentação do Projeto:

Protocolo 149-16. Respostas recebidas em 24.6.2016.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_722316.pdf	24/06/2016 12:05:40		Aceito
Outros	CartaResposta.docx	24/06/2016 12:01:49	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeConsentimentoLivreeEsclarecido2.docx	24/06/2016 12:01:21	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeConsentimentoLivreeEsclarecidoEditado.docx	24/06/2016 12:01:05	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeAssentimento.docx	24/06/2016 12:00:53	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Ausência	TermodeAssentimento.docx	24/06/2016 12:00:53	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeAssentimentoEditado.docx	24/06/2016 12:00:38	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo.docx	24/06/2016 11:59:29	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Outros	cartadeapresentacodaequipe.doc	06/06/2016 16:38:23	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Outros	folhaDeRosto.pdf	06/06/2016 16:22:17	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Outros	CartadeApresentacaoPdf.pdf	02/06/2016 18:52:12	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Outros	TermodeResponsabilidade.pdf	02/06/2016 18:50:10	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Outros	link_curriculumlattes_pesquisadores.doc	02/06/2016 18:48:11	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuencia.pdf	02/06/2016 18:44:59	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	02/06/2016 18:42:05	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	19/05/2016 17:31:10	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	19/05/2016 17:26:27	Rafaela de Oliveira Torres	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RIO DE JANEIRO, 28 de Junho de 2016

Assinado por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

APÊNDICE 1



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezados,

A Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro está realizando um estudo sobre saúde bucal de pacientes com uma doença genética (mucopolissacaridose) e também pacientes saudáveis. Para isso, será realizada uma entrevista com o responsável pelo participante a fim de preencher um formulário. No indivíduo com a doença genética será feita uma consulta caso necessário ao prontuário médico do mesmo no IPPMG/IFF/UERJ. Em todos os participantes serão feitos exames da cavidade bucal e coleta de saliva. O dentista vai examinar como está a boca do participante e observar todos os dentes. Depois vai coletar saliva até conseguirmos um pouco de saliva.

Os participantes receberão instrução de higiene bucal, assim como uma escova e pasta de dente com flúor. Os exames e a instrução de higiene serão realizados na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia/UFRJ. Caso seja necessário, serão realizadas fotografias e radiografias, sempre preservando o anonimato do paciente.

A coleta dos dados não trará qualquer prejuízo para a saúde dos participantes, sendo estas informações mantidas em sigilo e usadas apenas pelos pesquisadores. Os dados ficarão sob a guarda da pesquisadora responsável durante 5 anos. A participação é voluntária. Caso o responsável pelo participante e/ou o próprio paciente desista de participar do trabalho, os autores se comprometem a não utilizar seus dados, bastando para tanto, informar a autora deste trabalho.

Aqueles participantes que, durante o exame da cavidade bucal, apresentarem necessidade de tratamento odontológico serão agendados para atendimento na Clínica de Odontopediatria da FO/UFRJ.

Qualquer dúvida ou informação poderá ser fornecida pela pesquisadora responsável, Dra. Rafaela Torres, através do telefone (21)2562-2101 ou no endereço Faculdade de Odontologia/Departamento de Odontopediatria, R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, Cidade Universitária/RJ. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone 3938-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 16 horas, ou por meio do e-mail: cep@hucff.ufrj.br. Caso seja de interesse do participante, os resultados lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a pesquisadora Rafaela Torres, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na última folha.

Nome do Participante da Pesquisa

Assinatura do Participante da Pesquisa

Data ____/____/____

Nome do representante legal

Assinatura do representante legal

Data: ____/____/____

Rafaela de Oliveira Torres

Assinatura do Pesquisador Responsável

Data: ____/____/____



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

TERMO DE ASSENTIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa. Antes de decidir se quer participar, é importante que você entenda porque o estudo está sendo feito. Se você vai participar na pesquisa, seus pais/responsáveis também terão que aceitar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais quiserem. Você pode discutir qualquer coisa deste formulário com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sentir a vontade de conversar. Não é preciso decidir agora. Pode ter algumas palavras que não entenda ou coisas que você quer que eu explique mais detalhadamente porque você ficou mais interessado ou preocupado. Por favor, peça que pare a qualquer momento que eu explicarei. Não tenha pressa de decidir se deseja ou não participar deste estudo. Obrigado por ler este material!

A Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro está fazendo um estudo sobre saúde bucal de pacientes com uma doença genética (mucopolissacaridose) e também pacientes saudáveis. Para isso, será realizada uma entrevista com seu responsável para preencher um formulário. Nos pacientes com a doença será feita uma consulta ao prontuário médico no IPPMG/IFF/UERJ. O dentista vai examinar como está sua boca e observar todos os dentes. Depois vai coletar saliva até conseguirmos um pouco de saliva.

Seus responsáveis e vocês receberão instruções de como limpar os dentes, assim como uma escova e pasta de dentes. Os exames e a explicação da limpeza da boca serão realizados na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFRJ. Caso seja preciso, serão realizadas fotografias, sempre preservando seu anonimato.

A coleta dos dados não trará qualquer prejuízo para sua saúde, sendo estas informações mantidas em segredo e usadas apenas por mim. Os dados ficarão sob minha guarda durante 5 anos. Aqueles pacientes que, durante o exame, tiverem necessidade de tratamento no dentista serão marcados para atendimento na Clínica de Odontopediatria da FO/UFRJ.

Se decidir participar, você receberá esta folha de informações para guardar e deverá assinar um termo de assentimento. Você não tem que estar nesta pesquisa. Ninguém estará furioso ou desapontado com você se você disser não, a escolha é sua. Você pode pensar nisto e falar depois se você quiser. Você pode dizer "sim" agora e mudar de ideia depois e tudo continuará bem. Isso não mudará os cuidados que você recebe.

Este estudo foi revisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, formado por um grupo que se reúne para avaliar os projetos e garantir que os mesmos não trazem nenhum dano aos participantes das pesquisas. Qualquer dúvida ou informação poderá ser dada pela

pesquisadora responsável, Dra. Rafaela Torres, através do telefone (21)2562-2101 ou no endereço Faculdade de Odontologia/Departamento de Odontopediatria, R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, Cidade Universitária/RJ. Se você tiver alguma ideia ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone 3938-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 16 horas, ou por meio do e-mail: cep@hucff.ufrj.br. Caso seja de interesse seu, os resultados lhes serão enviados tão logo a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

Nenhum incentivo ou recompensa financeira está previsto pela sua participação neste estudo de pesquisa clínica. Se houver a necessidade de se locomover até o local da pesquisa, seus gastos com transporte e alimentação serão reembolsados mediante apresentação de recibos. Obrigado por ler estas informações. Se quiser participar deste estudo, assine este Termo e devolva-o ao dentista do estudo. Você deve guardar uma cópia. Eu, _____, meu responsável se chama, _____, fui informado sobre as informações do estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a Dra. Rafaela Torres quanto a minha participação nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos sempre. Ficou claro também que a participação é de graça e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário. Concordo voluntariamente com minha participação neste estudo, e sei que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou problemas e sem a perda de atendimento nesta faculdade ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Assentimento e a outra ficará com a Dr. Rafaela. Além disso, sei que terei que rubricar todas as páginas e assinar à última.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2016.

Assinatura do Participante

Assinatura do Responsável

Rafaela de Oliveira Torres
Mestranda em Odontopediatria – FO/UFRJ
Pesquisadora responsável

APÊNDICE 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

Data: ___/___/___

Nome: _____ Cód.: _____

Endereço: _____

_____ CEP: _____

Telefone: (___) _____ Celular: (___) _____

Data de Nascimento: ___/___/___ Sexo: F () / M ()

Filiação: _____

IPPMG () / IFF () / FO () nº: _____

Condição Sistêmica:

1. Apresenta algum comprometimento sistêmico? Qual?

2. Quando foi diagnosticado? _____

3. Condição médica _____

4. Há histórico de ocorrência de complicações relacionado à MPS?

5. Costuma apresentar alguma sintomatologia?

6. Histórico Familiar:

7. Tipo de Tratamento:

8. Medicação:

Hábitos Alimentares:

1. Aleitamento natural; aleitamento artificial _____ Horário: _____

2. Legumes, verduras, arroz, feijão, massas, carnes, frango.

3. Pão, biscoito, doce, salgado, pizza, hambúrguer.
4. Bala, chocolate, pirulito, chiclete _____ Frequência: _____

Hábitos de Higiene Bucal

1. A criança costuma fazer higiene bucal? () Não () Às vezes () Sim
Frequência: _____
2. Como é realizada a higiene bucal da criança? () Escova () Gaze () Dedeira
() Fio dental () Pasta de dente _____ () Bochechos
3. Quem faz a higiene bucal da criança? _____
4. Com que idade começou a fazer a higiene bucal da criança? _____
5. Já recebeu orientação sobre higiene bucal da criança? () Não () Sim Por quem? _____
6. Alguém já recomendou levar seu filho ao dentista? () Nunca () Sim Quem? _____
7. Já recebeu da equipe médica algum tipo de orientação quanto à saúde bucal? () Não () Sim Quem? _____

História Odontológica

1. A criança já foi ao dentista? () Sim () Não
2. Com que idade foi à primeira consulta dentária? _____
3. Qual foi o motivo da visita ao dentista? () Convite da pesquisadora () Dor de dente () Problemas de gengiva () Limpeza () Dentes manchados () Cárie () Extrair dente () Flúor () Outros
4. Tipo de tratamento odontológico já realizado? () não sabe () restauração () remoção de tártaro () limpeza () extração dentária () tratamento de canal () flúor
5. Qual a última vez que foi ao dentista?

6. Já houve alguma intercorrência durante o tratamento odontológico () Não () Sim Qual? _____
7. Com que idade começou a nascerem os dentes de leite?

Critério de Classificação Econômica Brasil/2008

Posse de itens

<i>Item</i>	Quantidade de Itens				
	0	1	2	3	4
Televisão em cores	0	1	2	3	4
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	4	5	6	7
Automóvel	0	4	7	9	9
Empregada Mensalista	0	3	4	4	4
Máquina de lavar	0	2	2	2	2
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	4	4	4	4
Freezer (independente da geladeira)	0	2	2	2	2

Grau de instrução do Chefe de Família:

Analfabeto/ até 3ª série fundamental	0
4ª série fundamental	1
Fundamental completo	2
Médio completo	4
Superior completo	8

Classificação Econômica: _____

Classe	Pontos
A1	42 - 46
A2	35 - 41
B1	29 - 34
B2	23 - 28
C1	18 - 22
C2	14 - 17
D	8 - 13
E	0 - 7

Número de pessoas que moram na mesma casa: _____

Renda Familiar (salários): _____

APÊNDICE 3



Organização Mundial da Saúde

Formulário de Avaliação de Saúde Oral para Adultos de 2013

Deixar em Branco Dia Mês Ano Nº Identificação Orig/Dupl Examinador

Informações Gerais Sex 1=M 2=F Data de Aniversário Idade

(Nome)

Grupo Étnico Outros Grupos Anos na Escola Ocupação

Comunidade (Localização Geográfica) Localização Urbana(1) Periurbano (2) Rural (3)

Outros Dados _____

Outros Dados _____ Exame extra-oral _____

Estado da Dentição

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Coroa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Raiz	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Coroa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Raiz	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Dente Permanente

- 0 =Hígido
- 1=Cariado
- 2=Restaurado com cárie
- 3=Restaurado e sem cárie
- 4= Perdido devido à cárie
- 5= Perdido por outras razões
- 6=Apresenta selante
- 7=Apoio de ponte ou coroa
- 8= Não erupcionado
- 9= Dente excluído

Estado Periodontal (CPI Modificado)

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Sangramento	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Bolsa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Sangramento	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Bolsa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Sangramento Gengival

- 0=Ausência da condição
- 1=Presença da condição
- 9 =Dente extraído
- X =Dente ausente



Bolsa

- 0= Ausência da Condição
- 1= Bolsa 4-5mm
- 2=Bolsa de 6mm ou mais
- 9=Dente extraído/X=Dente ausente

Formulário de Saúde

Exame Oral para Crianças de 2013

Deixar em

Orig/Dupl Examinador

Informações Gerais

Sex 1=M 2=F Data de Aniversário Idade

(Nome)

Grupo Étnico

Outros Grupos

Anos na Escola

Ocupação

Comunidade (Localização Geográfica)

Localização Urbana(1) Periurbano (2) Rural (3)

Outros Dados

Outros Dados

Exame extra-oral

Dentes Decíduos

Estado da Dentição

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
Coroa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Coroa	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Dente Permanente

- 0 = Hígido
- 1= Cariado
- 2= Restaurado com cárie
- 3= Restaurado e sem cárie
- 4= Perdido devido à cárie
- 5= Perdido por outras razões
- 6= Apresente selante
- 7=Apoio de ponte ou coroa
- 8= Não erupcionado
- T=Trauma
- 9=Dente excluído

- A
- B
- C
- D
- E
- F
- G
- H
- K
- T
- L

Estado Periodontal

	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37

Sangramento Gengival

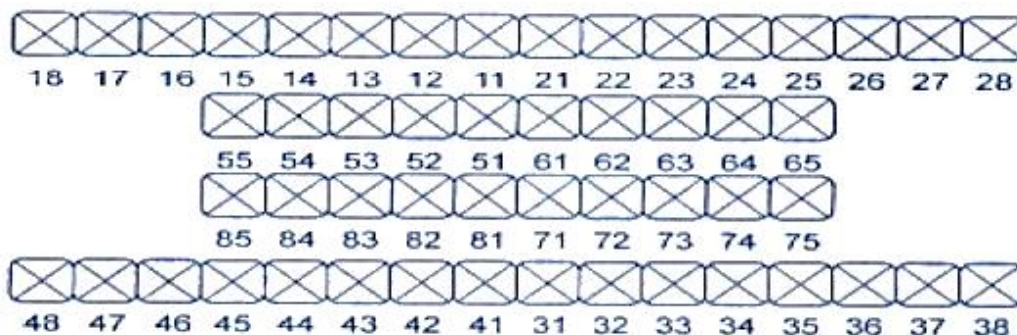
- 0=Ausência da condição
- 1=Presença da condição
- 9=Dente extraído
- X=Dente ausente

Trauma Dental

Estado Nº Dente

- 0= Sem sinal de injúria
- 1= Injúria tratada
- 2= Fratura apenas em esmalte
- 3= Fratura em esmalte e dentina
- 4= Envolvimento pulpar
- 5= Perda do dente devido ao trauma
- 6= Outro dano
- 9= Dente excluído

- ÍNDICE O'LEARY



- ALTERAÇÕES NOS TECIDOS MOLES:

- ALTERAÇÕES RADIOGRÁFICAS:

OCLUSÃO

- CLASSIFICAÇÃO DE ANGLE

Classe I () Classe II () Classe III ()

Apinhamento dentário () Mordida cruzada anterior () Mordida cruzada posterior ()

- TRESPASSE HORIZONTAL (Overjet)

Normal () Aumentado () Topo () Negativo ()

- TRESPASSE VERTICAL (Overbite)

Normal () Aumentado-mordida profunda () Moderado () Mordida aberta () Topo a Topo ()

