

**UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO**

**ANA GABRIELA SILVA ISCUISSATI**

**CRANBERRY (*VACCINIUM MACROCARPON*) JUICE  
REDUCES DENTIN EROSION IN VITRO**

BAURU  
2016

**ANA GABRIELA SILVA ISCUISSATI**

**CRANBERRY (*VACCINIUM MACROCARPON*) JUICE  
REDUCES DENTIN EROSION IN VITRO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Centro de Ciências da  
Saúde como parte dos requisitos para  
obtenção do título de bacharel em  
Odontologia, sob orientação da Profa.  
Dra. Melissa Thiemi Kato.

BAURU  
2016

Iscuissati, Ana Gabriela Silva

177c

Cranberry (*vaccinium macrocarpon*) juice reduces dentin erosion in vitro / Ana Gabriela Silva Iscuissati. -- 2016.

32f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Cranberry. 2. Erosão dentária. 3. Dentina. 4. MMPs.  
I. Kato, Melissa Thiemi. II. Título.



## ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em odontologia de Ana Gabriela Silva Iscuissati.

Ao dia vinte e oito de outubro de dois mil e dezesseis, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Ana Gabriela Silva Iscuissati intitulado: '**Cranberry (Vaccinum macrocarpon) juice reduces dentin erosion in vitro.**'. Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Melissa Thiemi Kato, Dra. Cíntia Maria de Souza e Silva e Ms. Bruno Lara Zarella. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, APROVÁ-LA, com a nota 10,0 a monografia. Para constar fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pelo Orientador e pelos demais membros da banca.

\_\_\_\_\_  
Dra. Melissa Thiemi Kato (Orientadora)

\_\_\_\_\_  
Dra. Cíntia Maria de Souza e Silva (Avaliador 1)

\_\_\_\_\_  
Ms. Bruno Lara Zarella (Avaliador 2)

Dedico este trabalho aos meus pais Jackson Filomeno Iscuissati e Maria Emilia Silva Iscuissati, à minha irmã Lia Fernanda Silva Iscuissati por terem me mostrado a importância de correr atrás de tudo o que almejamos e ao meu noivo, Luiz Felipe por todo o incentivo que me deu durante a graduação. Além dos profissionais envolvidos neste projeto principalmente à Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças para acreditar que tudo o que queremos podemos conseguir e ter fé no impossível.

Aos meus pais, por todo esforço que fizeram nos últimos quatro anos para que eu pudesse permanecer em uma das melhores universidades de odontologia, pelo sacrifício em que viveram nesse período para me ver formada e por serem meu pilar e proteção.

À minha irmã pelo apoio e paciência, por ter sido sempre meu espelho e referência.

Ao meu noivo por todo amor, paciência, conforto e consolo dedicados a mim durante os últimos anos.

Aos meus queridos padrinhos Junior e Roberta e aos meus avós Edward e Maria, pelo incentivo, visitas, caronas, entre outras ajudas durante esse período.

Aos meus sogros por terem me dado toda a ajuda no início da graduação.

Às minhas amigas, companheiras de casa e família de Bauru, Natália e Maria Fernanda, por terem me aguentado, aconselhado e apoiado sempre.

Às minhas queridas amigas e companheiras de sala, por sempre me ajudarem nos estudos, nos momentos estressantes e nos períodos de carência.

Aos queridos Bruno Lara Zarella e Karina Xavier pela ajuda durante os experimentos.

Por último, porém não menos importante, à minha orientadora Melissa Thiemi Kato, por ter confiado a mim sua pesquisa, acreditado no meu potencial de realizá-la, sempre me incentivando e motivando desde o primeiro ano da graduação.

## **AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS**

À Universidade do Sagrado Coração USC, representada pela digníssima reitora Profa. Irmã Susana de Jesus Fadel.

À Pró-Reitoria de Pesquisa, representada pela digníssima Pró-Reitora Sandra de Oliveira Saes.

À profa. Marília Buzalaf por ceder o laboratório de bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, FOB-USP como sede para o desenvolvimento da pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP; pelo apoio financeiro concedido em forma de bolsa IC (processo número 2014/03654-4) fundamental para a realização da minha iniciação científica.

“Se queremos um mundo de paz e de justiça, devemos pôr a inteligência a serviço do amor ”.  
(Antoine de Saint-Exupéry)

## RESUMO

Na dentina, a desmineralização erosiva resulta na exposição de uma camada de matriz orgânica desmineralizada (MOD), e que se preservada, pode servir de barreira difusora contra desafios erosivos subsequentes. A *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) na forma de suco da fruta, um produto natural rico em polifenóis, especialmente proantocianidinas, possui efeito inibitório sobre as metaloproteinases da matriz (MMPs) presentes na dentina e também na saliva. A inibição das MMPs, pela preservação da MOD tem sido relacionada com um potencial agente preventivo contra a erosão dentinária. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito do suco de Cranberry na redução do efeito erosivo de dentina num estudo *in vitro*. Para isso, blocos de dentina bovina (4X4X2 mm) foram randomizados e divididos em 4 grupos (n=15-17/grupo) de tratamentos: água destilada (C-controle, pH 7,2); solução de extrato de chá verde, contendo 400 µM de epigallo-catechin-gallate (EGCg, controle positivo, pH 4,5); 10% de extrato de cranberry (ECr, pH 3,9) e suco de Cranberry comercial (SCr, Cranberry Juxx<sup>®</sup>, pH 2,8). Os espécimes foram submetidos ao processo de desmineralização e remineralização durante 5 dias. Foram realizados 4 desmineralizações com ácido cítrico a 0,1% (90 s). Após os desafios ácidos, os espécimes eram enxaguados e mantidos nas soluções de tratamento por 1 min, ; depois disso, eram abundantemente enxaguados e estocados em saliva artificial por 1h a 37°C (ou à noite toda ao final de cada dia). Ao final da fase experimental de 5 dias, o desgaste dentinário foi avaliado por perfilometria de contato. Os dados analisados por ANOVA e Tukey (p<0,05). O desgaste dentinário (µm±DP) foi significativamente menor para todos os tratamentos (EGCg=9,93±2,90; ECr=12,10±5,44; SCr=11,04±5,70), comparados ao C (21,23±11,96), mas não diferiram entre si. Estes resultados indicam que o suco de Cranberry comercial, apesar do seu baixo pH, é capaz de reduzir a erosão da dentina, o que pode ser devido à capacidade do cranberry inibir as MMPs.

**Palavras-chave:** cranberry; erosão dentária; dentina; MMPs.

## ABSTRACT

In dentin, erosive demineralization results in the exposure of an outer layer of demineralized organic matrix (DOM), which, if preserved, can serve as a barrier against subsequent erosive challenges. *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) is a natural product that is rich in polyphenols, especially proanthocyanidins, which have an inhibitory effect on matrix metalloproteinases (MMPs) present in dentin and saliva. The inhibition of MMPs, which allows the preservation of the DOM, has been reported as a potential preventive tool against dentin erosion. The aim of this study was to analyze the effect of cranberry juice on the reduction of dentin erosion *in vitro*. Specimens of bovine dentin (4X4X2 mm) were randomized and divided into 4 groups of treatment (n = 15-17/group): distilled water (C-control, pH 7.2); green tea extract solution containing 400 µm epigallo-catechin-gallate (EGCg, positive control, pH 4.5); 10% cranberry extract (CrE, pH 3.9) and cranberry juice (CrJ, Cranberry Juxx™, pH 2.8). Specimens were submitted to an erosive pH cycling protocol during 5 days. Each day, four demineralizations were carried out with 0.1% citric acid (90 s). After the acid challenges, specimens were rinsed and kept in treatment solutions for 1 min; afterwards, they were abundantly rinsed and stored in artificial saliva for 1 h at 37°C (or overnight at the end of each day). After the experimental period of 5 days, dentin loss was evaluated by contact profilometry. Data were analyzed by ANOVA and Tukey's test (p<0.05). Dentin loss (µm±SD) was significantly lower for all treatments (EGCg=9.93±2.90; CrE=12.10±5.44; CrJ=11.04±5.70) compared to C (21.23±11.96), but they did not significantly differ from each other. These results indicate that the commercial cranberry juice, despite its low pH, is able to reduce dentin erosion, which might be due to the ability of the cranberry to inhibit MMPs.

**Key words:** cranberry; dental erosion; dentin; MMPs

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>OBJETIVO .....</b>	<b>14</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>	<b>16</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>16</b>
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>18</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>21</b>

**CRANBERRY (*VACCINIUM MACROCARPON*) JUICE REDUCES DENTIN EROSION *IN VITRO***

Ana Gabriela Silva ISCUISSATI<sup>1</sup>; Bruno Lara ZARELLA<sup>1, 2</sup>; Karina Xavier de SOUZA<sup>3</sup>,  
Marília Afonso Rabelo BUZALAF<sup>4</sup>; Melissa Thiemi KATO<sup>5</sup>

1- Student graduation, University of Sagrado Coração, Bauru, SP, Brazil.

2- PhD student, Bauru Dental School, University of São Paulo, Bauru, SP, Brazil.

3- Undergraduate, Ada Cariani Avalone, Bauru, SP, Brazil.

4- Full Professor, Discipline of Biochemistry, Department of Biological Sciences, Bauru Dental School, University of São Paulo, Bauru, SP, Brazil.

5- Full Professor, Discipline of Preventive Dentistry, Health Sciences Center, University of Sagrado Coração, Bauru, SP, Brazil.

**Corresponding address:** Melissa Thiemi Kato – Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Sagrado Coração. Rua Irmã Arminda, 10-50. Jardim Brasil, Bauru-SP, 17011-160, Brazil. Tel. + 55 14 2107-7340 E-mail: [thiemikato@gmail.com](mailto:thiemikato@gmail.com)

## **CRANBERRY (*VACCINIUM MACROCARPON*) JUICE REDUCES DENTIN EROSION *IN VITRO***

### **INTRODUCTION**

In recent decades, a reduction in the incidence of caries has been observed in developed countries<sup>21</sup>. Thus, people maintain their teeth for a longer period in their mouth, which leads to a higher risk of developing other types of lesions, such as dental erosion.

In dentin, erosive demineralization results in the exposure of an outer layer of fully demineralized organic matrix, followed by a partially demineralized zone until reaching the inner dentin<sup>15</sup>. The dentin demineralization rate decreases as the amount of degradable collagen increases. Therefore, the demineralized matrix is believed to hinder the ion diffusion into and out of the demineralization zone<sup>16,17</sup>. The dentin organic matrix can be degraded by the action of collagenases. The dentin matrix contains mainly type I collagen and the collagenases can degrade this matrix after demineralization<sup>25</sup>. The intact human dentin also contains other latent collagenases<sup>5</sup>, besides MMP-2 and -9<sup>20</sup>, that can degrade this dentin matrix. van Strijp<sup>26</sup> (2003) investigated the presence and activity of MMP-1, -2 and -9 in saliva and specimens of fully demineralized dentin; they found a correlation between these enzymes and the levels of collagen degradation. Furthermore, our research group has recently found that collagenase inhibitors, such as chlorhexidine, are able to reduce dentin wear after erosive challenges<sup>13</sup>.

Our research group verified that green tea was effective in reducing dentin wear when the dentin was subjected to erosion associated or not with abrasion<sup>14</sup>. Moreover, in another study, the addition of the green tea active ingredient, epigallocatechin-gallate polyphenol (EGCg), to a topical gel showed to be effective in preventing dentin erosive loss<sup>12,13</sup>. The possible explanation was that EGCg, being a polyphenol, acts as a natural inhibitor of matrix metalloproteinases (MMPs)<sup>6,10</sup>. The MMPs present in saliva or dentin hydrolyze the extracellular matrix components, such as the organic components present in the dentin matrix. Dentin contains about 18-20% of collagen, which, when preserved, can reduce the diffusion of acids<sup>9</sup>.

Due to this we hypothesized that *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry), a natural product that is rich in polyphenols, especially EGCg, also present in green tea, could have a preventive effect against dentin erosive loss. The juice has an acid pH (2.8), which could make it regarded as an erosive drink. However, the cranberry juice is already known by its preventive effect against urinary tract infections<sup>27</sup>, interruption of the critical stage of gastric ulcers<sup>30</sup>, inhibitory effect on the influenza virus adhesion and infectivity<sup>28</sup>, potential cardiovascular benefit<sup>22</sup> and the inhibition of the proliferation of cancer cells in the mouth,

colon and prostate<sup>23</sup>. Regarding oral health, several studies have shown that Cranberry polyphenols have beneficial properties for the treatment and prevention of caries and periodontal diseases<sup>8,11</sup>. Regarding caries, the beneficial properties of cranberry are associated with the reduction of the production of extracellular polysaccharides, inhibition of the production of acids by cariogenic bacteria, inhibition of the functions of glucan-binding proteins and reduction in biofilm formation<sup>11</sup>. Regarding the periodontal disease, the benefits would be due to the inhibition of biofilm formation and adhesion of periodontopathogenic bacteria; inhibition of the proteolytic activity of bacteria; and inhibition of cytokine production by cells of the immune system<sup>8</sup>. Something that draws attention is the inhibition of the matrix metalloproteinase production and activity<sup>7,18</sup>.

## **OBJECTIVE**

In view of mentioned above, this study aimed to analyze the effect of the cranberry juice on reducing dentin erosive loss in an *in vitro* study. The null hypothesis tested was that the treatment with cranberry juice does not influence the degree of dentin erosion.

## **MATERIALS AND METHODS**

First, the teeth were obtained, cut and the dentin blocks were polished. We used 30 bovine incisor teeth extract from animals with an average age of 36 months. The incisors were cleaned with periodontal curettes to remove any residues of periodontal tissues adhered to the dental surface; afterwards, they were stored in a solution of 0.02% sodium azide and 0.9% sodium chloride. The teeth were fixed with thermoactivated godiva (Kerr Corporation, made in the USA) on the bottom right corner of a small crystal acrylic plaque (40mm x 40mm x 5mm) to facilitate the adaptation in the cutting machine. The acrylic plaque was coupled on a precise cutting machine ISOMET Low Speed Saw (Bulher Ltda., Lake Bluff, IL, USA). We obtained 100 dentin specimens (4mm x 4mm) of the crown's flattest portion (medium third) with the assistance of two double-sided diamond discs – XLI 2205, "high concentration", 102mm x 0.3mm x 12.7mm (Extec Corp., Enfield, CT, USA / Ref: 12.205) and a stainless steel spacer (diameter of 7 cm, 4 mm thick and 1.3 cm of central orifice) between the discs with a 300 rpm speed, refrigerated with deionized water. A double cut was carried out in the cervical-incisor direction and another one in the mesiodistal direction. For the dentin blocks flattening, they were fixed with Kota sticky wax (Kota Ind. and Com. Ltda., São Paulo, SP) on the center of a crystal acrylic disc (30mm diameter per 8mm thickness) with the enamel face turned to the disc in order to first perform the dentin flattening. The set (disc/tooth) was adapted into a Metallographic Polishing Machine (APL 4, Arotec, Cotia, SP) with a multiple polishing system capable of performing the automatic polishing of 6 test specimens, allowing the parallelism between the polished surfaces and the

acrylic support in which the specimens were fixed. For the flattening, we used 320 grits silicon carbide sandpapers (Extec Corp.), refrigerated and with 2 pattern weights of 6g, between 30s and 7min until reaching the dentin thickness desired, obtaining the 80 dentin blocks with about 4mm x 4mm of thickness.

Afterwards, to remove all residues, we removed the blocks from the acrylic disc and cleaned them with xylene (MERCK, Darmstadt – GERMANY). Then, they were fixed again with sticky wax in the center of the acrylic plaque with the dentin face against the plaque to remove the enamel until reaching the dentin. The enamel was worn with 320 grits silicon carbide sandpapers (Extec Corp.) with refrigeration for 5min in high speed. After enamel wear and reaching the dentin, we performed the polishing with 600 grits silicon carbide sandpapers (Extec Corp.), under refrigeration, for 1min in low speed. Later, the polishing was performed with 1200 grits silicon carbide sandpapers (Extec Corp.), under refrigeration for 2min and 30s in high speed. To finish the polishing, we used a humidified felt (Extec. Corp) with an 1 $\mu$ m (Buehler) diamond suspension for 3min, in high speed, aiming to flat and remove grooves of the dentin blocks in order not to interfere with the profilometric analysis. It is important to highlight that between the changes of the sandpapers, we used a T7 Thornton (Electronic Products Unique Ind. and Com. Ltda., São Paulo, SP) ultrasound device with a 40 KHz frequency for 2min with deionized distilled water to remove the remnant from the sandpaper. After the last polishing, two 10- min washings in the ultrasound were performed.

Therefore, 100 dentin blocks were prepared. The blocks were randomized and divided into 4 groups (n=25/group) of treatment. A loss in the sample number due to the experimental conditions were expected. By the end, there was a variation of n=15-17/group. The treatment groups were: distilled water (C-control, pH 7.2); epigallocatechin-gallate green tea extract (EGCg, positive control, 400  $\mu$ M, pH 4.5), cranberry extract (ECr, 10%, pH 3.9) and commercial Cranberry juice (SCr, Cranberry Juxx<sup>®</sup>, pH 2.8).

To fulfill the next stage, after preparing and obtaining the dentin blocks, they were protected with nail polish (two layers, dried for 24h) in 2/3 of the dentin block surface to obtain a reference surface for posterior wear determination.

All dentin blocks were subjected to Demineralization and Remineralization (DES-RE) for 5 days. A total of 4 erosive demineralizations were carried out with 0.1% citric acid for 90s, every day. After the acid challenge, the specimens were rinsed and kept in the treatment solutions for 1 min, according to each group, as described previously. They were abundantly rinsed again and then stored in artificial saliva overnight at 37°C between the DES-RE challenges or between the experiment days<sup>4</sup>. It is important to emphasize that all solutions were renewed every day.

At the end of the experimental phase and before the wear evaluation, the nail polish was removed carefully from the blocks with a spatula avoiding the contact with the surface to

be analyzed. The erosion on the dentin surface was evaluated in the interface control-erosion-control by a topographical graphic analysis using a Profilometer (MarSurf GD 25, Mahr, Göttingen, Germany). The measuring probe tip was positioned in the control part, going from the eroded part until the second control area, adding up a palpate course of about 2.5 mm in the X axis and 5 mm in the Y axis. By using the software MarSurf XT 20 (Mahr, Göttingen, Germany) installed on a computer linked to the Profilometer, a topographical graphic of the total area analyzed was obtained, allowing us to quantify the height difference (Z axis) between the control-erosion-control faces. For the analysis, the topographical graphic that was represented by reading lines (5 reading lines) was aligned without using the filter. Therefore, the average erosion per block represented the average of 10 readings.

### Statistical analysis

The InStat Software version 3.0 for Windows (Graph Pad software Inc., La Jolla, CA) was used. Data were homogeneous and with normal distribution. After this verification, ANOVA was applied, followed by the Tukey's test to identify significant differences among the groups. The level of significance adopted in all tests was 5%.

## RESULTS

All treatments significantly reduced the dentin wear compared to water (control), but they did not differ between each other, despite the pH of the juice was acid (TABLE 1).

TABLE 1 – Dentin wear ( $\mu\text{m}$ , medium $\pm$ DP) subjected to pH cycling (Demineralization in citric acid, 90 s) and remineralization in artificial saliva (1h) pH treatment solutions.

Treatment	Wear ( $\mu\text{m}$ , medium $\pm$ SD)	pH
Control (water)	21.23 $\pm$ 11.96 <sup>a</sup>	7.2
400 $\mu\text{M}$ EGCg extract	9.93 $\pm$ 2.90 <sup>b</sup>	4.5
Cranberry juice	11.04 $\pm$ 5.70 <sup>b</sup>	2.8
10% Cranberry extract	12.10 $\pm$ 5.44 <sup>b</sup>	3.9

\*Different lowercase letters represent the significant difference among treatments. ANOVA and Tukey test ( $p < 0.05$ ),  $n = 15-17$  per group.

## DISCUSSION

Recently, studies focusing on protective role against demineralization of the demineralized organic layer that is left after dentin erosive demineralization has gained great attention<sup>2</sup>. This layer can be degraded by enzymes (mainly MMPs)<sup>29</sup> from the host, present in saliva<sup>26</sup> and in the hard dental tissues<sup>20</sup>.

These enzymes were identified in carious lesions in both latent and active forms. With the pH drop in the presence of acids, the latent forms of these enzymes become activated<sup>25</sup>. MMPs can be activated by the pH drop below 4.5, followed by neutralization<sup>25</sup>, as it occurs during the carious process when the pH in the biofilm drops within minutes after the ingestion of sugar, until being neutralized by salivary buffers. The same rationale could be applied for the occurrence of erosion in the dentin<sup>1</sup>. After an erosive challenge, the pH decrease causes dentin demineralization, exposing the collagen fibrils. Simultaneously, the pH drop activates dentin and/or salivary MMPs, which degrade the demineralized organic matrix when the pH returns to neutral level, thus allowing the progress of dentin loss<sup>12</sup>. Therefore, the activation of the MMPs plays a role in the progression of dentin erosion, once the breakdown of collagen leads to the progression of erosive lesions in dentin<sup>1,12</sup>. Researchers have proposed the application of MMP inhibitors to reduce the loss of dentin during the subsequent erosive challenges<sup>12,13,14</sup> since the protective layer composed of the demineralized organic matrix hinders the acid diffusion and reduces the progression of dentin erosion<sup>9</sup>.

Therefore, based on the knowledge of molecular biology and the role of MMPs in many phenomena that occur in the oral cavity, the use of MMP inhibitors has been considered effective in the treatments of the problems that occur in the oral cavity<sup>3,24</sup>.

The Cranberry properties against caries and periodontal disease are well known<sup>8,11</sup>. However, little is known about its effect against erosion. A recent study (data not published) showed that a gel containing cranberry extract used in an *in situ* study was able to reduce dentin wear when subjected to erosion by cola-based beverage (Honorio HM et al. 2015. Effect of Cranberry and Proanthocyanidin on Dentin Submitted to Erosion, abstract 1489. IADR, 2015). However, we should consider that the protocol adopted in that study did not allow the conclusion that the effect of Cranberry on reducing dentin wear was due to its inhibitory effect of the activity of MMPs activity, as this was not tested directly. Further studies focusing on determining the activity of MMPs in the organic layer on the etched dentin after erosive challenges could add light into this issue.

Among the potential inhibitors of MMPs, Cranberry contains flavonoids and catechins, such as epigallocatechin-3-gallate (EGCg) and proanthocyanidins, respectively. The Cranberry flavonoids, especially EGCg, have been reported as potent inhibitors of MMPs in cell culture tests<sup>6,10</sup>. EGCg seems to show a link by hydrogen bonds and hydrophobic interaction with collagen, which would be responsible for alterations in its secondary structure and consequent inhibition<sup>19</sup>. Proanthocyanidins are also potential inhibitors of MMPs production and activity<sup>7,18</sup>. In the present study, we cannot conclude that the effect of Cranberry to reduce dentin erosion was due to the presence of EGCg or proanthocyanidins, since the Cranberry juice contains both of them. Moreover, the protective effect found for the

Cranberry juice was similar to the ones found for the groups containing EGCg or cranberry extracts.

The acidity of the cranberry extract (pH = 3.9) and of the cranberry juice (pH = 2.8), as well as the of the EGCg extract (pH = 4.5) draws our attention. It is evident that the acidic pH would cause some level of wear under these conditions. However, the cranberry juice, even with the lowest pH, significantly reduced the dentin wear compared to the control (water, pH 7.2), although it was not significantly different from the other acid groups. Our results suggest that cranberry juice, despite its acidic pH has potential to prevent dentin wear, which is probably due to the presence of EGCg and/or proanthocyanidins. Additional studies should be conducted in order to provide mechanistic conclusions on this effect. Moreover, it should be taken into account that the concentrations of actives in the cranberry juice might vary seasonally, which may make it more difficult to propose a protocol for the clinical use of cranberry juice to prevent dentin erosion. Ideally, the active principles present in the cranberry juice should be isolated and incorporated into dental products to prevent dentin erosion.

## **CONCLUSION**

The null hypothesis was rejected, since the treatment of dentin specimens with the cranberry juice significantly reduced dentin wear. Additional studies should be conducted to provide mechanistic conclusions about this effect in order that protocols for clinical use can be established.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors thank FAPESP (2014/03654-4) for the concession of a scholarship to the first author and PIBIC-EM/CNPq (148746/2014-4) for the program with undergraduate to the third author.

## **REFERENCES**

1. Buzalaf MAR, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci* 2012;20(5):493-502.
2. Buzalaf MAR, Charone S, Tjäderhane L. Role of host-derived proteinases in dentine caries and erosion. *Caries Res* 2015;49(Suppl)1:30-7.
3. Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *J Dent Res* 2006;85:22-32.

4. Comar LP, Cardoso C de A, Charone S, Grizzo LT, Buzalaf MA, Magalhães AC. TiF<sub>4</sub> and NaF varnishes as anti-erosive agents on enamel and dentin erosion progression in vitro. *J Appl Oral Sci* 2015;23(1):14-8.
5. Dayan D, Binderman I, Mechanic GL. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. *Arch Oral Biol* 1983;28:185-7.
6. Demeule M, Brossard M, Page M, Gingras D, Beliveau R. Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochim Biophys Acta* 2000;1478:51-60.
7. Deziel BA, Patel K, Neto C, Gottschall-Pass K, Hurta RA. Proanthocyanidins from the american cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) inhibit matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 activity in human prostate cancer cells via alterations in multiple cellular signalling pathways. *J Cell Biochem* 2010;111:742-54.
8. Feghali K, Feldman M, La VD, Santos J, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins: Natural weapons against periodontal diseases. *J Agric Food Chem* 2012;60(23):5728-35.
9. Ganss C, Klimek J, Starck C. Quantitative analysis of the impact of the organic matrix on the fluoride effect on erosion progression in human dentine using longitudinal microradiography. *Arch Oral Biol* 2004;49:931-5.
10. Garbisa S, Sartor L, Biggin S, Salvato B, Benelli R, Albin A. Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate. *Cancer* 2001;91:822-32.
11. Gazzani G, Daglia M, Papetti A. Food components with anticaries activity. *Curr Opin Biotechnol* 2012;23:153-9.
12. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Buzalaf MAR. Gels containing MMP inhibitors prevent dental erosion in situ. *J Dent Res* 2010;89:468-72.
13. Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Calábria MP, Magalhães AC, Pereira JC, et al. Impact of protease inhibitors on dentin matrix degradation by collagenase. *J Dent Res* 2012;91:1119-23.
14. Kato MT, Magalhães AC, Rios D, Attin T, Buzalaf MAR. The protective effect of green tea on dentin erosion and abrasion: An in situ study. *J Appl Oral Sci* 2009;17(6):560-4.
15. Kinney JH, Balooch M, Haupt DL Jr., Marshall SJ, Marshall GW Jr. Mineral distribution and dimensional changes in human dentin during demineralization. *J Dent Res* 1995;74:1179-84.
16. Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *J Dent Res* 1994;73:1523-9.
17. Klont B, ten Cate JM. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: The role of the collagenous matrix. *Caries Res* 1991;25:39-45.

18. La VD, Howell AB, Grenier D. Cranberry proanthocyanidins inhibit MMP production and activity. *J Dent Res* 2009;88:627-32
19. Madhan B, Krishnamoorthy G, Rao JR, Nair BU. Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase. *Int J Biol Macromol* 2007;41:16-22.
20. Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G, et al. Zymographic analysis and characterization of MMP-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86:436-40.
21. Petersson GH, Bratthall D. The caries decline: A review of reviews. *Eur J Oral Sci* 1996;104:436-43.
22. Ruel G, Couillard C. Evidences of the cardioprotective potential of fruits: The case of cranberries. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:692-701.
23. Seeram NP, Adams LS, Hardy ML, Heber D. Total cranberry extract versus its phytochemical constituents: Antiproliferative and synergistic effects against human tumor cell lines. *J Agric Food Chem* 2004;52:2512-7.
24. Tjäderhane L, Buzalaf MAR, Carrilho M, Chaussain C. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of 'dentin degradomics'. *Caries Res*. 2015;49(3):193-208.
25. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998;77:1622-9.
26. van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res* 2003;37:58-65.
27. Wang CH, Fang CC, Chen NC, Liu SS, Yu PH, Wu TY, et al. Cranberry-containing products for prevention of urinary tract infections in susceptible populations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2012;172:988-96.
28. Weiss EI, Houry-Haddad Y, Greenbaum E, Hochman N, Ofek I, Zakay-Rones Z. Cranberry juice constituents affect influenza virus adhesion and infectivity. *Antiviral Res* 2005;66:9-12.
29. Zarella BL, Cardoso CA, Pelá VT, Kato MT, Tjäderhane L, Buzalaf MAR. The role of matrix metalloproteinases and cysteine-cathepsins on the progression of dentine erosion. *Arch Oral Biol*. 2015;60(9):1340-5.
30. Zhang L, Ma J, Pan K, Go VL, Chen J, You WC. Efficacy of cranberry juice on helicobacter pylori infection: A double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Helicobacter* 2005;10:139-45.

## **ANEXO A – NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF APPLIED ORAL SCIENCE UTILIZADA PARA SUBMISSÃO DO MANUSCRITO**

### **1 ESCOPO**

O periódico **Journal of Applied Oral Science** tem como missão a divulgação dos avanços científicos e tecnológicos conquistados pelas comunidades odontológica e fonoaudiológica, respeitando os indicadores de qualidade, a fim de que seja assegurada a sua aceitabilidade junto à comunidade de pesquisadores da área em nível local, regional, nacional e internacional. Tem como objetivo principal publicar resultados de pesquisas originais e, a convite do Editor-Chefe, casos clínicos e revisões no campo das ciências orais, com ênfase em Odontologia, Fonoaudiologia e áreas correlatas.

Este periódico adota a licença Creative Commons CC-BY:

“Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original. É a licença mais flexível de todas as licenças disponíveis. É recomendada para maximizar a disseminação e uso dos materiais licenciados.”

Não há cobrança aos autores para submissão de manuscritos e nem mesmo para processamento dos artigos (APC).

### **2 DAS NORMAS GERAIS**

2.1 Os trabalhos enviados para publicação devem ser inéditos, não sendo permitida a sua submissão simultânea em outro periódico, seja este de âmbito nacional ou internacional. O Journal of Applied Oral Science reserva todo o direito autoral dos trabalhos publicados, inclusive tradução, permitindo, entretanto, a sua posterior reprodução como transcrição com devida citação de fonte.

2.2 Só serão recebidos para publicação, trabalhos redigidos em inglês, ficando o conteúdo dos textos, das citações e das referências sob inteira responsabilidade dos autores.

2.3 O Journal of Applied Oral Science tem o direito de submeter todos os manuscritos ao Corpo Editorial, o qual está completamente autorizado a determinar a conveniência de sua aceitação, ou devolvê-los aos autores com sugestões e modificações no texto e/ou para adaptação às regras editoriais da revista. Neste caso, o manuscrito será reavaliado pelo Editor-Chefe e Corpo Editorial.

2.4 O Journal of Applied Oral Science recebe revisões de literatura e relatos de casos clínicos apenas mediante convite do Editor-Chefe.

2.5 Os conceitos afirmados nos trabalhos publicados são de inteira responsabilidade dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

2.6 As datas do recebimento do original e da aceitação do artigo constarão quando da publicação.

2.7 Cada autor correspondente receberá um fascículo da revista no qual seu trabalho foi publicado. Exemplares adicionais, se solicitados, serão fornecidos, sendo-lhes levado a débito o respectivo acréscimo.

2.8 Dependendo da disponibilidade dos recursos financeiros do Journal of Applied Oral Science ou dos autores, ilustrações coloridas serão publicadas a critério do Editor-Chefe.

### **3 CRITÉRIOS DE ARBITRAGEM**

3.1 Revisão técnica: os trabalhos serão avaliados primeiramente quanto ao cumprimento das normas de publicação e documentação exigida na submissão dos manuscritos. Se não de acordo às instruções serão devolvidos aos autores para as devidas adequações antes mesmo de serem submetidos à avaliação pelos Editores Associados e revisores.

3.2 Pré-Análise: os manuscritos aprovados na revisão técnica serão submetidos aos Editores Associados para apreciação quanto à adequação ao escopo da revista. Caso o manuscrito não esteja dentro dos parâmetros esperados será devolvido ao autor correspondente pelo Editor-Chefe.

3.3 Análise de mérito e conteúdo: os artigos aprovados pelos Editores Associados serão avaliados quanto ao mérito e método científico por no mínimo dois relatores ad hoc de unidades distintas à de origem do trabalho, além do Editor-Chefe. O Editor-Chefe decidirá sobre a aceitação do manuscrito. Quando necessária revisão do original, o manuscrito será devolvido ao autor correspondente para modificação. Uma versão revisada com as alterações efetuadas deverá ser re-submetida pelos autores, que será reavaliada pelo Editor-Chefe, Editores Associados e revisores conforme a necessidade.

3.4 Após aprovação quanto ao mérito científico, os trabalhos serão submetidos à revisão final, feita por profissional autônomo indicado pela revista. O pagamento deste serviço ficará sob a responsabilidade do(s) autor(es), e os procedimentos necessários, o valor do serviço e a forma de pagamento diretamente ao profissional serão encaminhados ao autor correspondente. Nos casos de inadequação os trabalhos serão encaminhados para os autores para revisão.

3.5 Tanto os avaliadores quanto os autores, durante todo o processo de tramitação dos artigos, não são identificados pela outra parte.

3.6 Os conceitos emitidos nos trabalhos publicados serão de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião do Editor-Chefe ou Corpo Editorial.

#### **4 DA CORREÇÃO DAS PROVAS TIPOGRÁFICAS**

4.1 A prova tipográfica será enviada ao autor correspondente por meio de correio eletrônico em formato PDF para aprovação final.

4.2 O autor dispõe de um prazo de 72 horas para correção e devolução do original devidamente revisado, se necessário.

4.3 Se não houver retorno da prova em 72 horas, o Editor-Chefe considerará como final a versão sem alterações e não serão permitidas maiores modificações. Apenas pequenas modificações, correções de ortografia e verificação das ilustrações serão aceitas. Modificações extensas implicarão na reapreciação pelos assessores e atraso na publicação do trabalho.

4.4 A inclusão de novos autores não é permitida nesta fase do processo de publicação.

## **Forma e preparação de manuscritos**

### **1 APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO**

#### **1.1 Estrutura do manuscrito**

Página de rosto (deverá ser submetida como arquivo suplementar pelo sistema de submissão online da revista) que deverá conter apenas:

- O título do manuscrito em inglês.
- Os nomes dos autores na ordem direta seguido da sua principal titulação e afiliação institucional em inglês.
- Endereço completo do autor correspondente, a quem todas as correspondências devem ser endereçadas, incluindo telefone e fax bem como endereço de e-mail.

#### **1.2 Texto**

- O artigo deverá ser previamente traduzido ou revisado por empresa ou profissional autônomo que assegurem a qualidade do vernáculo. Os custos desse serviço ficarão a cargo dos autores do artigo. Autores que tenham a língua inglesa como nativa deverão apresentar declaração na qual se responsabilizam pela redação.
  - Título e subtítulo, se necessário, do trabalho em inglês;
  - Resumo: deverá incluir o máximo de 300 palavras, ressaltando-se no texto uma pequena introdução, objetivo, material e métodos, resultados e conclusões.
  - Palavras-chave: (correspondem às palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo). Para determinação das palavras-chave os autores deverão consultar a lista de assuntos do "Índex Medicus" e os Descritores em Ciências da Saúde - DeCS (consulta eletrônica pelo endereço: <http://www.decs.bvs.br/>). Deve-se usar ponto final para separar as

palavras-chave, que devem ter a primeira letra da primeira palavra em letra maiúscula. Ex: Dental implants. Fixed prosthesis. Photoelasticity. Passive fit.

Introdução: resumo do raciocínio e a proposta do estudo, citando somente referências pertinentes. Estabelecer a hipótese do trabalho.

- **Material e Métodos:** o material e os métodos são apresentados com detalhes suficientes para permitir a confirmação das observações. Incluir cidade, estado e país de todos os fabricantes depois da primeira menção dos produtos, reagentes ou equipamentos. Métodos publicados devem ser referenciados e discutidos brevemente, exceto se modificações tenham sido feitas. Indicar os métodos estatísticos utilizados, se aplicável. Consultar o item 3 para princípios éticos e registro de ensaios clínicos.

- **Resultados:** apresenta os resultados em uma seqüência lógica no texto, com tabelas e ilustrações. Não repetir no texto todos os dados das tabelas e ilustrações, enfatizando somente as observações importantes. Utilizar o mínimo de tabelas e ilustrações possível.

- **Discussão:** enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões resultantes. Não repetir em detalhes dados ou informações citadas na introdução ou resultados. Relatar observações de outros estudos relevantes e apontar as implicações de seus achados e suas limitações.

- **Conclusão(ões):** (quando houver).

- **Agradecimentos** (quando houver) - agradeça a pessoas que tenham contribuído de maneira significativa para o estudo. Especifique auxílios financeiros citando o nome da organização de apoio de fomento e o número do processo.

- **Referências** (ver item 2.3)

## **2 NORMALIZAÇÃO TÉCNICA**

O manuscrito deve ser digitado com: espaçamento de 1,5, fonte Arial, tamanho 11, 3 cm de margem de cada um dos lados, papel A4, perfazendo um total de, no máximo, 15 páginas, incluindo ilustrações (gráficos, fotografias, tabelas etc). Os autores devem manter uma cópia do manuscrito para eventuais solicitações.

## 2.1 Ilustrações e Tabelas

2.1.1 As ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos, quadros etc.), serão consideradas no texto como figuras, sendo limitadas ao mínimo indispensáveis e devem ser adicionadas em arquivos separados, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem no texto.

2.1.2 As fotografias deverão ser encaminhadas em cores originais, digitalizadas em formato .tif, ou .jpg, com no mínimo 300 dpi de resolução e 10 cm de largura. Essas fotos deverão estar em arquivos separados e não inseridas no texto do Word.

2.1.3 As legendas correspondentes deverão ser claras, concisas e localizadas ao final do trabalho em forma de lista

separada e precedidas da numeração correspondente.

2.1.4 As tabelas deverão ser logicamente organizadas, numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. A legenda será colocada na parte superior das mesmas. As tabelas deverão ser abertas nas laterais direita e esquerda. As tabelas deverão ser enviadas em formato .xls.

2.1.5 As notas de rodapé serão indicadas por asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

## 2.2 Citação de autores

A citação dos autores no texto poderá ser feita de duas maneiras:

1) Somente numérica: "... and interfere with the bacterial system and tissue system<sup>3,4,7-10</sup>". As referências devem ser citadas em ordem crescente no parágrafo.

2) ou alfanumérica:

- Um autor: Silva<sup>23</sup> (1986)
- Dois autores: Silva and Carvalho<sup>25</sup> (1987)
- Três autores: Ferreira, Silva and Martins<sup>27</sup> (1997)
- mais que três autores: Silva, et al.<sup>28</sup> (1998)

- Caracteres de pontuação tal como pontos e vírgulas devem ser colocados depois da citação numérica dos autores. Ex: Ferreira<sup>38</sup>.

### 2.3 Referências

As Referências deverão obedecer aos requisitos "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals - Vancouver", para a submissão de manuscritos a revistas biomédicas - disponível no seguinte endereço eletrônico:

[http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html).

2.3.1 Toda referência deverá ser citada no texto. Elas devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor e numeradas em ordem crescente. A ordem de citação no texto obedecerá a esta numeração. As abreviaturas dos títulos dos periódicos internacionais citados deverão estar de acordo com o Index Medicus/MEDLINE.

2.3.2 Não incluir comunicações pessoais e materiais bibliográficos sem data de publicação na lista de referências.

2.3.3 Teses, dissertações, monografias e resumos não serão aceitos como referências.

2.3.4 Listar os nomes dos 6 primeiros autores do trabalho; excedendo este número, os 6 primeiros autores do trabalho devem ser citados, seguidos pela expressão ", et al.", que deve ser seguida por ponto e não escrita em itálico. Ex: Uhl, et al.

2.3.5 Não ultrapassar a citação de 30 referências, exceto para artigos de revisão de literatura a convite do Editor-Chefe.

Exemplos de referências:

#### Livro

Melberg JR, Ripa LW, Leske GS. Fluoride in preventive dentistry: theory and clinical applications. Chicago: Quintessence; 1983.

### **Capítulo de Livro**

Verbeeck RMH. Minerals in human enamel and dentin. In: Driessens FCM, Woltgens JHM, editors. Tooth development and caries. Boca Raton: CRC Press; 1986. p. 95-152.

### **Artigo de periódico**

Wenzel A, Fejerskov O. Validity of diagnosis of questionable caries lesions in occlusal surfaces of extracted third molars. Caries Res. 1992;26:188-93.

### **Artigos com mais de 6 autores:**

Citam-se até os 6 primeiros seguidos da expressão " ,et al."

Parkin DM, Clayton D, Black, RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood - leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 years follow-up. Br J Cancer. 1996;73:1006-12.

### **Artigo sem autor**

Seeing nature through the lens of gender. Science. 1993;260:428-9.

### **Volume com suplemento e/ou Número Especial**

Davidsdon CL. Advances in glass-ionomer cements. J Appl Oral Sci. 2006;14(sp. Issue):3-9.

### **Fascículo no todo**

Dental Update. Guildford 1991 Jan/Feb;18(1).

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

## **3 PRINCÍPIOS ÉTICOS E REGISTROS DE ENSAIOS CLÍNICOS**

**3.1 Procedimentos experimentais em animais e humanos.** O periódico Journal of Applied Oral Science endossa os princípios incorporados na Declaração de Helsinki e insiste que todas as pesquisas que envolvam seres humanos

publicadas nesta Revista, sejam conduzidas em conformidade com esses princípios e com outros similares dispostos nos respectivos Comitês de Ética em Pesquisa das respectivas instituições de origem dos autores. No caso de experimentos com animais, estes devem seguir os mesmos princípios de ética envolvidos. Em experimentos que envolvam procedimentos cirúrgicos em animais, os autores devem descrever na seção de Material e Métodos evidências de que a dosagem anestésica produziu efeito adequado e por tempo necessário para a condução do ato cirúrgico. Todos os experimentos com humanos ou animais devem vir acompanhados de descrição, na seção de Material e Métodos, de que o estudo foi aprovado pelos respectivos órgãos que gerenciam a Ética em Pesquisa nas suas instituições de origem.

3.1.1 Artigos apresentando **estudos experimentais em humanos ou animais** deverão **obrigatoriamente** vir acompanhados de documento comprobatório da aprovação pelo Comitê de Ética do relatório dos **resultados enviados para publicação**.

### **3.2 Registros de Ensaios Clínicos - International Standard Randomized Controlled Trial Number (ISRCTN)**

O periódico Journal of Applied Oral Science apóia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE), reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional sobre estudos clínicos com acesso aberto. Sendo assim, somente serão aceitos para publicação os artigos de pesquisas clínicas que tenham recebido um número de identificação, o ISRCTN, em uma das plataformas de ensaios clínicos, validadas pelos critérios estabelecidos pela OMS e pelo ICMJE. A OMS define Ensaio Clínico como "qualquer estudo de pesquisa que prospectivamente designa participantes humanos ou grupos de humanos para uma ou mais intervenções relacionadas à saúde para avaliar os efeitos e os resultados de saúde. Intervenções incluem, mas não se restringem a drogas, células e outros produtos biológicos, procedimentos cirúrgicos, procedimentos radiológicos, dispositivos, tratamentos comportamentais, mudanças no processo de cuidado, cuidado preventivo etc."

3.2.1 Os artigos que envolvam ensaios clínicos (clinical trials) em voluntários humanos deverão ser enviados acompanhados de dois documentos suplementares **obrigatórios**:

- checklist do CONSORT 2010 (<http://www.consort-statement.org/>)
- comprovante de número de registro da pesquisa em base que atenda às exigências da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE).
- Sugestões para autores brasileiros: <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>
- Sugestão para autores brasileiros ou de outras nacionalidades: <http://www.controlled-trials.com/> (ISRCTN) ou <http://prsinfo.clinicaltrials.gov/>.

3.3 O Editor-Chefe e o Conselho Editorial se reservam o direito de recusar artigos que não demonstrem evidência clara de que esses princípios foram seguidos ou cujos métodos empregados forem considerados inapropriados para o uso de humanos ou animais.

## **4 OUTRAS QUESTÕES SERÃO RESOLVIDAS PELO EDITOR-CHEFE E CONSELHO EDITORIAL**

### **Envio de manuscritos**

#### **1 SUBMISSÃO DO TRABALHO**

1.1 Os manuscritos deverão ser submetidos por meio do endereço: <http://www.scielo.br/jaos>

1.2 O arquivo original contendo o manuscrito deve ser submetido sem a identificação dos autores e afiliações. A folha de rosto deverá ser submetida como arquivo suplementar (Title page) contendo o nome dos autores, afiliações e endereço para correspondência.

1.3 As figuras devem ser submetidas como arquivos suplementares de acordo com as especificações do item 2.1 sobre forma e preparação dos manuscritos.

1.4 As tabelas devem ser preparadas em formato Excel e devem ser submetidas como arquivos suplementares.

1.5 Documentos comprobatórios de registro de ensaios clínicos e de aprovação de relatórios por Comitê de Ética deverão ser submetidos como arquivos suplementares obrigatórios.

1.6 Demais documentos, como declaração de responsabilidade pela revisão de inglês ou comprovante de realização de revisão do vernáculo por profissional ou empresa, deverão ser submetidos como arquivos suplementares obrigatórios.

1.7 O [formulário de submissão](#), assinado por TODOS os autores, deve ser submetido como arquivo suplementar contendo o seguinte texto:

**A assinatura deste formulário de submissão implica na aceitação do seguinte:**

**Transferência de Direitos:** Considerando a aceitação do trabalho acima descrito, nós, autores, concordamos com o uso da licença Creative Commons CC-BY e transferimos para o Journal of Applied Oral Science todos os direitos, título e interesse nos direitos autorais do artigo mencionado acima. Este documento se aplica a todas as traduções do mesmo, assim como a apresentação preliminar, sob quaisquer meios de divulgação, do trabalho aceito e ainda não publicado. Se alguma mudança na autoria (ordem, acréscimo ou eliminação) ocorrer após a submissão do trabalho, um documento de concordância de todos os autores deve ser enviado para ser mantido nos arquivos do Editor-Chefe. O nome de um autor(a) somente poderá ser removido mediante solicitação do(a) mesmo(a).

**Responsabilidades do autor:**

Eu atesto que:

O trabalho é original e não contém dados falsificados, plagiados ou fraudulentos;

O conteúdo do trabalho não se encontra atualmente em apreciação, e nem será submetido para publicação em outro periódico, até que uma decisão final de não aceitação seja emitida por esta revista;

Eu tive uma contribuição significativa para o trabalho e estou familiarizado com os dados originais descritos no mesmo;

Eu li o trabalho por completo e assumo a responsabilidade pelo conteúdo completo da versão final que foi submetida. Entendo que se o trabalho, ou parte dele, for considerada deficiente ou fraudulenta, assumirei a responsabilidade junto com os outros autores.

**Descompromisso de conflito de interesse.** Todas as minhas afiliações corporativas ou institucionais e todas as fontes de apoio financeiro ao trabalho estão devidamente citadas ou mencionadas em carta anexa. Certifico que não possuo nenhum interesse comercial ou associativo que represente conflito de interesse em conexão com o trabalho submetido.

NOME: \_\_\_\_\_ ASSINATURA: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_\_