



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

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES DAS CITOCINAS DO PERFIL TH1,
TH2 E TH17 E CONDIÇÃO PERIODONTAL DE INDIVÍDUOS COM ARTRITE
REUMATOIDE EM USO DE DMARDs**

THAYANARA SILVA MELO

RECIFE – PE

2019

THAYANARA SILVA MELO

**AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES DAS CITOCINAS DO PERFIL TH1,
TH2 E TH17 E CONDIÇÃO PERIODONTAL DE INDIVÍDUOS COM ARTRITE
REUMATOIDE EM USO DE DMARDs**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros
Coorientadora: Prof. Dr^a. Angela Luzia Branco Pinto
Duarte

RECIFE – PE

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas (SIB/UFPE)

M528a Melo, Thyanara Silva.

Avaliação dos níveis salivares das citocinas do perfil Th1, Th2 e Th17 e condição periodontal de indivíduos com artrite reumatoide em uso de DMADs. / Thyanara Silva Melo - 2019.

80f.: il.;30 cm.

Orientador(a): Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Coorientador(a): Angela Luzia Branco Pintos Duarte

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CCS, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2019.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Periodontite. 2. Artrite reumatoide. 3. Citocinas salivares. I. Gueiros, Luiz Alcino Monteiro, (Orientador(a)). II. Duarte, Angela Luzia Branco Pintos, (Coorientador(a)). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS 2019-)

TÍTULO DO TRABALHO: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SALIVARES DAS CITOCINAS DO PERFIL TH1, TH2 E TH17 E CONDIÇÃO PERIODONTAL DE INDIVÍDUOS COM ARTRITE REUMATOIDE EM USO DE DMARDs.

NOME DA ALUNA: Thayanara Silva Melo

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 26 DE FEVEREIRO DE 2019.

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Arnado de França Caldas Junior _____

Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo _____

Prof. (a) Dr. (a) Angela Luzia Branco Pinto Duarte

Recife –PE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA

Profa. Dra. Professora Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

COLEGIADO

MEMBROS PERMANENTES

Profa. Dra. Alessandra A. T. Carvalho

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Prof. Dr. Anderson S. Leônidas Gomes

Prof. Dra. Maria Luiza dos A. Pontual

Profa. Dra. Andrea Cruz Câmara

Profa. Dra. Renata Cimões J. Silveira

Profa. Dra. Andrea dos Anjos Pontual

Profa. Dra. Ângela Luzia B. P. Duarte

SECRETÁRIO

Prof. Dr. Arnaldo de F. Caldas Junior

Issac Simoni

Profa. Dra. Bruna de Carvalho F. Vajgel

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Profa. Dra. Flavia Maria de M. R. Perez

Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema F. L. de Castro

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser minha fortaleza.... Por estar sempre ao meu lado, pelo Seu grande amor...

Agradeço aos meus pais Luiz e Nilda, que sempre me apoiaram nos meus estudos e acreditaram no meu potencial. O amor imensurável de vocês me fizera chegar até aqui.

Ao meu marido, Mário. Amor da minha vida e meu melhor amigo. Sempre presente e pronto para me ajudar, apoiar e me incentivar em todos os momentos, você é minha maior inspiração, te amo.

Ao meu orientador Luiz Alcino Monteiro Gueiros, pela paciência, apoio, confiança, por me proporcionar a experiência da pesquisa científica e sempre me incentivar na área acadêmica. Obrigada pelos ensinamentos, atenção, amizade e dedicação ao longo desses anos.

A coorientadora Dr^a Angela Duarte, por sempre ser tão preocupada e solícita com a viabilização da pesquisa. O amor e o carinho que senhora tem pelos seus pacientes são inspiradores.

Aos professores da pós-graduação em Odontologia por todos os ensinamentos.

A toda a equipe de Reumatologia do HC-UFPE, que sempre foram tão atenciosos, em especial à Dr. Sérgio Cavalcanti, por diversas vezes tão generosamente ceder sua sala para a viabilização da nossa pesquisa.

Ao Prof. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, pela sua disponibilidade na fase laboratorial. A aluna de pós-doutorado Ana Karine Soares, por compartilhar com tanto amor seus conhecimentos e principalmente por todo o seu empenho com a nossa pesquisa, encontrar pessoas como você fazem toda a diferença, tenho uma gratidão imensa por tudo que você fez.

A Ritinha e dona Tânia, por serem tão amorosas e preocupadas com todos.

A meus amigos Carla Rodrigues, Cláudio Melo, Arthur Coutinho e Elen Alencar pelo companheirismo, paciência, conselhos, palavras de apoio e experiências compartilhadas. Amo vocês.

Aos meus amigos de pós-graduação, que em diversos momentos foram meu maior apoio para seguir na caminhada. Lívia Brito, Erica Passos e Kamilla Passos, obrigada por sempre me ajudarem, vocês foram essenciais.

A minha dupla tão amada, Marina Maymone. Você foi essencial para tudo acontecesse sempre em harmonia. Graças a você e ao seu jeitinho de sempre achar o lado positivo das coisas, eu sempre encontrava um novo caminho quando a caminhada se fazia impossível. Sempre com tanta preocupação e carinho, se tornou uma amiga para toda vida. Amo você!

Ao meu amigo Thyago Moraes, por todo o apoio e carinho compartilhado.

Aos pacientes, que tornaram possível o desenvolvimento dessa pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização desse sonho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

A artrite reumatoide (AR) e a periodontite são doenças crônicas inflamatórias que apresentam uma patobiologia similar, incluindo influências genéticas e ambientais, desequilíbrio do sistema imune e evolução com destruição do tecido ósseo. Várias linhas de evidencia apontam para uma maior prevalência de AR em indivíduos com doença periodontal, e também uma maior prevalência de doença periodontal em indivíduos com AR. Assim, a periodontite pode ser considerada um fator de risco ou um fator agravante para a AR. Contudo, pouco se sabe sobre o efeito do tratamento da AR na expressão clínica da periodontite. De modo a compreender melhor a interação entre as duas doenças, este projeto avaliou a influência do uso de DMARDs (sintéticos e biológicos) sobre o padrão periodontal e nos níveis citocinas salivares. Foram avaliadas 120 mulheres com mais de 18 anos e diagnosticadas com AR e analisadas de acordo com o tratamento recebido (DMARDs sintéticos [DS, n=60] e DMARDs biológicos [DB, n=60]). As pacientes foram submetidas à avaliação periodontal e mensuração do fluxo salivar em repouso. Foram coletadas amostras de saliva para dosagem das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α e IFN-gama. Pacientes em uso de DMARDs sintéticos apresentaram maior frequência de periodontite. Porém, o uso de glicocorticoides em mulheres com AR aumenta a frequência de periodontite de modo mais importante que a terapia com DMARDs. Não observamos diferenças em relação aos parâmetros periodontais e na expressão das citocinas salivares.

Palavras-chave: Citocinas salivares. Periodontite. Artrite reumatoide.

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) and periodontitis are chronic inflammatory diseases that present a similar pathobiology, including genetic and environmental influences, imbalance of the immune system and evolution with destruction of bone tissue. Several lines of evidence point to a higher prevalence of RA in individuals with periodontal disease, and also a higher prevalence of periodontal disease in individuals with RA. Thus, periodontitis may be considered a risk factor or an aggravating factor for RA. However, little is known about the effect of RA treatment on the clinical expression of periodontitis. In order to better understand the interaction between the two diseases, this project evaluated the influence of the use of DMARDs (synthetic and biological) on the periodontal pattern and on the salivary cytokine levels. A total of 120 women aged 18 years and older diagnosed with RA and analyzed according to treatment received (synthetic DMARDs [DS, n = 60] and biological DMARDs [DB, n = 60]) were evaluated. The patients were submitted to periodontal evaluation and salivary flow measurement at rest. Saliva samples were collected for the determination of the IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α and IFN-gamma cytokines. Patients using synthetic DMARDs and glucocorticoids had a higher frequency of periodontitis ($p = 0.028$ and <0.001 , respectively). The salivary levels of the cytokines were similar between the DS and DB groups, and did not present periodontitis association. Resting salivary flow was lower in patients treated with synthetic DMARDs ($p <0.001$). The use of glucocorticoids in women with RA increases the frequency of periodontitis more important than therapy with DMARDs.

Keywords: Salivary cytokines. Periodontitis. Rheumatoid arthritis.

LISTA DE FIGURAS, QUADROS E TABELAS

Figura 1	Estágios da patogênese da periodontite	10
Figura 2	Características gerais das células T auxiliares, subtipos Th1 e Th2 e células Th17.....	14
Quadro 1	Critérios do Colégio Americano de Reumatologia para classificação da artrite reumatoide.....	18
Quadro 2	Critérios classificatórios do Colégio Americano de Reumatologia e da Liga Europeia Contra o Reumatismo da artrite reumatoide.....	18
Figura 3	Interações entre a periodontite e artrite reumatoide.....	21
Tabela 1	Características clínicas e laboratoriais de pacientes com artrite reumatoide.....	41
Tabela 2	Avaliação da Periodontite por variáveis clínicas e laboratoriais em pacientes com artrite reumatoide.....	42
Tabela 3	Avaliação do Fluxo salivar em repouso por variáveis clínicas e laboratoriais em pacientes com artrite reumatoide.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

AAP– Academia Americana de Periodontologia

Anti-CCP – Anticorpos anti-peptídeos cíclicos citrulinizados

AR – Artrite reumatoide

Células Th – Células t *helper*

DAS28 – Escore de atividade da doença (Artrite reumatoide)

DP – Doença periodontal

EVA– Escala visual analógica

FSR – Fluxo salivar em repouso

FR – Fator reumatoide

HAQ – Health Assessment Questionnaire

IL-2– Interleucina 2

IL-4 – Interleucina 4

IL-6 – Interleucina 6

IL-10 – Interleucina 10

IL-17– Interleucina 17

IFN- γ – *Interferon gamma*

PG – *Porphyromonas gingivalis*

PAD – peptidil arginina deseiminase

PPAD – *Porphyromonas gingivalis* peptidil arginina deseiminase

Th1– Linfócito T helper 1

Th2 – Linfócito T helper 2

Th17– Linfócito T helper 17

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

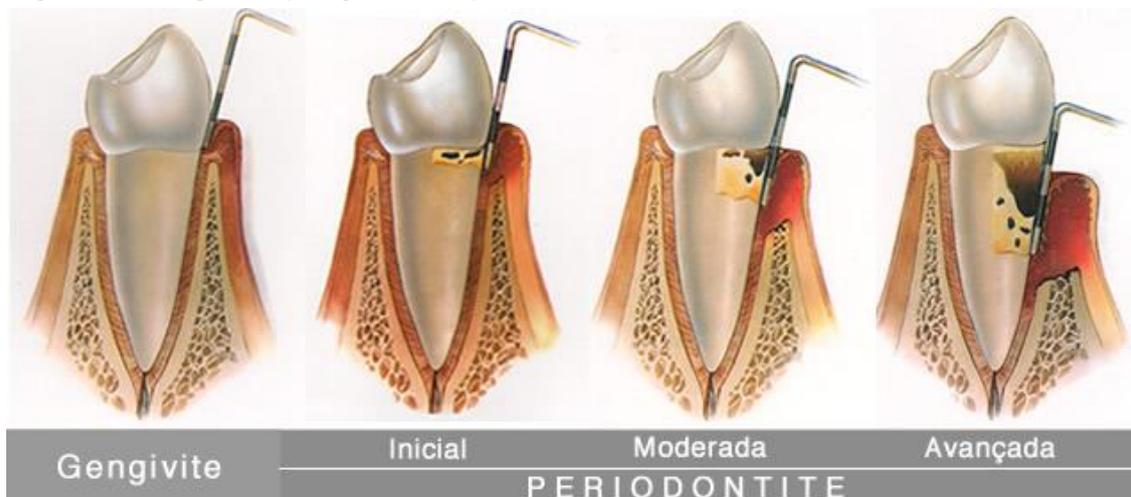
1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	10
1.1 DOENÇA PERIODONTAL (DP)	10
1.2 PATOGÊNESE DA PERIODONTITE	11
1.3 RESPOSTAS IMUNES.....	12
1.4 CITOCINAS.....	14
1.5 ARTRITE REUMATOIDE	17
1.6 DIAGNÓSTICO DA ARTRITE REUMATÓIDE	18
1.7 TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE.....	20
1.8 ARTRITE REUMATOIDE E PERIODONTITE	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos específicos	24
3. METODOLOGIA	25
3.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	25
3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA	26
REFERÊNCIAS	31
4. ARTIGO	40
4.1 RESUMO.....	41
4.2 ABSTRACT	42
4.3 INTRODUÇÃO	43
4.4 METODOLOGIA.....	44
4.5 RESULTADOS	46
5.6 DISCUSSÃO	50
5.7 CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICES	56
QUESTIONÁRIO DA PESQUISA.....	56
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	59
ANEXOS	63
PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA...	63
NORMAS DA REVISTA	70

1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1.1 DOENÇA PERIODONTAL (DP)

A DP é uma condição crônica, iniciada pela formação de um biofilme bacteriano na superfície dentária, onde estão presentes patógenos gram-negativos e anaeróbicos (Gorska *et al.*, 2003). Este biofilme é responsável por uma resposta local mediada pelo hospedeiro. A inflamação resultante afeta inicialmente apenas a gengiva, diagnosticada clinicamente como gengivite (Marchetti *et al.*, 2012). Se não tratada, sua progressão leva à Periodontite, onde ocorre destruição do tecido gengival e das estruturas que compõem o periodonto de sustentação (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar), levando a perda de inserção periodontal (Figura 1) (Adams, 1996; The American Academy of Periodontology 2001 Annual Report, 2001).

Figura 1 – Estágios da patogênese da periodontite



Fonte: Colgate. Disponível em: <https://www.colgate.com.br/oral-health/conditions/gum-disease>. Acesso em dezembro 2018.

A periodontite é uma das principais causas de perda dental em adultos, acometendo aproximadamente 10-15% da população mundial (Baelum e Lopez, 2004) também é considerada uma das formas mais prevalentes de doença que afeta estruturas ósseas em humanos (Baker, 2000). Estudos epidemiológicos mostram que uma grande porcentagem da população mundial adulta apresenta periodontite (Gjermeo *et al.*, 2002; Albandar, 2005). Aproximadamente 25-48% dos norte-americanos e mais de 30% dos indivíduos adultos acima dos 30 anos

de idade do Reino Unido possuem periodontite (Albandar, 2005). No Brasil, a última avaliação epidemiológica, apontou que mais da metade da população adulta do país apresenta possui periodontite crônica (Projeto SBBrazil; 2010). Se tornando um importante fator socioeconômico e de saúde pública mundial.

1.2 PATOGÊNESE DA PERIODONTITE

O biofilme dental é considerado agente primário na etiologia da periodontite, porém apenas sua presença não é suficiente para modular o início e progressão da doença, fatores genéticos, ambientais e do hospedeiro também são responsáveis (Flemmig, 1999).

A composição bacteriana do biofilme dental associada à periodontite envolve mais de 500 espécies microbianas diferentes (Hajishengallis *et al.*, 2011). Entretanto, três são as principais bactérias responsáveis pela sua etiologia: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Loomer, 2004).

A *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) é uma bactéria cocobacilar, gram negativa anaeróbia estrita. Áreas subgengivais, como bolsas periodontais, são pobres em açúcares, mas com presença de moléculas mais simples como péptidos e aminoácidos, resultantes de processos de destruição e morte celular das células do hospedeiro e das bactérias, servindo de fonte de energia para a *P. gingivalis* (How *et al.*, 2016).

A *P. gingivalis* é único organismo procariota parasita humano conhecido que expressa a peptidil arginina deseiminase (PAD), denominada por *P. gingivalis* peptidil arginina deseiminase (PPAD) (Bright *et al.*, 2015). A PAD é a enzima responsável pela citrulinização, uma modificação pós-tradução das proteínas, em que ocorre a conversão do aminoácido arginina em citrulina (Detert *et al.*, 2010).

A PPAD se diferencia da PAD humana, na sua capacidade para citrulinizar arginina livre, na sua estrutura e por atuar independentemente da presença de cálcio. A citrulinização humana ocorre, sobretudo, em macrófagos que sofrem apoptose e é o influxo de cálcio nos macrófagos mortos que estimula a ativação da PAD e conseqüentemente a citrulinização (Routsias *et al.*, 2011; Puijn, 2015).

A resposta inicial à infecção bacteriana leva a uma reação inflamatória local que ativa a resposta imune inata, a amplificação dessa resposta inicial leva a liberação de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores, que intensificam a resposta inflamatória levando a resposta imune adquirida (Cochran, 2008; Graves, 2008).

A doença periodontal pode acometer os elementos dentários tanto pelo acúmulo de biofilme supra e/ou subgengival, porém fatores relacionados a própria resposta imunológica do hospedeiro, podem apresentar influência na progressão dessa doença.

1.3 RESPOSTAS IMUNES

A resposta imune inata faz parte da primeira linha de defesa biológica contra micro-organismos está presente mesmo antes da infecção e está preparada para responder rapidamente a infecções (Kinane *et al.*, 2007). Ela é ativada após a capacidade de defesa primária, ser violada. Recrutamento de células do sistema imunológico, complemento de ativação, identificação e remoção de agentes e ativação da resposta imune adaptativa são as principais ações da resposta imunitária inata (Van Dyke e Kornman, 2008). Os principais componentes da imunidade inata são: barreiras físicas e químicas, como epitélio e agentes antimicrobianos produzidos nas superfícies epiteliais; células fagocíticas, células dendríticas e células assassinas naturais (NK) e outras células linfoides; e proteínas sanguíneas, incluindo membros do sistema complemento e outros mediadores da inflamação (Abbas, 2012).

Durante a resposta inata, as células imunes são ativadas para produzir citocinas por estímulo (Ryan e Majno, 1977). O contato direto com bactérias ou níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias promovem a produção de mediadores inflamatórios por fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais (Janeway e Medzhitov, 2002). Assim, as reações locais da imunidade inata também podem ter uma influência no estado inflamatório sistêmico.

A resposta imune adaptativa está integrada à imunidade inata através da ação de citocinas, como a IL-1 e o TNF- α , que amplificam a reação da resposta inflamatória e melhoram a migração de leucócitos (Yamamoto *et al.*, 1997; Yamamoto *et al.*, 2006). Dois tipos de respostas imunes adaptativas, são

conhecidos: imunidade humoral e imunidade mediada por célula, são mediadas por diferentes componentes do sistema imune e atuam para eliminar diferentes tipos de microrganismos.

A imunidade humoral é mediada por moléculas presentes no sangue e secreções mucosas, denominadas anticorpos, que são produzidos pelos linfócitos B. Os anticorpos reconhecem os antígenos microbianos, neutralizam a infectividade dos microrganismos e focam nos microrganismos para sua eliminação por vários mecanismos efetores (Abbas, 2012).

As células dendríticas são fundamentais na ativação das respostas adaptativas e essenciais para pré-ativação e diferenciação de células T específicas para antígenos (Banchereau e Steinman, 1998). As células T têm um papel fundamental nas doenças periodontais. São funcionalmente divididas em duas principais classes: células T citotóxicas que expressam a molécula CD8 em sua superfície celular e células auxiliares T (Th) que expressam a molécula CD4 (Gemmell *et al.*, 2007). Linfócitos T CD4+ se dividem em 12 duas subpopulações funcionalmente distintas de células Th1 e Th2, sendo que sua distinção funcional é resultado de uma produção diferencial de citocinas (Banchereau e Steinman, 1998). Células Th1 que são, em geral, caracterizadas pela produção de interferon- γ (IFN- γ) e interleucina-2 (IL-2), estão associadas com inflamação e induzem resposta imune mediada por células. Células Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, auxiliam a proliferação e diferenciação dos linfócitos B e estão associadas com resposta humoral (Gemmell *et al.*, 2007).

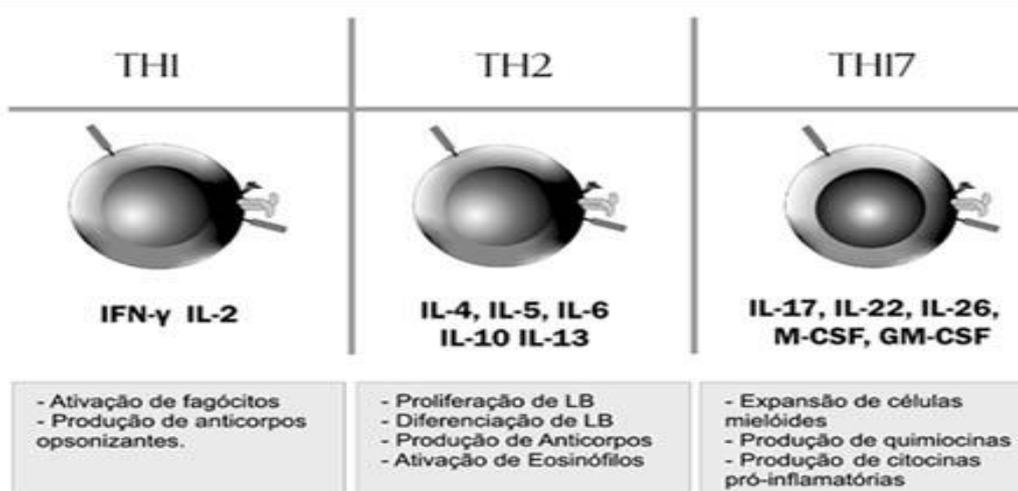
As citocinas fazem parte de um amplo grupo de proteínas secretadas com diversas estruturas e funções, que participam ativamente da regulação e coordenam muitas atividades das células da imunidade inata e adaptativa (Janeway e Medzhitov, 2002). As células do sistema imune secretam, pelo menos, algumas citocinas e expressam receptores específicos de sinalização para várias citocinas. A nomenclatura dada as citocinas é inconsistente, algumas são designadas interleucina, seguida por um número outras denominadas pela primeira atividade biológica atribuída a elas, como fator de necrose tumoral (TNF, do inglês tumor necrosis factor) ou interferon (Abbas, 2012).

Entre as funções das citocinas, destacam-se: o crescimento e diferenciação de todas as células imunes, a ativação de funções efetoras dos linfócitos e fagócitos e o movimento direcionado de células imunes do sangue

para os tecidos e dentro dos tecidos (Graves, 2008). O subgrupo de citocinas estruturalmente relacionadas que regulam a migração e o movimento celular é denominado quimiocinas. Atualmente os fármacos mais efetivos desenvolvidos para tratar doenças imunológicas têm como um de seus alvos as citocinas, o que reflete a importância destas proteínas nas respostas imunes.

1.4 CITOCINAS

Figura 2 – Características gerais das células T auxiliares, subtipos Th1 e Th2 e células Th17



Fonte: Abbas et al., 2017.

1.4.1 IL-4

A IL-4 é produzida por células Th2, mastócitos, basófilos e eosinófilos ativados (Abbas, 2012). Participa da regulação do sistema imunológico em vários níveis. Atua como anti-inflamatório, bloqueando a síntese de IL-1, TNF- α , IL-6 e proteína inflamatória de macrófagos (Neves *et al.*, 2015). Desempenha um papel essencial promovendo a diferenciação de células Th2 enquanto inibe a diferenciação de células Th1, a proliferação e diferenciação de linfócitos B e é um potente inibidor do apoptose.

1.4.3 IL-6

É produzida por várias células, incluindo monócitos / macrófagos, células T e B, queratinócitos, células endoteliais, adipócitos, fibroblastos e algumas células tumorais. Macrófagos e monócitos são fontes importantes no local da inflamação na doença periodontais. A IL-6 é uma citocina multifuncional que possui uma ampla atividade (Kishimoto, 2006). Na inflamação, apresenta um papel fundamental: regula a resposta imune, hematopoese e resposta de fase aguda. Durante reações na imunidade inata, IL-6 ativa células inflamatórias, incluindo macrófagos, linfócitos e hepatócitos, para produzir proteínas como proteína C reativa (PCR) e amilóide A na fase aguda (Kishimoto, 1992). Uma importante atividade biológica da IL-6 é a capacidade de aumentar a reabsorção óssea aumentando a formação de osteoclastos tanto isoladamente como em conjunto com outras agentes, sendo umas das principais citocinas presentes em pacientes com periodontite crônica (Jordan *et al.*, 2017).

1.4.4 IL-10

A IL-10 é conhecida por participar de várias etapas da imunidade antimicrobiana, e suas principais funções são: encerrar respostas inflamatórias e regular a diferenciação e proliferação de células imunes, como as células T, células B, células NK e mastócitos (De Waal Malefyt *et al.*, 1991). IL-10 favorece a atividade fagocítica de monócitos e macrófagos e regula respostas Th1 e Th2 inatas e adaptativas, limitando a ativação de células T e diferenciação nos gânglios linfáticos (Geissler *et al.*, 2002; Mohamed *et al.*, 2007). Previne a apoptose de células B e aumenta sua proliferação e diferenciação para células plasmáticas (Gao *et al.*, 2018).

As principais fontes de IL-10 são os macrófagos, células T ativadas, células dendríticas, monócitos, células B e células do ligamento periodontal também produzem IL-10 (Abbas, 2012).

1.4.5 TNF- α

O TNF- α amplifica as respostas inatas do hospedeiro induzindo a regulação positiva de moléculas de adesão e estimulando a produção de quimiocinas, ele promove o recrutamento de células inflamatórias para o local da inflamação (Graves *et al.*, 2001). A produção inicial de TNF- α por monócitos / macrófagos, leucócitos PMN, fibroblastos (de origem do ligamento gengival e periodontal), células epiteliais, endoteliais e odontoblastos ocorre como resultado da estimulação bacteriana juntamente com a IL-1 β , aumenta a produção de IL-6 (Kishimoto, 2006). O tecido adiposo e várias células imunes no fígado (células de Kupffer, hepatócitos e células T) são conhecidos por sua capacidade de produzir TNF (Abbas, 2012).

Em relação à destruição do tecido periodontal, o TNF- α estimula os fibroblastos a produzirem metaloproteinases de matriz (MMPs), logo, amplificam a destruição da matriz de colágeno. Além disso, o TNF- α aumenta a perda óssea, estimulando a reabsorção óssea osteoclástica e inibindo a síntese de colágeno ósseo. Com isso, o TNF- α estimula a apoptose de fibroblastos, resultando em reparo limitado dos tecidos periodontais (Graves, 2008).

1.4.6 IFN- γ

O IFN- γ é uma citocina pró inflamatória, produzida principalmente por células Th1 CD4+, células NK e algumas células T CD8+. Desempenha um papel fundamental na ativação da resposta imune celular associada a Th1, sendo importante nas infecções tanto virais como bacterianas (Abbas, 2012).

Entre as várias propriedades do IFN- γ relacionadas com a imunorregulação são citadas a inibição da proliferação de células que sintetizam IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 e a diminuição de produção de algumas imunoglobulinas em situações especiais, como IgG1, IgG4, e IgE (Tang *et al.*, 1994).

Elevados níveis de IFN- γ estão relacionados com um aumento na resposta de monócitos a lipopolissacarídeos de bactérias periodontopatogênicas. Estudos sugerem que IFN- γ seja a citocina mais produzida por células T nos tecidos periodontais inflamados, e o aumento da sua

expressão pode estar correlacionado à progressão da doença (Roberts *et al.*, 1997; Suchett-Kaye *et al.*, 1998).

1.5 ARTRITE REUMATOIDE

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica inflamatória autoimune caracterizada por uma sinovite crônica destrutiva que determina importante incapacidade funcional e perda da qualidade de vida (He *et al.*, 2013). Acomete 1% da população mundial, com uma incidência três vezes maior em mulheres quando comparada aos homens, com prevalência semelhante na população brasileira, com pico de incidência na quinta década (Zalewska *et al.*, 2013).

Sua principal característica é a poliartrite simétrica das articulações diartrodiais com predomínio de mãos, punhos e pés, geralmente acompanhada de rigidez pós repouso, principalmente pela manhã com duração maior que uma hora (Turesson *et al.*, 2003).

Doença crônica e progressiva, que quando não realizado tratamento adequado, evolui com deformidades (por exemplo os desvios dos dedos das mãos e pés, dedos em batoeira, pescoço de cisne e em martelo) decorrentes de alterações destrutivas da unidade articular, e conseqüente, incapacidade e perda da função. Além das manifestações articulares, o envolvimento sistêmico pode causar sarcopenia, fadiga, nódulos reumatoides, doença pulmonar, oftalmológica, serosite e vasculite (Carmona *et al.*, 2002). Com os conhecimentos atuais de diagnóstico e manejo terapêutico, pode-se minimizar a destruição articular, deformidade e morte prematura, mudando assim seu prognóstico (Khurana e Berney, 2005).

A etiologia da artrite reumatoide ainda não está totalmente compreendida, e envolve fatores genéticos e ambientais. Um evento-gatilho, possivelmente infecção ou autoimunidade, inicia a inflamação nas articulações. Complexas interações entre múltiplas células imunes e suas citocinas, proteinases e fatores de crescimento mediam a destruição articular e complicações sistêmicas (Khurana e Berney, 2005; Firth, 2011).

A ativação das células T em um hospedeiro imunologicamente suscetível é o evento mais provável para o início do processo reumatoide. A ativação subsequente dessas células T leva a múltiplos efeitos, entre eles a ativação e

proliferação das células endoteliais e da linhagem sinovial, recrutamento e ativação de células pró-inflamatórias adicionais da medula óssea e circulação, secreção de citocinas e proteases por macrófagos e células sinoviais semelhantes e fibroblastos, além da produção de autoanticorpos (Yamanaka, 2005).

As citocinas exercem papéis fundamentais na sua patogênese. Em condições fisiológicas, a atuação das citocinas pró-inflamatórias é contrabalanceada por mediadores com atividade antiinflamatória, como IL-4, IL-10 e antagonista do receptor de IL-1 (IL-1ra). Nas articulações com sinovite, entretanto, o balanço favorece as citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 e IFN- γ (Flemmig, 1999) (Hajishengallis *et al.*, 2011).

1.6 DIAGNÓSTICO DA ARTRITE REUMATÓIDE

O diagnóstico da AR é estabelecido com base em achados clínicos e nos exames complementares. Nenhum exame isoladamente, seja laboratorial, seja de imagem ou histopatológico, estabelece o diagnóstico (Da Mota *et al.*, 2012). Com o objetivo de permitir a classificação de indivíduos com AR, foram estabelecidos critérios pelo American College of Rheumatology (ACR), em 1987, e mais recentemente, pelo American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR), em 2010 (Aletaha *et al.*, 2010).

Segundo a normatização da ACR 1987 (quadro 1), são necessários quatro dos sete critérios seguintes para classificar um paciente como portador de AR, sendo que os quatro primeiros devem estar presentes em pacientes com pelo menos 6 semanas de evolução.

Quadro 1 - Critérios do Colégio Americano de Reumatologia para classificação da

1. Rigidez matinal: rigidez articular durando pelo menos 1 hora;
2. Artrite de três ou mais áreas: pelo menos três áreas articulares com edema de partes moles ou derrame articular, observado pelo médico;
3. Artrite de articulações das mãos (punho, interfalangeanas proximais e metacarpofalangeanas);
4. Artrite simétrica;
5. Nódulos reumatóides;
6. Fator reumatóide sérico;
7. Alterações radiográficas: erosões ou osteopenia localizadas em radiografias de mãos e punhos.

→ Os critérios de 1 a 4 devem estar presentes por pelo menos seis semanas.

O sistema de critérios classificatórios para AR, de 2010, ACR/EULAR (quadro 2) tem como objetivo identificar entre os pacientes que apresentam um quadro recente de artrite, os fatores que melhor discriminam os pacientes com alto risco de desenvolvimento da doença persistente e/ou erosiva *versus* os que não apresentam esse risco e, com isso, identificar os que necessitam de início precoce da terapia (Aletaha *et al.*, 2010).

Quadro 2 - Critérios classificatórios para artrite reumatoide, de 2010, ACR/EULAR.

Acometimento articular (0-5)*	
1 grande articulação	0
2-10 grandes articulações	1
1-3 pequenas articulações (grandes não contadas)	2
4-10 pequenas articulações (grandes não contadas)	3
> 10 articulações (com pelo menos uma pequena)	5
Sorologia (0-3)**	
FR negativo e AAPC negativo	0
FR OU AAPC positivo em baixos títulos	2
FR OU AAPC positivos em altos títulos	3
Duração dos sintomas (0-1)***	
< 6 semanas	0
≥ 6 semanas	1
Provas de atividade inflamatória (0-1)****	
PCR normal e VHS normal	0
PCR anormal ou VHS anormal	1

Para acompanhamento do paciente com AR, é necessário ainda na avaliação inicial da doença, caracterizar os parâmetros que serão úteis para a monitoração adequada da atividade da doença. Para a monitorização de atividade da doença, foram criados e validados Índices Compostos da Atividade de Doença (ICAD). Os principais índices são: o Índice de Atividade da Doença – DAS 28 (do inglês, Disease Activity Score 28), o Índice Simplificado de Atividade de Doença - SDAI (do inglês, Simplified Disease Activity Index) e o Índice Clínico de Atividade de Doença - CDAI (do inglês, Clinical Disease Activity Index).

O DAS 28 utiliza 28 articulações para a contagem das quais são dolorosas e edemaciadas, a velocidade de hemossedimentação ou proteína C reativa como marcador inflamatório, além da avaliação global da saúde ou atividade da doença feita pelo próprio paciente em uma escala de 0 a 100 (Van Der Heijde *et al.*, 1990).

O DAS28 foi categorizado em remissão o valor que fosse $\leq 2,6$; entre 2,6 e 3,2 com baixa atividade; maior que 3,2 e 5,1 com atividade moderada e maior que 5,1 doenças muito ativa (Fransen e Van Riel, 2009).

O *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) é um instrumento, desenvolvido por Fries *et al.* (Fries *et al.*, 1980) e traduzido e validado para o português por Ferraz *et al.* (Ferraz *et al.*, 1990) e avalia o estado funcional dos pacientes com AR, detectando o nível de dificuldade que o paciente apresenta para realizar atividades do dia a dia, assim como a necessidade de assistência para realizá-las. Para cada uma das oito categorias, o paciente indicou o grau de dificuldade em quatro possíveis respostas que iam de “nenhuma dificuldade = 0” até “incapaz de fazê-lo = 3”. A pontuação de cada categoria foi o resultado mais alto de qualquer um dos seus itens. A pontuação final do HAQ foi determinada pela média da pontuação das oito categorias, valores acima de 1 foram considerados com comprometimento importante da qualidade de vida.

1.7 TRATAMENTO DA ARTRITE REUMATOIDE

É recomendado o tratamento inicial para pacientes com a doença ativa o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINE) e/ou corticoides, apesar do efeito rápido sobre os sintomas, esses medicamentos não alteram o curso da doença, por isso são introduzidas as drogas modificadoras de atividade da doença (DMARDs).

Os DMARDs sintéticos, incluem: metotrexato (MTX), Hidrocloroquina (HC), Leflunomida (LF), sulfassalazina (SZ), azatioprina e ciclosporina podem ser substituídos ou adicionados ao tratamento até alcançar o efeito necessário, porém esse processo pode levar tempo e complicações como incapacidade da função podem se acumular. Assim, novas tecnologias para o tratamento da AR foram estabelecidas e as terapias com DMARDs biológicos proporcionaram um avanço no tratamento reumatológico (Tak *et al.*, 2011).

Os imunobiológicos consistem em anticorpos monoclonais que se dirigem contra as moléculas envolvidas nos diversos mecanismos do sistema imunológico, proporcionando uma alternativa aos métodos existentes de tratamentos (Rosman *et al.*, 2013).

Os alvos terapêuticos dos agentes imunobiológicos compreendem: as citocinas, a coestimulação das células T, os linfócitos, os inibidores das moléculas de sinalização intracelular e os inibidores dos fatores de crescimento (McInnes e Schett, 2011).

O TNF é uma citocina fundamental para muitos aspectos da resposta inflamatória. Os macrófagos, mastócitos e linfócitos T ativados (especialmente células Th1) secretam o TNF- α e ele estimula os macrófagos a produzirem metabólitos citotóxicos, aumentando sua capacidade de fagocitose (23). Embora o estímulo inicial para a inflamação das articulações ainda permaneça incerto, acredita-se que os macrófagos secretem o TNF- α na articulação doente, ativando as células endoteliais e também outros monócitos e fibroblastos sinoviais (Burmester e Pope, 2017). As células endoteliais ativadas expressam moléculas de adesão, resultando no recrutamento de células inflamatórias para a articulação. A ativação dos monócitos tem um efeito de feedback positivo sobre células T e ativação dos fibroblastos sinoviais (Ramiro *et al.*, 2015). Os fibroblastos sinoviais ativados secretam interleucinas, que recrutam células inflamatórias, com o tempo, ocorrem hipertrofia sinovial e formação de pannus, levando à destruição do osso e da cartilagem articular, o que acarreta dor e deformidade características da AR (Tanaka *et al.*, 2013).

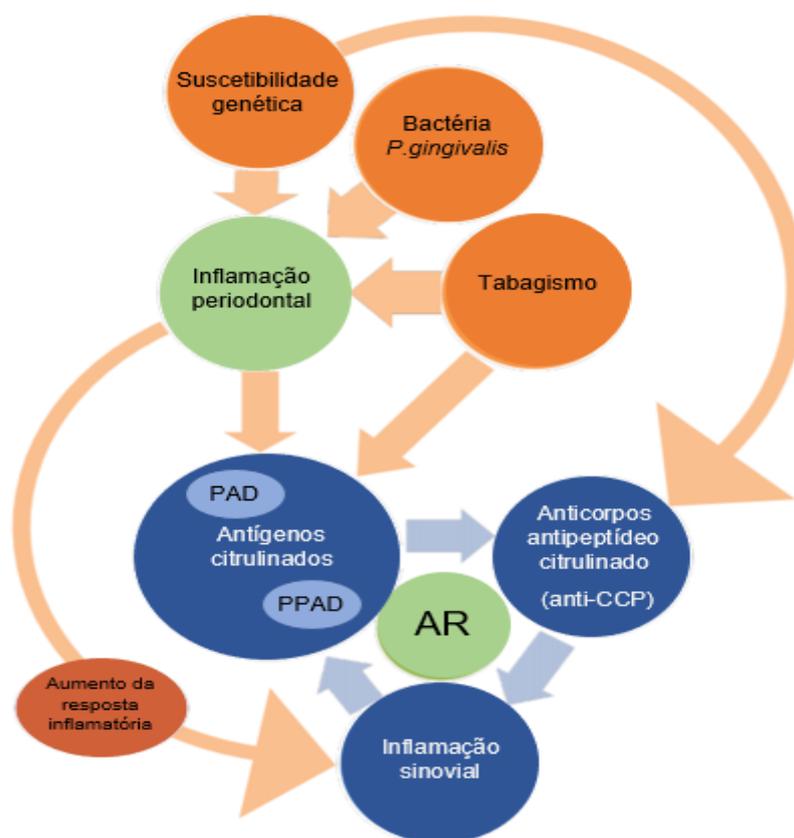
1.8 ARTRITE REUMATOIDE E PERIODONTITE

Apesar da etiologia diferente a AR e a periodontite, essas duas doenças compartilham inúmeras características (figura 3), incluindo destruição de tecidos e ossos; produção de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas, prostaglandinas e enzimas de degradação (MMPs) e fatores de risco comuns, como o tabagismo (De Pablo *et al.*, 2009). A destruição do tecido mole e duro é resultante de um aumento de moléculas sinalizadoras liberadas pelas células inflamatórias na sinóvia/gengiva que promovem, direta ou indiretamente, para a degradação do tecido e do osso (Gamel *et al.*, 2017).

Ambas as doenças têm perfis de citocinas semelhantes, caracterizados por altos níveis de mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-6 e IL1 β) e enzimas de

degradação (MMP1, MMP9 e MMP13) e diminuição dos níveis de mediadores anti-inflamatórios (IL-10 e TGF- β) (Franco *et al.*, 2017).

Figura 3 – Interações entre a periodontite e AR.



Fonte: Elaborado pelo autor

Outro importante fator de risco bem estabelecido tanto para a periodontite quanto para a AR é o tabagismo. Uma maior frequência de perda óssea, perda de inserção e edentulismo é observada em fumantes, em comparação com não-fumantes (Stabholz *et al.*, 2010). Na AR, o tabagismo tem sido relatado para aumentar o risco de doença soropositiva (anti-CCP e FR) em indivíduos geneticamente predispostos (Gerlag *et al.*, 2016).

Anticorpos associados à AR (anti-CCP e FR) foram detectados em pacientes sem AR e com periodontite. Indivíduos com periodontite têm níveis séricos de anti-CCP mais elevados em comparação com controles saudáveis sem periodontite (Lappin *et al.*, 2013). Também foram observados níveis aumentados

de proteínas citrulinas no tecido periodontal inflamado, em líquido gengival crevicular e saliva de pacientes com AR (Svard *et al.*, 2013).

Um estudo observou que a frequência de AR é expressivamente maior em indivíduos com doença periodontal que em indivíduos sem periodontite (3,95% x 0,66%) (Mercado *et al.*, 2000). Outros estudos relataram maior profundidade de sondagem periodontal e pior nível de inserção clínica em indivíduos com AR (Ishi Ede *et al.*, 2008).

Em 2004, uma hipótese sobre a conexão patogênica entre periodontite e AR foi proposta, sugerindo o envolvimento do patógeno periodontal *P. gingivalis* na patogênese da AR, através do processo de citrulinização (Hajishengallis, 2015). A citrulinização é impulsionada pela enzima peptidil arginina deiminase (PAD), e sua atividade depende de altas concentrações de cálcio (Catrina *et al.*, 2014). A *P. gingivalis* é o único agente patogênico conhecido com a capacidade de expressar uma enzima citrulina PAD (*P. gingivalis* PAD, PPAD), equivalente às enzimas PAD (PAD1 - 4 e PAD6) em mamíferos (Rosenstein *et al.*, 2004). Pelo processo de citrulinização, o PPAD inicia uma quebra local de tolerância a proteínas citrulinas geradas na gengiva, seguida de disseminação do epítipo para proteínas hospedeiras-citrulinas na articulação, este mecanismo (juntamente com enzimas humanas PAD) poderia sustentar a produção de ACPAs, que podem preceder o desenvolvimento da AR, implicando assim PPAD na patogênese da RA (Hajishengallis, 2015).

Semelhanças em fatores de risco, vias patológicas comuns, associação na prevalência e no efeito de tratamento periodontal na AR, mostra a importância de explorar a relação entre periodontite e AR.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o perfil clínico da doença periodontal e os níveis salivares das citocinas do perfil Th1, Th2 e Th17, de acordo com o tratamento utilizado na AR.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar o perfil clínico e níveis salivares das citocinas (Th1, Th2 e Th17);
- Correlacionar a atividade da doença AR e doença periodontal;
- Correlacionar o tipo de DMARDs (sintético/biológico) utilizado no tratamento da doença AR com doença periodontal e níveis salivares das citocinas.

3. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo observacional transversal com procedimento laboratorial, composto por 120 mulheres com idade maior que 18 anos e distribuídas em 2 grupos: grupo AR DMARDs sintéticos – (n=60) e grupo AR DMARDs biológicos – (n=60). A coleta foi realizada no período de setembro de 2017 a agosto de 2018 de forma aleatória e consecutiva.

Todos os pacientes foram provenientes do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE).

Todos os envolvidos na pesquisa consentiram previamente a sua inclusão no estudo por meio de assinatura do TCLE (APÊNDICE 1), após aprovação do projeto de pesquisa no CEP-UFPE sob CCAE 72015417.1.0000.5208. Foram rigorosamente seguidos todos os aspectos éticos, especificamente determinados pelas diretrizes e normas da Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

3.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Grupo DMARDs sintéticos (n=60)

Critérios de inclusão:

1. Mulheres, com idade acima de 18 anos, portadoras de artrite reumatoide de acordo com os critérios do Colégio Americano de Reumatologia/Liga Europeia contra o Reumatismo (2010);
2. Estar em tratamento com fármacos antirreumáticos modificadores da doença sintéticos (metotrexato, leflunomida, sulfassalazina e hidroxicloroquina)
3. Consentir a sua participação na pesquisa através da assinatura do TCLE.

Grupo DMARDs biológicos (n=60)

Critérios de inclusão:

1. Mulheres, com idade acima de 18 anos, portadoras de artrite reumatoide de acordo com os critérios do Colégio Americano de Reumatologia/Liga Europeia contra o Reumatismo (2010);
2. Estar em tratamento com fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos (adalimumabe, etecept, infliximabe, golimumabe, abatacepte, tocilizumabe, rituximabe);
3. Consentir a sua participação na pesquisa através da assinatura do TCLE.

Critérios de exclusão (Grupos DMARDs sintéticos e biológicos):

1. gravidez;
2. tabagismo;
3. presença de menos de 8 dentes;
4. presença de aparelho ortodôntico fixo;
5. histórico de tratamento periodontal realizado há menos de 6 meses;
6. histórico de antibioticoterapia nos últimos 3 meses.

3.2 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os pacientes foram submetidos a exame clínico no Serviço de Reumatologia HC-UFPE. O questionário da pesquisa (APÊNDICE 2) foi aplicado para obtenção de dados sócio-demográficos, dados médicos e história clínica da doença.

3.2.1 Avaliação periodontal

Para avaliação clínica da condição periodontal, todos os dentes foram sondados em seis sítios (exceto os terceiros molares) usando uma sonda manual

milimetrada tipo Universidade Carolina do Norte (PCPUNC 15® Hu-Friedy). Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados e registrados:

- Índice de Sangramento Gengival: a sonda periodontal foi inserida 1-2mm intrasulcular e percorrida da face distal para a mesial. Foram registrados ausência (escore 0) e presença (escore 1) de sangramento da margem da gengiva.
- Recessão Gengival (RG): Foi medida como a distância da junção amelocementária (JAC) até a gengiva marginal, medida em milímetros. Se a JAC se localizou apicalmente à margem da gengiva livre será dado um sinal negativo à medida.
- Profundidade de Sondagem (PS): distância entre a margem da gengiva e a porção mais apical da bolsa ou sulco, medida em milímetros.
- Sangramento à sondagem (SS): foi registrada a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento após 30 segundos transcorridos da profundidade de sondagem.
- Nível de Inserção Clínica (NIC): medida que corresponde à distância da junção amelocementária (JAC) até a porção mais apical do sulco ou bolsa periodontal, no ato da sondagem periodontal. Obtida através do somatório das medidas de profundidade de sondagem e recessão gengival.

Foram considerados pacientes portadores de periodontite aqueles com profundidade de sondagem e nível de inserção clínica ≥ 04 mm em dois ou mais sítios examinados, conforme os critérios estabelecidos pela AAP (Academia Americana de Periodontia, 1999).

3.2.2 Avaliação da capacidade funcional

O *Health Assesment Questionnaire* (HAQ) é um instrumento, desenvolvido por Fries *et al.* (Fries *et al.*, 1980) e traduzido e validado para o português por

Ferraz *et al.* (Ferraz *et al.*, 1990) e avalia o estado funcional dos pacientes com AR, detectando o nível de dificuldade que o paciente apresenta para realizar atividades do dia a dia, assim como a necessidade de assistência para realizá-las. Para cada uma das oito categorias, o paciente indicou o grau de dificuldade em quatro possíveis respostas que iam de “nenhuma dificuldade = 0” até “incapaz de fazê-lo = 3”. A pontuação de cada categoria foi o resultado mais alto de qualquer um dos seus itens. A pontuação final do HAQ foi determinada pela média da pontuação das oito categorias, valores acima de 1 foram considerados com comprometimento importante da qualidade de vida.

Também foram utilizadas escalas visuais analógicas (EVA), variando de 0 a 100 mm para avaliar a auto percepção do estado geral (EVA de afecção do estado geral) e da Fadiga na semana anterior informado pelo paciente (Pincus & Sokka, 2003).

3.2.3 Avaliação da atividade da doença AR (DAS 28)

A atividade da doença foi avaliada através do Disease Activity Score 28 (DAS 28). O DAS 28 utiliza 28 articulações para a contagem das quais são dolorosas e edemaciadas, a velocidade de hemossedimentação ou proteína C reativa como marcador inflamatório, além da avaliação global da saúde ou atividade da doença feita pelo próprio paciente em uma escala de 0 a 100 (Van Der Heijde *et al.*, 1990).

O DAS28 foi categorizado em remissão o valor que fosse menor que 2,6; entre 2,6 e 3,2 com baixa atividade; maior que 3,2 e 5,1 com atividade moderada e maior que 5,1 doença muito ativa (Fransen e Van Riel, 2005).

3.2.4 Avaliação da xerostomia

A xerostomia foi avaliada utilizando-se o Inventário de xerostomia proposto por Thomson *et al.* (1999), e validado em português (Da Mata *et al.*, 2012). O inventário é composto por onze itens avaliados por meio de uma escala de Likert variando de 1 a 5. A soma das respostas dos pacientes pode variar de 11 a 55, e valores mais altos correspondem a uma percepção mais pronunciada de xerostomia.

3.2.5 Avaliação do fluxo salivar em repouso (FSR)

A coleta de saliva para avaliação do FSR foi realizada por obtenção da saliva total não-estimulada. A coleta ocorreu segundo método desenvolvido por Navazesh (1992). Em resumo, o paciente foi orientado a não ingerir alimentos, beber ou fumar por um período mínimo de 90 minutos antes da coleta. Após estarem sentados confortavelmente, os pacientes são orientados a levar a cabeça levemente para frente, deglutir e então deixar a saliva escorrer da boca em um recipiente plástico milimetrado durante um período de 15 minutos. A taxa de FSR é determinada pelo valor total dividido por 15, sendo expressa em mililitros por minuto. Valores abaixo de 1,5mL (ou 0,1mL/min) são considerados positivos (Xie *et al.*, 2012).

3.3 Coleta de saliva

A coleta foi realizada por obtenção da saliva total não-estimulada, com adição de inibidor de protease ao fim da coleta, as amostras foram armazenadas a -80 ° C até à realização da análise.

3.4 Dosagem de citocinas

A dosagem foi realizada por detecção dos níveis de citocinas através da técnica de Cytometric Beads Array – CBA.

A técnica de CBA foi utilizada para mensurar quantitativamente as citocinas IFN- γ , TNF, IL-10, IL-6, IL-4, IL-17 e IL-2. Essa técnica utiliza esferas de poliestireno, com diferentes intensidades de fluorescências, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas humanas detectadas no canal FL-2. Todo o protocolo foi seguido conforme as orientações do fabricante. A aquisição dos dados foi realizada no citômetro de fluxo Accuri (BD).

3.5 Análises estatísticas

Foi realizada análise por meio de estatística descritiva e inferencial. Foram utilizados testes paramétricos e não-paramétricos, conforme normalidade avaliado pelo teste de D'Agostino e Pearson. Os dados foram analisados no software GraphPad Prism versão 6.0 para Windows, e apresentados em médias, porcentagens, desvio-padrão e erro-padrão. Foi adotado um índice alfa de 5%.

Para variáveis quantitativas, usamos Kruskal-Wallis, Mann-Whitney ou t de Student; variáveis categóricas foram analisadas por teste qui-quadrado ou de Fisher, conforme aplicabilidade.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. L., A. H.; PILLAI, S. H. I. V. **Imunologia celular e molecular**. 2012.

ADAMS, D. F. The American Academy of Periodontology. **J Periodontol**, v. 67, n. 2, p. 177-9, Feb 1996. ISSN 0022-3492 (Print)
0022-3492 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8667139> >.

ALBANDAR, J. M. Epidemiology and risk factors of periodontal diseases. **Dent Clin North Am**, v. 49, n. 3, p. 517-32, v-vi, Jul 2005. ISSN 0011-8532 (Print)
0011-8532 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15978239> >.

ALETAHA, D. et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis Rheum**, v. 62, n. 9, p. 2569-81, Sep 2010. ISSN 1529-0131 (Electronic)
0004-3591 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20872595> >.

The American Academy of Periodontology 2001 Annual Report. **J Periodontol**, v. 72, n. 12, p. 1801-1815, Dec 2001. ISSN 1943-3670 (Electronic)
0022-3492 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29537521> >.

BAELUM, V.; LOPEZ, R. Periodontal epidemiology: towards social science or molecular biology? **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 32, n. 4, p. 239-49, Aug 2004. ISSN 0301-5661 (Print)
0301-5661 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15239775> >.

BAKER, P. J. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. **Microbes Infect**, v. 2, n. 10, p. 1181-92, Aug 2000. ISSN 1286-4579 (Print)
1286-4579 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11008108> >.

BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. M. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, n. 6673, p. 245-52, Mar 19 1998. ISSN 0028-0836 (Print)
0028-0836 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9521319> >.

BRIGHT, R. et al. Is there a link between carbamylation and citrullination in periodontal disease and rheumatoid arthritis? **Med Hypotheses**, v. 84, n. 6, p. 570-6, Jun 2015. ISSN 1532-2777 (Electronic)
0306-9877 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25801344> >.

BURMESTER, G. R.; POPE, J. E. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 389, n. 10086, p. 2338-2348, Jun 10 2017. ISSN 1474-547X (Electronic)
0140-6736 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28612748> >.

CARMONA, L. et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. **Rheumatology (Oxford)**, v. 41, n. 1, p. 88-95, Jan 2002. ISSN 1462-0324 (Print)
1462-0324 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11792885> >.

CATRINA, A. I. et al. Lungs, joints and immunity against citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. **Nat Rev Rheumatol**, v. 10, n. 11, p. 645-53, Nov 2014. ISSN 1759-4804 (Electronic)
1759-4790 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25072264> >.

COCHRAN, D. L. Inflammation and bone loss in periodontal disease. **J Periodontol**, v. 79, n. 8 Suppl, p. 1569-76, Aug 2008. ISSN 0022-3492 (Print)
0022-3492 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18673012> >.

DA MATA, A. D. et al. Translation, validation, and construct reliability of a Portuguese version of the Xerostomia Inventory. **Oral Dis**, v. 18, n. 3, p. 293-8, Apr 2012. ISSN 1354-523x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01879.x> >.

DA MOTA, L. M. et al. 2012 Brazilian Society of Rheumatology Consensus for the treatment of rheumatoid arthritis. **Rev Bras Reumatol**, v. 52, n. 2, p. 152-74, Mar-Apr 2012. ISSN 1809-4570 (Electronic)
0482-5004 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22460407> >.

DE PABLO, P. et al. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. **Nat Rev Rheumatol**, v. 5, n. 4, p. 218-24, Apr 2009. ISSN 1759-4804 (Electronic)
1759-4790 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19337286> >.

DE WAAL MALEFYT, R. et al. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **J Exp Med**, v. 174, n. 5, p. 1209-20, Nov 1 1991. ISSN 0022-1007 (Print)
0022-1007 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1940799> >.

DETERT, J. et al. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. **Arthritis Res Ther**, v. 12, n. 5, p. 218, 2010. ISSN 1478-6362 (Electronic)
1478-6354 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21062513> >.

FERRAZ, M. B. et al. Reliability of pain scales in the assessment of literate and illiterate patients with rheumatoid arthritis. **J Rheumatol**, v. 17, n. 8, p. 1022-4, Aug 1990. ISSN 0315-162X (Print)

0315-162X (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2213777> >.

FIRTH, J. Rheumatoid arthritis: diagnosis and multidisciplinary management. **Br J Nurs**, v. 20, n. 18, p. 1179-80, 1182, 1184-5, Oct 13-27 2011. ISSN 0966-0461 (Print)

0966-0461 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22164360> >.

FLEMMIG, T. F. Periodontitis. **Ann Periodontol**, v. 4, n. 1, p. 32-8, Dec 1999. ISSN 1553-0841 (Print)

1553-0841 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10863373> >.

FRANCO, C. et al. Matrix Metalloproteinases as Regulators of Periodontal Inflammation. **Int J Mol Sci**, v. 18, n. 2, Feb 17 2017. ISSN 1422-0067 (Electronic)

1422-0067 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28218665> >.

FRANSEN, J.; VAN RIEL, P. L. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. **Clin Exp Rheumatol**, v. 23, n. 5 Suppl 39, p. S93-9, Sep-Oct 2005. ISSN 0392-856X (Print)

0392-856X (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16273792> >.

_____. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. **Rheum Dis Clin North Am**, v. 35, n. 4, p. 745-57, vii-viii, Nov 2009. ISSN 1558-3163 (Electronic)

0889-857X (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19962619> >.

FRIES, J. F. et al. Measurement of patient outcome in arthritis. **Arthritis Rheum**, v. 23, n. 2, p. 137-45, Feb 1980. ISSN 0004-3591 (Print)

0004-3591 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7362664> >.

GAMEL, E. B. et al. Salivary TNFalpha levels in groups of subjects with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. **BMC Res Notes**, v. 10, n. 1, p. 34, Jan 7 2017. ISSN 1756-0500 (Electronic)

1756-0500 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28061876> >.

GAO, Q. et al. Association of interleukin-6 and interleukin-10 expression, gene polymorphisms, and Takayasu arteritis in a Chinese Han population. **Clin Rheumatol**, Aug 31 2018. ISSN 1434-9949 (Electronic)

0770-3198 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30171380> >.

GEISSLER, K. et al. Interleukin-10 inhibits in vitro hematopoietic suppression and production of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with aplastic anemia. **Hematol J**, v. 3, n. 4, p. 206-13, 2002. ISSN 1466-4860 (Print)
 1466-4860 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12189567> >.

GEMMELL, E.; YAMAZAKI, K.; SEYMOUR, G. J. The role of T cells in periodontal disease: homeostasis and autoimmunity. **Periodontol 2000**, v. 43, p. 14-40, 2007. ISSN 0906-6713 (Print)
 0906-6713 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17214833> >.

GERLAG, D. M.; NORRIS, J. M.; TAK, P. P. Towards prevention of autoantibody-positive rheumatoid arthritis: from lifestyle modification to preventive treatment. **Rheumatology (Oxford)**, v. 55, n. 4, p. 607-14, Apr 2016. ISSN 1462-0332 (Electronic)
 1462-0324 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26374913> >.

GJERMO, P. et al. Periodontal diseases in Central and South America. **Periodontol 2000**, v. 29, p. 70-8, 2002. ISSN 0906-6713 (Print)
 0906-6713 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12102703> >.

GORSKA, R. et al. Relationship between clinical parameters and cytokine profiles in inflamed gingival tissue and serum samples from patients with chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 30, n. 12, p. 1046-52, Dec 2003. ISSN 0303-6979 (Print)
 0303-6979 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15002890> >.

GRAVES, D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. **J Periodontol**, v. 79, n. 8 Suppl, p. 1585-91, Aug 2008. ISSN 0022-3492 (Print)
 0022-3492 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18673014> >.

GRAVES, D. T. et al. Tumor necrosis factor modulates fibroblast apoptosis, PMN recruitment, and osteoclast formation in response to *P. gingivalis* infection. **J Dent Res**, v. 80, n. 10, p. 1875-9, Oct 2001. ISSN 0022-0345 (Print)
 0022-0345 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11706944> >.

HAJISHENGALLIS, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nat Rev Immunol**, v. 15, n. 1, p. 30-44, Jan 2015. ISSN 1474-1741 (Electronic)

1474-1733 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25534621> >.

HAJISHENGALLIS, G. et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. **Cell Host Microbe**, v. 10, n. 5, p. 497-506, Nov 17 2011. ISSN 1934-6069 (Electronic)

1931-3128 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22036469> >.

HE, J. et al. Characteristics of Sjogren's syndrome in rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 52, n. 6, p. 1084-9, Jun 2013. ISSN 1462-0332 (Electronic)

1462-0324 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23382356> >.

HOW, K. Y.; SONG, K. P.; CHAN, K. G. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. **Front Microbiol**, v. 7, p. 53, 2016. ISSN 1664-302X (Print)

1664-302X (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903954> >.

ISHI EDE, P. et al. Periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis. **Braz Oral Res**, v. 22, n. 1, p. 72-7, Jan-Mar 2008. ISSN 1807-3107 (Electronic)

1806-8324 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18425249> >.

JANEWAY, C. A., JR.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annu Rev Immunol**, v. 20, p. 197-216, 2002. ISSN 0732-0582 (Print)

0732-0582 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861602> >.

JORDAN, S. C. et al. Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection: Therapeutic Implications of IL-6 Receptor Blockade. **Transplantation**, v. 101, n. 1, p. 32-44, Jan 2017. ISSN 1534-6080 (Electronic)

0041-1337 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27547870> >.

KHURANA, R.; BERNEY, S. M. Clinical aspects of rheumatoid arthritis. **Pathophysiology**, v. 12, n. 3, p. 153-65, Oct 2005. ISSN 0928-4680 (Print)

0928-4680 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16125918> >.

KINANE, D. F. et al. Human variability in innate immunity. **Periodontol 2000**, v. 45, p. 14-34, 2007. ISSN 0906-6713 (Print)

0906-6713 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17850446> >.

KISHIMOTO, T. Interleukin-6 and its receptor in autoimmunity. **J Autoimmun**, v. 5 Suppl A, p. 123-32, Apr 1992. ISSN 0896-8411 (Print) 0896-8411 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1380241> >.

_____. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. **Arthritis Res Ther**, v. 8 Suppl 2, p. S2, 2006. ISSN 1478-6362 (Electronic) 1478-6354 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16899106> >.

LAPPIN, D. F. et al. Influence of periodontal disease, Porphyromonas gingivalis and cigarette smoking on systemic anti-citrullinated peptide antibody titres. **J Clin Periodontol**, v. 40, n. 10, p. 907-15, Oct 2013. ISSN 1600-051X (Electronic) 0303-6979 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23902301> >.

LOOMER, P. M. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v. 34, p. 49-56, 2004. ISSN 0906-6713 (Print) 0906-6713 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14717855> >.

MARCHETTI, E. et al. Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome. **Nutr Metab (Lond)**, v. 9, n. 1, p. 88, Sep 25 2012. ISSN 1743-7075 (Electronic) 1743-7075 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23009606> >.

MCINNES, I. B.; SCHETT, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. **N Engl J Med**, v. 365, n. 23, p. 2205-19, Dec 8 2011. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22150039> >.

MERCADO, F. et al. Is there a relationship between rheumatoid arthritis and periodontal disease? **J Clin Periodontol**, v. 27, n. 4, p. 267-72, Apr 2000. ISSN 0303-6979 (Print) 0303-6979 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10783841> >.

MOHAMED, S. G. et al. Interleukin-10 inhibits RANKL-mediated expression of NFATc1 in part via suppression of c-Fos and c-Jun in RAW264.7 cells and mouse bone marrow cells. **Bone**, v. 41, n. 4, p. 592-602, Oct 2007. ISSN 8756-3282 (Print) 1873-2763 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17627913> >.

NEVES, F. et al. Genetic characterization of interleukins (IL-1alpha, IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-12A, IL-12B, IL-15 and IL-18) with relevant biological roles in lagomorphs. **Innate Immun**, v. 21, n. 8, p. 787-801, Nov 2015. ISSN 1753-4267 (Electronic) 1753-4259 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26395994> >.

PRUIJN, G. J. Citrullination and carbamylation in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. **Front Immunol**, v. 6, p. 192, 2015. ISSN 1664-3224 (Print) 1664-3224 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25964785> >.

RAMIRO, S. et al. Discontinuation rates of biologics in patients with rheumatoid arthritis: are TNF inhibitors different from non-TNF inhibitors? **RMD Open**, v. 1, n. 1, p. e000155, 2015. ISSN 2056-5933 (Print) 2056-5933 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26629366> >.

ROBERTS, F. A.; MCCAFFERY, K. A.; MICHALEK, S. M. Profile of cytokine mRNA expression in chronic adult periodontitis. **J Dent Res**, v. 76, n. 12, p. 1833-9, Dec 1997. ISSN 0022-0345 (Print) 0022-0345 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9390476> >.

ROSENSTEIN, E. D. et al. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. **Inflammation**, v. 28, n. 6, p. 311-8, Dec 2004. ISSN 0360-3997 (Print) 0360-3997 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16245073> >.

ROSMAN, Z.; SHOENFELD, Y.; ZANDMAN-GODDARD, G. Biologic therapy for autoimmune diseases: an update. **BMC Med**, v. 11, p. 88, Apr 4 2013. ISSN 1741-7015 (Electronic) 1741-7015 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23557513> >.

ROUTSIAS, J. G. et al. Autopathogenic correlation of periodontitis and rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford)**, v. 50, n. 7, p. 1189-93, Jul 2011. ISSN 1462-0332 (Electronic) 1462-0324 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21343168> >.

RYAN, G. B.; MAJNO, G. Acute inflammation. A review. **Am J Pathol**, v. 86, n. 1, p. 183-276, Jan 1977. ISSN 0002-9440 (Print) 0002-9440 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/64118> >.

STABHOLZ, A.; SOSKOLNE, W. A.; SHAPIRA, L. Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 53, p. 138-53, Jun 2010. ISSN 1600-0757 (Electronic) 0906-6713 (Linking). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20403110> >.

SUCHETT-KAYE, G.; MORRIER, J. J.; BARSOTTI, O. Interactions between non-immune host cells and the immune system during periodontal disease: role of the

gingival keratinocyte. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 9, n. 3, p. 292-305, 1998. ISSN 1045-4411 (Print)
1045-4411 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9715367> >.

SVARD, A. et al. Salivary IgA antibodies to cyclic citrullinated peptides (CCP) in rheumatoid arthritis. **Immunobiology**, v. 218, n. 2, p. 232-7, Feb 2013. ISSN 1878-3279 (Electronic)
0171-2985 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22652412> >.

TAK, P. P. et al. Inhibition of joint damage and improved clinical outcomes with rituximab plus methotrexate in early active rheumatoid arthritis: the IMAGE trial. **Ann Rheum Dis**, v. 70, n. 1, p. 39-46, Jan 2011. ISSN 1468-2060 (Electronic)
0003-4967 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20937671> >.

TANAKA, Y. et al. Discontinuation of biologics in patients with rheumatoid arthritis. **Clin Exp Rheumatol**, v. 31, n. 4 Suppl 78, p. S22-7, Jul-Aug 2013. ISSN 0392-856X (Print)
0392-856X (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24129132> >.

TANG, M. L. et al. Reduced interferon-gamma secretion in neonates and subsequent atopy. **Lancet**, v. 344, n. 8928, p. 983-5, Oct 8 1994. ISSN 0140-6736 (Print)
0140-6736 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7934430> >.

TURESSON, C. et al. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. **Ann Rheum Dis**, v. 62, n. 8, p. 722-7, Aug 2003. ISSN 0003-4967 (Print)
0003-4967 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12860726> >.

VAN DER HEIJDE, D. M. et al. Judging disease activity in clinical practice in rheumatoid arthritis: first step in the development of a disease activity score. **Ann Rheum Dis**, v. 49, n. 11, p. 916-20, Nov 1990. ISSN 0003-4967 (Print)
0003-4967 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2256738> >.

VAN DYKE, T. E.; KORNMAN, K. S. Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. **J Periodontol**, v. 79, n. 8 Suppl, p. 1503-7, Aug 2008. ISSN 0022-3492 (Print)
0022-3492 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18673003> >.

XIE, S. et al. Implications of Th1 and Th17 cells in pathogenesis of oral lichen planus. **J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci**, v. 32, n. 3, p. 451-7, Jun 2012. ISSN 1672-0733 (Print)

1672-0733.

YAMAMOTO, M. et al. Molecular and cellular mechanisms for periodontal diseases: role of Th1 and Th2 type cytokines in induction of mucosal inflammation. **J Periodontal Res**, v. 32, n. 1 Pt 2, p. 115-9, Jan 1997. ISSN 0022-3484 (Print)

0022-3484 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9085220> >.

YAMAMOTO, T. et al. Cytokine production in human periodontal ligament cells stimulated with Porphyromonas gingivalis. **J Periodontal Res**, v. 41, n. 6, p. 554-9, Dec 2006. ISSN 0022-3484 (Print)

0022-3484 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17076781> >.

YAMANAKA, H. [Clinical epidemiology of rheumatoid arthritis--activities of J-ARAMIS]. **Nihon Rinsho**, v. 63 Suppl 1, p. 24-8, Jan 2005. ISSN 0047-1852 (Print)

0047-1852 (Linking). Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15799312> >.

ZALEWSKA, A. et al. Rheumatoid arthritis patients with xerostomia have reduced production of key salivary constituents. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**, v. 115, n. 4, p. 483-90, Apr 2013. ISSN 2212-4411 (Electronic). Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23312539> >.

4. ARTIGO

O uso de DMARDs influencia o perfil periodontal e de citocinas salivares das mulheres com artrite reumatoide?

Thayanara Silva Melo, Luiz Alcino Gueiros

1- Programa de Pós-Graduação em Odontologia – Universidade Federal de Pernambuco.

Autor correspondente:

Thayanara Silva Melo

Av. Mário Alvares Pereira de Lira, n. 905, apto. 104, Cordeiro

Recife-PE CEP: 50.670-130

+55 81 99874-6438

Thyanaramelo@hotmail.com

4.1 RESUMO

Introdução: A artrite reumatoide (AR) e a periodontite são doenças inflamatórias, frequentemente associadas que compartilham mecanismos patogênicos, de modo que a periodontite tende a ser mais grave nos pacientes com artrite e esse agravamento é bidirecional. Contudo, pouco se sabe sobre o efeito do tratamento da AR na expressão clínica da periodontite. **Objetivo:** Avaliar a influência do tratamento da AR no padrão periodontal e os níveis citocinas salivares de pacientes com AR. **Materiais e Métodos:** Foram avaliadas 120 mulheres com mais de 18 anos e diagnosticadas com AR e classificadas de acordo com o tratamento recebido (DMARDs sintéticos [DS, n=60] e DMARDs biológicos [DB, n=60]). As pacientes foram submetidas à avaliação periodontal e mensuração do fluxo salivar em repouso. Foram coletadas amostras de saliva para dosagem das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α e IFN-gama. **Resultados:** O uso de DMARDs esteve associado com a frequência de periodontite ($p=0,028$). Pacientes em uso de glicocorticóides apresentaram maior frequência de periodontite (80,22% x 19,78%, $p<0,001$). Os níveis salivares das citocinas foram semelhantes entre os dois grupos, entretanto pacientes tratados com DMARDs biológicos apresentaram menores taxas de fluxo salivar ($p<0,001$). **Conclusão:** Pacientes em uso de DMARDs sintéticos apresentaram maior frequência de periodontite. Porém, o uso de glicocorticóides em mulheres com AR aumenta a frequência de periodontite de modo mais importante que a terapia com DMARDs. Não observamos diferenças em relação aos parâmetros periodontais e na expressão das citocinas salivares.

Palavras-chave: Citocinas salivares. Periodontite. Artrite reumatoide.

4.2 ABSTRACT

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) and periodontitis are inflammatory disorders which share some pathogenic mechanisms and may coexist. In patients with RA, periodontitis tends to be more severe. However, data about the effect of RA treatment on clinical manifestation of periodontitis is scarce.

Aim: Evaluate influence of DMARDs (synthetic and biological) on periodontal pattern and on salivary cytokines levels. **Methods:** 120 women (18 years-old and older) diagnosed with RA were evaluated and analysed according to treatment regimen on use (synthetic DMARD and biological DMARD, 60 women in each group). Patients performed periodontal assessment and had their resting salivary flow measured. Samples of saliva were obtained to measure IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α e IFN-gama cytokines levels. **Results:** The use of DMARDs was associated with the frequency of periodontitis ($p = 0.028$). Patients using glucocorticoids had a higher frequency of periodontitis (80.22% x 19.78%, $p = 0.001$). Salivary levels of cytokines were similar between the two groups; however, patients treated with biological DMARDs had lower rates of salivary flow ($p = 0.001$). **Conclusion:** Patients using synthetic DMARDs had a higher frequency of periodontitis. However, the use of glucocorticoids in women with RA increases the frequency of periodontitis more importantly than DMARD therapy. We did not observe differences in relation to the periodontal parameters and in the expression of the salivary cytokines.

Keywords: Salivary cytokines. Periodontitis. Rheumatoid arthritis.

4.3 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que acomete os tecidos periodontais, incluindo osso alveolar, ligamento periodontal e cemento causando destruição e perda de suporte (1). É considerada o principal problema bucal nos países desenvolvidos e uma das doenças que mais comumente afeta estruturas ósseas em humanos (2). As bactérias são essenciais para o início da periodontite, sendo sua progressão e gravidade moduladas pela resposta imune do hospedeiro, fatores comportamentais e genéticos.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica inflamatória autoimune caracterizada por uma sinovite crônica destrutiva de padrão bilateral e simétrico que pode evoluir com importante incapacidade funcional e perda da qualidade de vida (3). Apesar do seu padrão articular, a AR é uma doença sistêmica que eventualmente envolve múltiplos órgãos. Evidências sugerem que pacientes com AR apresentam uma maior prevalência de periodontite, e pacientes com periodontite moderada a grave têm maior prevalência de AR (4-6). Essas relações bidirecionais podem estar relacionadas tanto à patobiologia similar, bem como a padrões compartilhados de resposta imune do hospedeiro.

Neste contexto, entende-se que ambas são doenças multifatoriais, caracterizadas por reações inflamatórias crônicas desencadeadas por um conjunto semelhante de citocinas (principalmente TNF- α , IL-6, IL-4 e IL-17) (7-9). Ainda, tanto a AR quanto a periodontite promovem elevação dos níveis de proteína C-reativa (PCR) e aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α e IL-6, que são responsáveis por aumentar a reabsorção óssea estimulando a formação de osteoclastos e o recrutamento de leucócitos, levando a destruição de tecidos moles e duros que caracteriza as duas doenças (10,11).

O compartilhamento das vias inflamatórias que modulam a progressão tanto na periodontite quanto na AR, fornece alvos terapêuticos comuns (12). Atualmente os fármacos mais efetivos desenvolvidos para tratar doenças autoimunes, têm como um de seus alvos as citocinas, o que reflete a importância destas proteínas nas respostas imunes. O objetivo deste estudo, portanto, foi determinar se o tratamento utilizado na AR interfere no padrão de envolvimento periodontal e no perfil de citocinas salivares.

4.4 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo observacional transversal composto por 120 mulheres portadoras da AR com idade maior que 18 anos e distribuídas em 2 grupos: DMARDs sintéticos (AR/DS, n=60) e DMARDs biológicos (AR/DB, n=60). Os pacientes foram avaliados no período de setembro de 2017 a agosto de 2018 de forma aleatória e consecutiva.

Os pacientes foram provenientes do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE) e consentiram a sua inclusão no estudo por meio de assinatura do TCLE, após aprovação do mesmo no CEP-UFPE sob CCAE 72015417.1.0000.5208. Foram incluídas no estudo mulheres com AR e periodontite, o diagnóstico de artrite reumatoide foi baseado no critério determinado pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) (13) e o diagnóstico de periodontite foi estabelecido através do critério da AAP (Academia Americana de Periodontia, 1999). Foram excluídas do estudo: pacientes grávidas, fumantes, com menos de 8 dentes, pacientes que utilizavam aparelho ortodôntico fixo, com histórico de tratamento periodontal realizado há menos de 6 meses e antibioticoterapia nos últimos 3 meses.

AVALIAÇÃO DOS PACIENTES

Avaliação periodontal

Para avaliação periodontal, todos os dentes (exceto os terceiros molares) foram sondados em seis sítios usando uma sonda manual milimetrada tipo Universidade Carolina do Norte (PCPUNC 15® Hu-Friedy) para avaliação de: índice de sangramento gengival (ISG), recessão gengival (RG), profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS) e nível de inserção clínica (NIC).

Foram considerados pacientes portadores de periodontite aqueles com profundidade de sondagem e nível de inserção clínica ≥ 04 mm em dois ou mais sítios examinados, conforme os critérios estabelecidos pela AAP.

Avaliação da capacidade funcional

A capacidade funcional foi determinada utilizando o Health Assessment Questionnaire (HAQ), avalia o estado funcional de pacientes com

AR, ao detectar o nível de dificuldade dos pacientes apresenta ao realizar atividades do dia a dia, e a necessidade de assistência para realizá-las (14, 15). Para cada uma das oito categorias, o paciente indicou o grau de dificuldade em quatro possíveis respostas que iam de “nenhuma dificuldade = 0” até “incapaz de fazê-lo = 3”. A pontuação final do HAQ foi determinada pela média da pontuação das oito categorias, valores acima de 1 foram considerados como comprometimento importante da qualidade de vida.

Também foram utilizadas escalas visuais analógicas (EVA), variando de 0 a 100 mm para avaliar a auto percepção da Fadiga na semana anterior informado pelo paciente (16).

Avaliação da atividade de doença AR

A atividade da AR foi avaliada através do Disease Activity Score 28 (DAS 28,) que considera a velocidade de hemossedimentação do dia da consulta, o número de articulações edemaciadas e doloridas e a escala EVA do estado geral avaliado pelo paciente e reumatologista assistente. O DAS28 foi categorizado em remissão o valor menor que 2,6; entre 2,6 e 3,2 com baixa atividade; maior que 3,2 e 5,1 com atividade moderada e maior que 5,1 doenças muito ativa (17).

Avaliação da xerostomia

A xerostomia foi avaliada utilizando-se o Inventário de xerostomia proposto por Thomson *et al.* (1999), e validado em português (18). O inventário é composto por onze itens avaliados por meio de uma escala de Likert variando de 1 a 5. A soma das respostas dos pacientes pode variar de 11 a 55, e valores mais altos correspondem a uma percepção mais pronunciada de xerostomia.

Coleta de saliva e fluxo salivar em repouso (FSR)

A coleta de saliva para avaliação do FSR foi realizada por obtenção da saliva total não-estimulada. A coleta ocorreu pelo método de *spitting*, no intervalo entre 08:00 e 12:00hs, num período de coleta de 15 min (19). A taxa de FSR é determinada pelo valor total dividido por 15, sendo expressa em mililitros por minuto. Valores abaixo de 1,5mL (ou 0,1mL/min) são considerados positivos (20). Após a coleta, foi realizada adição de inibidor de protease e as amostras foram armazenadas em freezer -80 ° C até a realização do ensaio.

Dosagem de citocinas

A dosagem foi realizada por detecção dos níveis de citocinas de IFN- γ , TNF- α , IL-17, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2 através de ensaio de *Cytometric Bead Array* (CBA). Essa técnica utiliza esferas de poliestireno, com diferentes intensidades de fluorescências, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas humanas detectadas no canal FL-2 do citômetro de fluxo Accuri (BD), conforme as orientações do fabricante.

Análises estatísticas

Foi realizada análise por meio de estatística descritiva e inferencial. Foram utilizados testes paramétricos e não-paramétricos, conforme normalidade avaliado pelo teste de D'Agostino e Pearson. Os dados foram analisados no software GraphPad Prism versão 6.0 para Windows, e apresentados em médias, porcentagens, desvio-padrão e erro-padrão. Foi adotado um índice alfa de 5%.

Para variáveis quantitativas, usamos Kruskal-Wallis, Mann-Whitney ou t de Student; variáveis categóricas foram analisadas por teste qui-quadrado ou de Fisher, conforme aplicabilidade. Também foram usados os testes de correlação linear Spearman e Pearson, conforme distribuição gaussiana.

4.5 RESULTADOS

Caracterização da amostra

Cento e vinte mulheres participaram do estudo, com média de idade 49,9 anos. A atividade da AR, medida pelo DAS28, foi moderada/alta em 60% dos pacientes, sem diferença de acordo com o tratamento ($p=0,576$). Sessenta e oito por cento dos pacientes do grupo AR/DB faziam uso de anti-TNF- α . Setenta por cento dos pacientes do grupo AR/DS utilizavam glicocorticoides associado ao seu tratamento ($p<0,001$). O FSR foi significativamente reduzido no grupo AR/DB ($p<0,001$), que também apresentou maior pontuação no inventário de xerostomia (0,067). Detalhes estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Características clínicas e laboratoriais de pacientes com artrite reumatoide

Variáveis	Grupos		p
	DMARDs sintéticos (n=60)	DMARDs biológicos (n=60)	
Clínicas			
Idade* (anos) (média±DP)	50,8 ± 13,3	49,0 ± 11,4	0,437
EVA* (média±DP)	55,50 ± 28,07	57,70 ± 26,63	0,600
DAS28** n (%)			
Moderada/alta atividade	34 (47,22)	38 (52,78)	0,576
Remissão/baixa atividade	26 (54,17)	22 (45,83)	
FSR* (média±DP)	1,06 ± 0,61	0,40 ± 0,32	<0,001
Inventário de xerostomia* (média±DP)	20,82 ± 8,46	25,17 ± 11,64	0,067
Tempo de diagnóstico* (média±DP)	11,20±11,08	12,78±8,94	0,089
HAQ** n (%)			
<1	36 (48,65)	38 (52,35)	0,71
>1	24 (52,17)	22 (47,83)	
Glicocorticoide** n (%)			
Sim	56 (70)	24 (30)	<0,001
Não	4 (13,8)	25 (86,2)	
Avaliação periodontal* (média±DP)			
Faces com sangramento	17,90 ± 13,58	19,12 ± 14,77	0,639
Profundidade de sondagem (mm)	2,08 ± 0,44	2,04 ± 0,42	0,631
NIC (mm)	2,55 ± 0,96	2,32 ± 0,66	0,374
CPO-D	17,72 ± 7,56	18,05 ± 6,45	0,782
C	1,77 ± 2,32	1,48 ± 3,03	0,122
P	12,45 ± 7,30	11,58 ± 7,69	0,502
O	3,50 ± 3,93	4,98 ± 4,52	0,080
Laboratorial* [mediana (IQ)]			
IL-17 (pg/mL)	7,6 6,1-9,2	8,2 6,8-9,9	0,179
INF-γ (pg/mL)	6,0 1,3-8,0	3,6 0,9-8,7	0,597
TNF-α (pg/mL)	7,4 6,9-8,5	7,3 6,6-8,2	0,227
IL-10 (pg/mL)	8,4 8,0-9,0	8,2 8,0-8,6	0,132
IL-6 (pg/mL)	15,4 12,2-23,8	12,6 10,5-22,2	0,114
IL-4 (pg/mL)	7,0 6,5-8,3	7,2 6,5-8,2	0,891
IL-2 (pg/mL)	8,7 8,5-9,2	8,6 8,5-9,0	0,324

*Mann-Whitney, **chi-quadrado. EVA= escala visual analógica, DAS 28= Disease Activity Score com taxa de hemossedimentação, FSR= fluxo salivar em repouso, HAQ= Health Assessment Questionnaire, NIC= nível de inserção clínica, CPO-D= dentes cariados, perdidos e obturados.

Periodontite

Pacientes com periodontite apresentaram maior média de idade em relação ao grupo sem periodontite ($52,3 \pm 11,5$ vs. $42,5 \pm 12,4$, $p < 0,001$). A presença de periodontite foi maior no grupo AR/DS ($p=0,028$). Contudo, os parâmetros periodontais se mostraram semelhantes entre os grupos. Não observamos relação entre o tempo de diagnóstico e a presença de periodontite.

Tabela 2 – Avaliação da periodontite por variáveis clínicas e laboratoriais em pacientes com artrite reumatoide

Variáveis	Periodontite		OR (IC95%)	p
	Sim	Não		
Idade* (média±DP)	52,3±11,5	42,5±12,4	—	<0,001
DMARDs** n (%)				
Biológico (n=60)	41 (68,33)	19 (31,67)	0,43 (0,2-1,0)	0,028
Sintético (n=60)	50 (83,33)	10 (16,67)		
Tempo de diagnóstico** n (%)				
<12 meses (n=77)	57	20	—	0,536
>12 anos (n=43)	34	9		
Glicocorticoide** n (%)				
Sim (n=91)	73 (80,22)	18 (19,78)	2,5 (1,0-6,2)	0,047
Não (n=29)	18 (62,07)	11 (37,93)		
DAS 28** n (%)				
Moderada/alta (n=67)	55 (82,09)	12 (17,91)	0,46 (0,2-1,1)	0,072
Remissão/baixa (n=53)	36 (67,92)	17 (32,08)		
Inventário de xerostomia* (média±DP)	23,2±10,6	22,3±10,4	—	0,861
FSR** n (%)				
Alterado (n=42)	30 (71,43)	12 (28,57)	0,70 (0,3-1,3)	0,408
Sem alteração (n=78)	61 (78,21)	17 (21,79)		
Laboratorial* [mediana (IQ)]				
IL- 4 (pg/mL)	7,2 (6,6-8,3)	6,7 (6,4-7,9)	—	0,107
IL- 6 (pg/mL)	15,2 (11,4-23,7)	12,3 (9,4-22,9)	—	0,089
TNF-α (pg/mL)	7,4 (6,8-8,3)	7,1 (6,6-8,3)	—	0,238

*Mann-Whitney, **chi-quadrado, ***chi-quadrado de tendência. DAS 28= Disease Activity Score com taxa de hemossedimentação, FSR= fluxo salivar em repouso.

Pacientes que utilizavam glicocorticoides apresentaram uma chance 2,5 maior de ter periodontite, quando comparados aos pacientes que não utilizavam esta medicação ($p= 0,047$). Não foi observado diferença estatística entre os níveis de citocinas salivares e a presença de periodontite, das citocinas avaliadas IL-4, IL-6 e TNF- α foram as mais expressadas (Tabela 2). Para avaliação dos fatores que interferem na doença periodontal, foi realizada análise multivariada com as mesmas variáveis analisadas na tabela 2, nesse modelo nenhum fator se apresentou como estatisticamente significativo.

Tabela 3 – Fluxo salivar em repouso por variáveis clínicas e laboratoriais

Variáveis	FSR		OR (IC95%)	p
	Reduzido	Normal		
DMARDs** n (%)				
Biológico (n=60)	32 (53,33)	28 (46,67)	5,7 (2,5-13,3)	<0,001
Sintético (n=60)	10 (16,67)	50 (83,33)		
Glicocorticoide** n (%)				
Sim (n=91)	26 (28,58)	65 (71,42)	0,32 (0,1-0,8)	0,009
Não (n=29)	16 (55,17)	13 (44,83)		
Tempo de diagnóstico*** n				
< 1 ano (n=60)	10	50		<0,001
1-3 anos (n=7)	4	3		
> 3 anos (n=53)	28	25		0,214
Inventário de Xerostomia * (média\pmDP)	24,6 \pm 10,9	22,3 \pm 10,2		0,214
Gengivite** (n)				
Sim (n=24)	9 (37,5)	15 (62,5)	1,2 (0,4-3,0)	0,774
Não (n=96)	33 (34,37)	63 (65,62)		

*Mann-Whitney, **chi-quadrado. *** chi-quadrado de tendência. FSR= fluxo salivar em repouso.

Fluxo salivar em repouso e xerostomia

O grupo AR/DB apresentou diminuição significativa do FSR quando comparado ao grupo AR/DS ($p=0,001$), bem como o maior tempo de diagnóstico também cursou com menor FSR. O inventário de xerostomia apresentou 2 pontos a mais nos pacientes que apresentavam fluxo salivar reduzido. Pacientes que utilizavam glicocorticoides apresentaram FSR normal mais frequentemente. Maiores detalhes na Tabela 3.

5.6 DISCUSSÃO

Várias linhas de evidência têm apontado que pacientes com AR apresentam pior saúde periodontal e maior expressão de citocinas salivares quando comparados aos controles saudáveis. O presente estudo avaliou o perfil periodontal e citocinas salivares em pacientes com AR de acordo com tratamento utilizado – DMARDs sintéticos ou biológicos, administrados sozinhos ou em combinação com AINEs e glicocorticoides, afim de controlar a progressão da doença. O uso de DMARDs não afetou o padrão periodontal e dos níveis salivares das citocinas analisadas, porém pacientes em uso de glicocorticoides apresentaram maior frequência de periodontite.

Foi observado que os pacientes do grupo DMARDs biológicos apresentaram menor frequência de periodontite que o grupo DMARDs sintéticos. Setenta e oito por cento dos pacientes do grupo DMARDs biológicos utilizavam anti-TNF- α , é relatado que a periodontite pode ser causada por uma resposta inflamatória excessiva do hospedeiro, devido um aumento na produção de TNF- α . O TNF- α é responsável por modular vários processos biológicos que podem induzir a propagação da inflamação e liberação de mediadores inflamatórios que resultam em destruição óssea do tecido conjuntivo e do osso alveolar, assim o tratamento com anti-TNF- α na AR promove um efeito imunomodulador, provendo melhora na condição periodontal (21, 22).

Os diferentes tipos de DMARDs não afetaram os níveis salivares das sete citocinas analisadas. A maioria dos estudos compara esse perfil de pacientes com controles saudáveis e mostra diferença nos níveis salivares das citocinas (25, 26). Porém, assim como já relatado na literatura (27), observamos que quando os pacientes com AR são analisados isoladamente e estratificados em subgrupos de acordo com o tratamento utilizado, essa diferença passa a não ser evidente. Esses resultados sugerem que o tratamento com DMARDs na AR não apresenta efeito sobre o perfil periodontal de pacientes.

A periodontite estava presente mais frequentemente nos pacientes que faziam uso de glicocorticoides. Evidências apontam que essas substâncias inibem tanto a osteoblastogênese quanto a osteoclastogênese, entretanto os números de osteoclastos são aumentados ou mantidos, enquanto os osteoblastos diminuem acentuadamente (23, 24), e a presença de distúrbios

inflamatórios como a periodontite e AR, podem potencializar o efeito de reabsorção óssea promovida pelos glicocorticoides (24).

A presença de periodontite também não mostrou associação com nenhuma das citocinas salivares. De forma geral, pacientes com AR apresentaram estado periodontal semelhante independente da medicação utilizada. Entretanto, embora sem diferença significativa em nosso estudo, pacientes com atividade de AR moderada e alta, avaliada pelo DAS28, apresentaram mais periodontite quando comparados ao grupo com doença controlada, demonstrando uma alta prevalência de periodontite neste grupo de pacientes. Diversos estudos observaram maiores escores do DAS28 em pacientes com AR e periodontite grave quando comparados com pacientes com AR e periodontite leve ou moderada (5, 28, 29). Sugerindo, assim, que a periodontite pode estar associada a progressão da AR.

Não identificamos diferença significativa nos parâmetros periodontais (PS, SG e NIC) entre pacientes tratados com DMARDs sintéticos ou biológicos. Estudos apontam um maior escore de periodontite nos pacientes com AR em relação aos controles (30, 31). Porém, os escores periodontais não foram diferentes quando comparadas entre os grupos DMARDs. Parâmetros clínicos periodontais desfavoráveis foram notados em pacientes com AR, mas o uso prolongado de DMARDs altera esse perfil, e um menor nível de perda de inserção entre esses pacientes é observado (27).

O FSR no grupo DMARDs biológicos foi menor que no grupo sintético, o que sugere uma possível associação com síndrome de Sjögren (32-34). O infiltrado inflamatório observado na biópsia de glândula salivar menor é um dos critérios para diagnóstico de Sjögren (35), no entanto, esse procedimento não foi realizado no presente estudo e não dispomos de dados clínico-laboratoriais que possam reforçar o diagnóstico de Sjögren. Assim, questiona-se a presença de Sjögren associado ou um efeito direto dos biológicos sobre a diminuição da salivação.

Nosso estudo apresenta algumas limitações, uma delas foi o pequeno tamanho da amostra. Contudo, este é o estudo com maior amostra de pacientes com AR. Nossos resultados não mostraram uma associação dos biomarcadores salivares com os DMARDs (sintéticos e biológicos). Estudos adicionais com populações maiores são importantes para confirmar nossos achados. Outras

limitações incluem o caráter observacional do estudo que não pode provar causalidade, servindo para a geração de hipóteses. A dosagem das citocinas na saliva total também pode interferir nos resultados, uma vez que promove uma homogeneização de todos os locais pontuais de atividade inflamatória, diferentemente das medidas realizadas no fluido gengival crevicular (FGC). Sabe-se que os níveis de citocinas no FGC se encontram mais elevados nos locais de periodontite crônica, em relação aos sítios periodontais saudáveis (36, 37). Ainda, células epiteliais orais também são responsáveis pela secreção de citocinas e um aumento dessa atividade secretória é observado na presença da inflamação periodontal crônica (38). Contudo, a coleta da saliva total em repouso é um método simples, barato, não invasivo e de fácil execução, o que o torna mais amplamente utilizado que a dosagem do FGC.

5.7 CONCLUSÃO

O tratamento da AR não mostrou associação com os níveis salivares das citocinas analisada. Pacientes em uso de DMARDs sintéticos apresentaram maior frequência de periodontite. Porém, o uso de glicocorticoides foi associado de forma mais importante com a periodontite que a terapia com DMARDs. Pacientes em uso de DMARDs biológicos apresentaram fluxo salivar reduzido. Estes achados requerem confirmação por estudos longitudinais, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de futuras estratégias no manejo dos pacientes de acordo com a sua individualidade.

REFERÊNCIAS

1. Parameter on chronic periodontitis with advanced loss of periodontal support. American Academy of Periodontology. *J Periodontol.* 2000;71(5 Suppl):856-8.
2. Benjamin RM. Oral health: the silent epidemic. *Public Health Rep.* 2010;125(2):158-9.
3. Kobayashi T, Yoshie H. Host Responses in the Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis. *Curr Oral Health Rep.* 2015;2:1-8.
4. Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(6):779-87.
5. Dissick A, Redman RS, Jones M, Rangan BV, Reimold A, Griffiths GR, et al. Association of periodontitis with rheumatoid arthritis: a pilot study. *J Periodontol.* 2010;81(2):223-30.
6. Demmer RT, Molitor JA, Jacobs DR, Jr., Michalowicz BS. Periodontal disease, tooth loss and incident rheumatoid arthritis: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiological follow-up study. *J Clin Periodontol.* 2011;38(11):998-1006.
7. Araujo VM, Melo IM, Lima V. Relationship between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: Review of the Literature. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:259074.
8. Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res.* 2013;92(5):399-408.
9. Payne JB, Golub LM, Thiele GM, Mikuls TR. The Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: A Periodontist's Perspective. *Curr Oral Health Rep.* 2015;2:20-9.
10. Gomes MS, Blattner TC, Sant'Ana Filho M, Grecca FS, Hugo FN, Fouad AF, et al. Can apical periodontitis modify systemic levels of inflammatory markers? A systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2013;39(10):1205-17.
11. Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR. Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: A Review. *J Periodontol.* 2005;76 Suppl 11S:2066-74.
12. Han JY, Reynolds MA. Effect of anti-rheumatic agents on periodontal parameters and biomarkers of inflammation: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Implant Sci.* 2012;42(1):3-12.
13. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31(3):315-24.
14. Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum.* 1980;23(2):137-45.
15. Ferraz MB, Oliveira LM, Araujo PM, Atra E, Tugwell P. Crosscultural reliability of the physical ability dimension of the health assessment questionnaire. *J Rheumatol.* 1990;17(6):813-7.
16. Pincus T, Sokka T. Quantitative measures for assessing rheumatoid arthritis in clinical trials and clinical care. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2003;17(5):753-81.
17. Fransen J, van Riel PL. The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(5 Suppl 39):S93-9.
18. da Mata AD, da Silva Marques DN, Freitas FM, de Almeida Rato Amaral JP, Trindade RT, Barcelos FA, et al. Translation, validation, and construct

reliability of a Portuguese version of the Xerostomia Inventory. *Oral Dis.* 2012;18(3):293-8.

19. Lins ESM, Carvalho CN, Carvalho AA, Leao JC, Duarte AL, Gueiros LA. Effect of Xerostomia on the Functional Capacity of Subjects with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol.* 2016;43(10):1795-800.

20. Xie S, Ding L, Xiong Z, Zhu S. Implications of Th1 and Th17 cells in pathogenesis of oral lichen planus. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2012;32(3):451-7.

21. Mayer Y, Balbir-Gurman A, Machtei EE. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy and periodontal parameters in patients with rheumatoid arthritis. *J Periodontol.* 2009;80(9):1414-20.

22. Erciyas K, Sezer U, Ustun K, Pehlivan Y, Kisacik B, Senyurt SZ, et al. Effects of periodontal therapy on disease activity and systemic inflammation in rheumatoid arthritis patients. *Oral Dis.* 2013;19(4):394-400.

23. Sousa LH, Moura EV, Queiroz AL, Val D, Chaves H, Lisboa M, et al. Effects of glucocorticoid-induced osteoporosis on bone tissue of rats with experimental periodontitis. *Arch Oral Biol.* 2017;77:55-61.

24. Teitelbaum SL. Glucocorticoids and the osteoclast. *Clin Exp Rheumatol.* 2015;33(4 Suppl 92):S37-9.

25. Mirrielees J, Crofford LJ, Lin Y, Kryscio RJ, Dawson DR, 3rd, Ebersole JL, et al. Rheumatoid arthritis and salivary biomarkers of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2010;37(12):1068-74.

26. Silvestre-Rangil J, Bagan L, Silvestre FJ, Martinez-Herrera M, Bagan J. Periodontal, salivary and IL-6 status in rheumatoid arthritis patients. A cross-sectional study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017;22(5):e595-e600.

27. Mobini M, Maboudi A, Ali Mohammadpour R. Periodontitis in rheumatoid arthritis patients, abundance and association with disease activity. *Med J Islam Repub Iran.* 2017;31:44.

28. de Smit M, Westra J, Vissink A, Doornbos-van der Meer B, Brouwer E, van Winkelhoff AJ. Periodontitis in established rheumatoid arthritis patients: a cross-sectional clinical, microbiological and serological study. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(5):R222.

29. Monsarrat P, Vergnes JN, Blaizot A, Constantin A, de Grado GF, Ramambazafy H, et al. Oral health status in outpatients with rheumatoid arthritis: the OSARA study. *Oral Health Dent Manag.* 2014;13(1):113-9.

30. Gamel EB, Hashim NT, Satti A, Gismalla BG. Salivary TNFalpha levels in groups of subjects with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *BMC Res Notes.* 2017;10(1):34.

31. Leech MT, Bartold PM. The association between rheumatoid arthritis and periodontitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2015;29(2):189-201.

32. Mirouse A, Seror R, Vicaut E, Mariette X, Dougados M, Fauchais AL, et al. Arthritis in primary Sjogren's syndrome: Characteristics, outcome and treatment from French multicenter retrospective study. *Autoimmun Rev.* 2018.

33. Yang H, Bian S, Chen H, Wang L, Zhao L, Zhang X, et al. Clinical characteristics and risk factors for overlapping rheumatoid arthritis and Sjogren's syndrome. *Sci Rep.* 2018;8(1):6180.

34. Romanowska-Prochnicka K, Olesinska M, Paradowska-Gorycka A, Manczak M, Felis-Giemza A, Wojdasiewicz P, et al. Discrepancies in assessment of patients with rheumatoid arthritis and secondary Sjogren's syndrome by DAS28-ESR and DAS28-CRP. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(2):188-94.

35. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjogren's syndrome: A consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(1):9-16.

36. Ishihara Y, Nishihara T, Kuroyanagi T, Shirozu N, Yamagishi E, Ohguchi M, et al. Gingival crevicular interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist levels in periodontally healthy and diseased sites. *J Periodontal Res.* 1997;32(6):524-9.

37. Reinhardt RA, Masada MP, Kaldahl WB, DuBois LM, Kornman KS, Choi JI, et al. Gingival fluid IL-1 and IL-6 levels in refractory periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1993;20(3):225-31.

38. Sandros J, Karlsson C, Lappin DF, Madianos PN, Kinane DF, Papapanou PN. Cytokine responses of oral epithelial cells to *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Dent Res.* 2000;79(10):1808-14.

APÊNDICES

QUESTIONÁRIO DA PESQUISA

“INTERAÇÃO ENTRE PERIODONTITE CRÔNICA E ARTRITE REUMATOIDE: AVALIAÇÃO ATRAVÉS DE PARÂMETROS CLÍNICOS E IMUNOLÓGICOS”

Crítérios de Exclusão: Sexo masculino, gravidez, tabagismos, presença de pelo menos 6 dentes, antibioticoterapia nos últimos 3 meses, não ser portador de outra doença autoimune

GRUPO Primeira linha de tratamento – AR Número do prontuário _____
 Biológicos – BIO Data da coleta _____
 Controle (C)

DADOS DO PACIENTE

Nome: _____

Data de nascimento: _____ Idade: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Profissão: _____

Cor: Branca Parda Negra Amarela Indígena

DADOS DA DOENÇA (ARTRITE REUMATÓIDE)

Tempo de diagnóstico: _____ anos

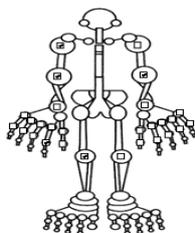
EVA paciente:

Levando em consideração todas as formas como a artrite afeta a sua vida, indique como você está se sentindo neste momento:

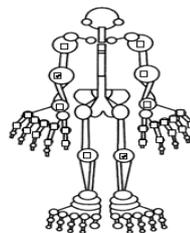


Contagem articular:

DOR



EDEMA



VHS: _____

DAS 28: _____

EXAMES LABORATORIAIS (Resultado/Data)

FR: _____ Anti-Ro: _____

FAN: _____ Anti-CCP: _____

COMORBIDADES:

HAS 1. Sim 2. Não

Doença Cardiovascular 1. Sim 2. Não

Osteoporose 1. Sim 2. Não

Síndrome de Sjogren 1. Sim 2. Não

Outras: _____

MEDICAMENTOS EM USO**DOSE****TEMPO DE USO**

<i>Prednisona</i>		
<i>Hidrocloroquina</i>		
<i>Metotrexato</i>		
<i>Leflunomida</i>		
<i>Sulfassalazina</i>		
<i>Etanercepte (Enbrel)</i>		
<i>Adalimumabe (Humira)</i>		
<i>Certolizumab (Cimzia)</i>		
<i>Golimumabe (Simp)</i>		
<i>Infliximabe (Remicade)</i>		
<i>Abatacepte (Orência)</i>		
Tocilizumabe (actemra)		
Rituximabe (MabThera)		
Tofacitinib		

Outros: _____

QUESTIONÁRIO DE XEROSTOMIA

	Nunca	Quase nunca	Ocasionalmente	Quase sempre	Sempre
Sente a boca seca?					
Sente dificuldade em comer alimentos secos?					
Acorda a noite para beber água?					
A boca fica seca durante a alimentação?					
Molha a boca para facilitar a deglutição					
Come bala ou chicletes para aliviar a secura da boca?					
Tem dificuldade em deglutir alguma comida?					
Sente a pele do rosto ressecada?					
Sente os olhos secos?					
A parte interna do nariz é ressecada?					
Sente os lábios ressecados?					

SINTOMAS Oculares

	SIM	NÃO
Sensação de corpo estranho		
Ardência ou queimação		
Sensação de olho seco		
Fotofobia		
Cansaço visual quando lê ou assiste televisão		
Sensação que a acuidade visual varia (flutua)		
Produção excessiva de muco		
Sensação de arranhão quando pisca os olhos		
Piora com:		
Ar-condicionado		
Vento		
Fumaça de cigarro		

CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO – SÍNDROME DE SJOGREN

Sinais Oculares: 1. Positivo 2. Negativo

Teste de Schirmer: OD = _____ mm/5 min (<5mm em 5 minutos)

OE = _____ mm/5 min (<5mm em 5 minutos)

Histopatologia 1. Positivo 2. Negativo

Número de focos: _____

Envolvimento de glândulas salivares 1. Positivo 2. Negativo

Fluxo salivar não estimulado: _____ ml/5min (<0,5ml em 5 minutos)

HAQ: Health Assessment Questionnaire (0 a 3)

No.	Atividade	Sem dificuldade	Com alguma dificuldade	Com muita dificuldade	Incapaz de fazer
01	Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos seus sapatos, abotoar as suas roupas?				
02	Lavar sua cabeça e os seus cabelos?				
03	Levantar-se de uma maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços?				
04	Deitar-se e levantar-se da cama?				
05	Cortar um pedaço de carne?				
06	Levar à boca um copo ou uma xícara cheia de café, leite ou água?				
07	Abrir um saco de leite comum?				
08	Caminhar em lugares planos?				
09	Subir cinco degraus?				
10	Lavar seu corpo inteiro e secá-lo após o banho?				
11	Tomar um banho de chuveiro?				
12	Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário?				
13	Levantar os braços e pegar um objeto de mais ou menos 2,5 quilos, que está posicionado um pouco acima de sua cabeça?				
14	Curvar-se para pegar suas roupas no chão?				
15	Segurar-se em pé no ônibus ou no metrô?				
16	Abrir potes ou vidros de conserva que tenham sido previamente abertos?				
17	Abrir e fechar torneiras?				
18	Fazer compras na redondeza onde mora?				
19	Entrar e sair de um ônibus?				
20	Realizar tarefas tais como usar a vassoura para varrer e o rodo para puxar água?				

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS – Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa DOENÇA PERIODONTAL E ARTRITE REUMATOIDE: Um estudo do Perfil imunológico Th1, Th2 e Th17 e caracterização do fenótipo gengival por Sondagem Ótica, que está sob a responsabilidade do pesquisador Luiz Alcino Monteiro Gueiros, Av. Prof. Moraes Rego, 1235. Cidade Universitária, Recife-PE, CEP 50670-901, apto. 102, CEP: 51.021-130, Recife - PE – (81) 991381637, lagueiros@gmail.com (inclusive ligações a cobrar). Também participa também desta pesquisa a pesquisadora Marina Lins Maymone de Melo, Telefone para contato: (81) 988644148 e a pesquisadora Thayanara Silva Melo, Telefone para contato: (81) 99874-6438.

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensível, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados. Caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem qualquer penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Justificativa e objetivos: Através desse estudo e de estudos futuros decorrentes deste, poderemos compreender melhor os mecanismos da Periodontite e a Artrite Reumatoide. Este estudo visa caracterizar o perfil clínico, imunológico e fenótipo gengival da doença periodontal em pacientes com artrite reumatoide.

Informações de procedimentos: O Sr. (a) será submetido a um questionário para obtenção dos dados relativos ao seu nome, endereço e história clínica da doença. O Sr. (a) passará por um exame clínico da boca para determinar a quantidade de saliva por meio de um exame simples e não invasivo. Este teste chama-se fluxo salivar em repouso. Para realização deste teste, o Sr. (a) deverá expelir toda a saliva produzida em um recipiente plástico durante 5 minutos. Ao final deste tempo, o avaliador irá mensurar a quantidade de saliva produzida. Esta saliva será coletada para avaliação em laboratório. Caso haja diminuição significativa da quantidade de saliva ou queixa de boca seca procederemos uma remoção de glândulas salivares menores do lábio inferior por meio de uma pequena cirurgia (biópsia) com o objetivo diagnóstico. Pode ser necessária a realização de uma biópsia (remoção de uma pequena parte) na sua

gingiva para avaliação histológica da doença periodontal. O Sr. (a) passará por anestesia local, incisão com lâmina de bisturi, remoção de 5 a 6 glândulas salivares menores e sutura da região. O Sr.(a) receberá informações e orientações pós-operatórias e receberá uma prescrição de analgésicos em caso de desconforto relativos ao procedimento cirúrgico. Uma amostra de sangue será coletada com um tubo de coleta com agulha estéril, serão coletados 10 ml – meia colher de sopa – por punção da veia do braço. Será realizado, também, um teste para determinar a produção de lágrima, na qual no Sr. (a) será colocada uma fita de papel absorvente na pálpebra de cada olho por 5 minutos. Não há métodos alternativos existentes para obtenção da informação desejada nesta pesquisa.

Desconfortos, riscos previsíveis e benefícios esperados: O Sr.(a) poderá apresentar hematoma pós-coleta de sangue periférico (coletado da veia do braço) e dor durante a injeção da agulha. Esses acontecimentos também poderão ser contornados através da experiência do profissional especializado que fará a coleta. A quantidade de sangue a ser coletada será de 10 ml. Além disso, poderão ocorrer reações não esperadas relacionadas ao procedimento da biópsia, tais como: alergia ao anestésico, sangramento e desconforto pós-operatório. O Sr. (a) também poderá sentir um desconforto leve durante o teste de produção da lágrima e durante a sondagem periodontal. Essas situações serão minimizadas pela experiência do examinador, o qual fará o seu exame em local apropriado (Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas e Clínica de Estomatologia da Universidade Federal de Pernambuco) e estará sob a orientação do professor responsável. Vale ressaltar que todos os procedimentos serão realizados respeitando os critérios de higiene necessários. Em relação aos benefícios esperados, caso o Sr.(a) seja diagnosticado com a periodontite, seu tratamento será realizado no ambulatório do setor de Estomatologia da UFPE ao final da pesquisa. O atendimento clínico será realizado pelo pesquisador responsável. Caso necessite de tratamento odontológico, o Sr.(a) será encaminhado(a) ao serviço de Odontologia da UFPE.

Forma de acompanhamento e assistência: Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa serão arquivados em ficha clínica que será armazenada em pastas e armazenadas pelo período de no mínimo 5 anos, no endereço acima citado. Os pesquisadores estarão à disposição para quaisquer esclarecimentos adicionais pessoalmente, por telefone ou e-mail (contato acima).

Garantias: O Sr.(a) será esclarecido quanto a todos os aspectos da pesquisa, antes, durante e após a mesma.

Liberdade de recusa à participação ou de retirar o seu consentimento: O Sr. (a) pode escolher não participar de nossa pesquisa, ou desistir da participação, se achar necessário, em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalização e sem prejuízo, inclusive do seu atendimento clínico.

Sigilo: Seus dados pessoais serão mantidos em sigilo.

Ressarcimento e indenização: Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação).

Você receberá uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo DOENÇA PERIODONTAL E ARTRITE REUMATOIDE: Um estudo do Perfil imunológico Th1, Th2 e Th17 e caracterização do fenótipo gengival por Sondagem Ótica, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Impressão
Digital
(Opcional)

Local e data _____

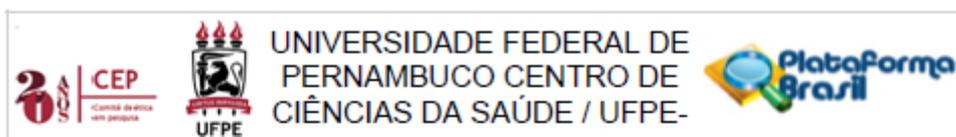
Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores)

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

ANEXOS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DOENÇA PERIODONTAL E ARTRITE REUMATOIDE: Um estudo do Perfil imunológico Th1, Th2 e Th17 e caracterização do fenótipo gengival por Sondagem Ótica

Pesquisador: Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 72015417.1.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

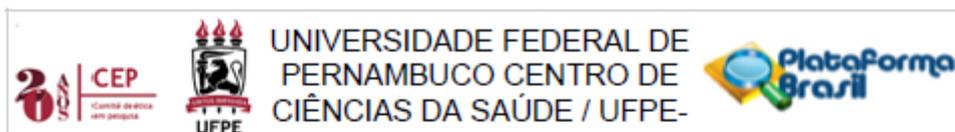
Número do Parecer: 2.597.662

Apresentação do Projeto:

Trata-se de Emenda para alteração da metodologia utilizada para avaliar as dosagens propostas do trabalho original.

Projeto de pesquisa apresentado para tese do curso de doutorado da aluna Marina Lins Maymone de Melo, do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco, sob orientação do Prof. Luiz Alcino Monteiro Gueiros. Será realizado um estudo clínico transversal com indivíduos saudáveis e portadores de artrite reumatoide para avaliação da influência da doença periodontal nos marcadores clínicos e perfil de citocinas da artrite reumatoide. O estudo será composto de dois grupos: artrite reumatoide (AR), formado por pacientes portadores de artrite reumatoide de acordo com os critérios de diagnóstico propostos pelos Colégio Americano de reumatologia/Liga Européia contra o Reumatismo (2010) e controle (C), formado por indivíduos saudáveis pareados para sexo e idade (± 5 anos) com o grupos AR. Serão avaliados 160 pacientes em cada grupo. Todos os pacientes serão provenientes do Serviço de Reumatologia do HC-UFPE. A pesquisa será desenvolvida em duas etapas. Na primeira etapa haverá a avaliação clínica periodontal e dos níveis de citocinas Th1, Th2 e Th17 produzidas por linfócitos em material obtido na gengiva de pacientes saudáveis e com artrite reumatoide. Nesta etapa será estudada a acurácia do OCT no diagnóstico da doença periodontal e sua correlação com os marcadores clínicos classicamente utilizados na avaliação das doença periodontal e artrite reumatoide. Em uma

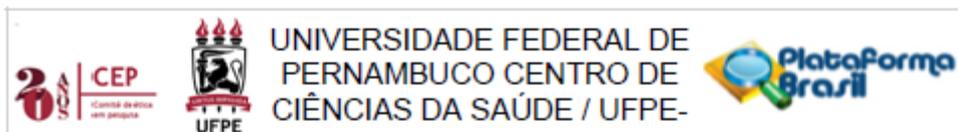
Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** oepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

segunda etapa será realizado estudo genético das citocinas que mostraram associação com doença periodontal e artrite reumatóide na primeira etapa. Assim, estas citocinas terão seus tag SNPs genotipados, que são um polimorfismo de nucleotídeo de base única em uma região de alto desequilíbrio de linkage, representando um grupo de SNPs (haplótipo). A pesquisa estabeleceu como critérios de inclusão para o grupo AR (Artrite Reumatóide) pacientes de ambos os gêneros com idade acima de 18 anos, portadores de artrite reumatoide de acordo com os critérios do Colégio Americano de Reumatologia/Liga Europeia contra o Reumatismo (2010), e como critérios de exclusão gravidez, tabagismo, presença de menos de 15 dentes, tratamento periodontal realizado há menos de 6 meses, antibioticoterapia nos últimos 3 meses. Para o grupo B (Controles saudáveis) os critérios de inclusão serão pacientes maiores de 18 anos que se apresentem como saudáveis, sem sinais de AR ou qualquer outra desordem imunologicamente mediada ou autoimune; E como critérios de exclusão a gravidez, tabagismo, presença de menos de 15 dentes, tratamento periodontal realizado há menos de 6 meses, antibioticoterapia nos últimos 3 meses. Neste sentido, os pacientes e controles serão submetidos a exame clínico no Serviço de Reumatologia HC-UFPE, onde será aplicado um questionário estruturado para obtenção dos dados sócio-demográficos, dados médicos e história da doença atual. Para avaliação da atividade da artrite reumatoide será utilizado o DAS 28 (índice de atividade de doença) caracterizado pelos seguintes itens: número de articulações dolorosas (0-28), número de articulações edemaciadas (0-28), avaliação global do paciente (0-100) e o valor da velocidade de hemossedimentação (VSH) e ou proteína C reativa (PCR). Os valores serão calculados através do aplicativo DAS28 ACR-EULAR para smartphones. Os valores obtidos serão classificados em atividade alta, moderada, baixa ou remissão. Para avaliação clínica da condição periodontal, todos os dentes serão sondados em seis sítios por dente (exceto os terceiros molares) usando uma sonda manual milimetrada tipo Universidade Carolina do Norte (PCPUNC 15® Hu-Friedy). Os seguintes parâmetros clínicos serão avaliados e registrados: Índice de Sangramento Gengival: a sonda periodontal será inserida 1- 2mm intrasulcular e percorrida da face distal para a mesial. Serão registradas ausência (score 0) e presença (score 1) de sangramento da margem da gengiva. Recessão Gengival (RG): será medida como a distância da junção amelocementária (JAC) até a gengiva marginal, medida em milímetros. Se a JAC se localizar apicalmente à margem da gengiva livre será dado um sinal negativo à medida. Profundidade de Sondagem (PS): a distância entre a margem da gengiva e a porção mais apical da bolsa ou sulco, medida em milímetros. Sangramento à sondagem (SS): será registrada a presença (score 1) ou ausência (score 0) de sangramento após 30 segundos transcorridos da profundidade de sondagem. Nível de Inserção Clínica (NIC): medida que corresponde à distância da

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

junção amelocementária (JAC) até a porção mais apical do sulco ou bolsa periodontal, no ato da sondagem periodontal. Será obtida através do somatório das medidas de profundidade de sondagem e recessão gengival.

Serão considerados pacientes portadores de periodontite aqueles com profundidade de sondagem e nível de inserção clínica 04mm em dois ou mais sítios examinados, conforme os critérios estabelecidos pela AAP (Academia Americana de Periodontologia, 1999).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Caracterizar o perfil clínico, imunológico e sondagem ótica da doença periodontal em pacientes com artrite reumatoide.

Objetivos Específicos:

*Avaliar a acurácia da tomografia de coerência ótica para o diagnóstico doença periodontal;

*Caracterizar os pacientes com Artrite reumatoide de acordo gravidade da doença periodontal;

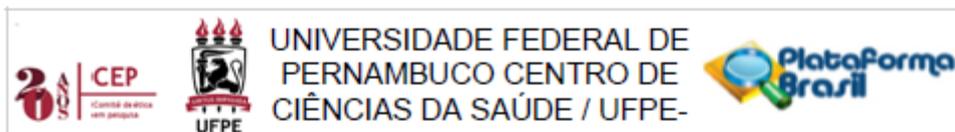
*Associar a doença periodontal com atividade da artrite reumatoide; Determinar perfil de citocinas Th1, Th2 e Th17 em indivíduos com Artrite reumatoide e doença periodontal;

*Caracterizar os polimorfismos dos genes das citocinas que apresentaram associação com a artrite reumatoide e doença periodontal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

No que refere aos riscos, a pesquisa destaca que o voluntário poderá apresentar hematoma pós-coleta de sangue periférico (coletado da veia do braço - quantidade de 10 ml) e dor durante a injeção da agulha. Além disso, poderão ocorrer reações não esperadas relacionadas ao procedimento da biópsia, tais como: alergia ao anestésico, sangramento e desconforto pós-operatório. O voluntário também poderá sentir um desconforto leve durante o teste de produção da lágrima e durante a sondagem periodontal. Essas situações, segundo os pesquisadores, serão minimizadas pela experiência do examinador, o qual fará o seu exame em local apropriado (Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas e Clínica de Estomatologia da Universidade Federal de Pernambuco) e estará sob a orientação do professor responsável. Ressaltam também que todos os procedimentos serão realizados respeitando os

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

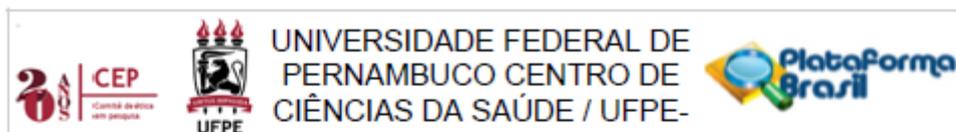
critérios de

higiene necessários. Em relação aos benefícios esperados, caso o voluntário seja diagnosticado com a periodontite, o tratamento do mesmo será realizado no ambulatório do setor de Estomatologia da UFPE ao final da pesquisa. O atendimento clínico será realizado pelo pesquisador responsável. Caso necessite de tratamento odontológico, o Sr.(a) será encaminhado(a) ao serviço de Odontologia da UFPE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores destacam que a artrite reumatoide (AR) e a periodontite são doenças crônicas inflamatórias que dividem diversas características patogênicas, incluindo influências genéticas e ambientais, desequilíbrio do sistema imune, e evolução com destruição dos tecidos ósseo adjacente. Várias linhas de evidência apontam para uma maior prevalência de AR em indivíduos com doença periodontal, e também uma maior prevalência de doença periodontal em indivíduos com AR. Ainda, a presença da *Porphyromonas gingivalis* nos tecidos periodontais pode levar ao estabelecimento e evolução da periodontite bem como a citrulinização de resíduos de arginina, um dos passos iniciais e cruciais ao desenvolvimento da AR. Assim, a periodontite pode ser considerada um fator de risco ou um fator agravante para a AR. Considerando que diagnóstico da doença periodontal é baseado exclusivamente no exame de sondagem, método invasivo e operador-dependente, é importante o desenvolvimento de métodos de diagnóstico não invasivos e reprodutíveis para sua avaliação rotineira. Sendo assim, este estudo apresenta grande relevância para a melhoria da saúde oral da sociedade, sendo importante aliado para a construção dos diagnósticos das duas morbidades.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os seguintes termos foram apresentados:

- 1) FOLHA DE ROSTO preenchida, assinada e carimbada nos campos de Pesquisador Responsável e Instituição Proponente. Como esta pesquisa propõe realização no Hospital das Clínicas de Pernambuco, apresenta também a assinatura e carimbo do Núcleo de Apoio à Pesquisa.
- 2) CARTAS DE ANUÊNCIAS timbrada, assinada e carimbada, com referência à Resolução 466/12 - uma do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE e outra do Curso de Pós-graduação em Odontologia, também da UFPE.
- 3) TERMO DE CONSENTIMENTO para maiores de 18 anos
- 4) CURRÍCULO LATTES de todos os pesquisadores da referida pesquisa
- 5) PROJETO DETALHADO, adequado;
- 6) TERMO DE CONFIDENCIALIDADE assinado pelo pesquisador responsável.
- 7) DECLARAÇÃO DE VINCULO.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

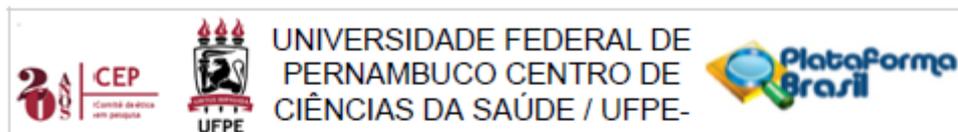
Considerações Finais a critério do CEP:

A emenda foi avaliada e APROVADA pelo colegiado do CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_108845_1_E1.pdf	04/04/2018 20:45:23		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificado.docx	06/03/2018 14:33:49	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	JUSTIFICATIVA_DA_EMENDA.docx	06/03/2018 14:25:44	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	Cartaresposta2.docx	19/10/2017 11:19:49	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)2126-8588 E-mail: cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCORRIGIDOCEP2.docx	19/10/2017 11:18:47	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	Cartaresposta.docx	09/10/2017 11:33:18	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCORRIGIDOCEP.docx	09/10/2017 11:31:53	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	termo_confidencialidade.pdf	27/07/2017 10:40:42	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEPCORRETO.docx	27/07/2017 10:40:10	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracao_doutorado_Marina.pdf	23/07/2017 14:44:06	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	cartaanuenciaalexssandra.jpg	23/07/2017 14:25:11	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	23/07/2017 14:22:13	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	CurriculoLuizAlcino.pdf	18/07/2017 12:17:16	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	CurriculoThayanaraMelo.pdf	18/07/2017 12:16:22	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	CurriculoMarinaMaymone.pdf	18/07/2017 12:15:17	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Folha de Rosto	folharosto.pdf	18/07/2017 12:02:02	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito
Outros	Cartadeanuencia.jpg	18/04/2017 13:50:02	Marina Lins Maymone de Melo	Aceito

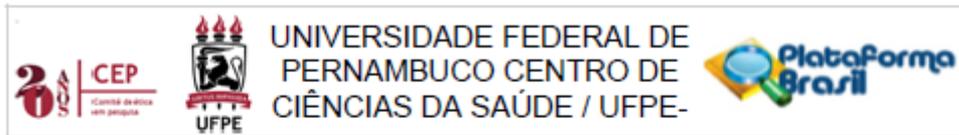
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 50.740-600
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (51)2126-8588 E-mail: cepcos@ufpe.br



Continuação do Parecer: 2.597.662

RECIFE, 13 de Abril de 2018

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador)

NORMAS DA REVISTA

AUTHOR GUIDELINES

Journal of Periodontology Author Instructions

Manuscript Categories

The *Journal of Periodontology* publishes articles relevant to the science and practice of periodontics and related areas. Manuscripts are accepted for consideration with the understanding that text, figures, photographs, and tables have not appeared in any other publication, except as an abstract prepared and published in conjunction with a presentation by the author(s) at a scientific meeting, and that material has been submitted only to this journal.

The *Journal of Periodontology* accepts manuscript submissions online at [ScholarOne Manuscripts](#). To start a new submission, enter the Author Center and click "Start New Submission" in the left menu box. Details regarding each submission step are located at the top of the page in ScholarOne Manuscripts. Authors should prepare manuscripts in accordance with the instructions below. Failure to do so may result in delays or manuscript unsubmission.

MANUSCRIPT CATEGORIES AND SPECIFIC FORMATS

Submissions to the *Journal of Periodontology* should be limited to one of the categories defined below. Specific information regarding length and format is provided for each category. Please also refer to the instructions provided under [General Format](#) and [Style](#). All manuscripts will be reviewed by the Editors for novelty, potential to extend knowledge, and relevance to clinicians and researchers in the field. Some manuscripts will be returned without review, based on the Editors' judgment of the appropriateness of the manuscript for the *Journal of Periodontology*.

ORIGINAL ARTICLES

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

Format

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- Background: Describes the problem being addressed.
- Methods: Describes how the study was performed.
- Results: Describes the primary results.
- Conclusion(s): Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

Introduction

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

Materials

and

Methods

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses.

The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

Results

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and supplemental material as appropriate.

Discussion

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

REVIEW

ARTICLES

The *Journal of Periodontology* is no longer accepting submissions of reviews. Authors may be invited to submit reviews for potential publication, but unsolicited reviews will no longer be accepted.

COMMENTARIES

The purpose of these papers is to provide a forum for discussion of controversies and other issues as they relate to the practice of periodontics and implant dentistry. Full and balanced discussion of controversies on important issues is encouraged. This may result in several authors each presenting a relevant viewpoint. Commentaries should be concise (2,000 to 3,000 words) with no more than 50 references; however, they should be complete and balanced, which may require that the issue or controversy addressed be highly focused.

Introduction

This section should clearly state the clinical question or issues to be discussed and document their importance and timeliness.

Body

The body should present the information supporting all aspects of the issues. This portion of the Commentary may be subdivided as appropriate with headings. Figures, tables, and other illustrative materials may be incorporated. The total combined number of figures and tables should not exceed six.

Summary

The summary should place the issue in perspective and point a way for future directions in addressing the controversy.

Acknowledgment(s)

Since these papers allow authors to express their opinions on a subject, it is extremely important that authors disclose any and all affiliations, financial position, or any other information that constitutes a real or perceived conflict of interest.

CASE

SERIES

The *Journal of Periodontology* no longer publishes Case Reports. Authors are encouraged to submit Case Reports to [*Clinical Advances in Periodontics*](#). The Journal of Periodontology publishes selected Case Series that describe unusual case presentations, complex diagnoses, and novel approaches to treatment within the scope of practice of periodontology. These Case Series provide valuable information for clinicians and teachers in the field.

Case Series report a sufficient number of consecutive or randomized cases to make a persuasive argument for or against the procedure, technique, or concept under discussion. Cases should be relatively homogeneous so that a systematic evaluation of one type of disease, lesion, or condition is made for the procedure under consideration. Also, treatment and documentation should be consistent and standardized for all cases. It is recognized that definitive evidence for the safety and efficacy of any procedure, drug, or device comes primarily from well-designed, randomized, controlled trials. However, well-executed Case Series may lead to hypotheses about the usefulness of new and innovative procedures, drugs, or devices and may therefore be of value to the progress of clinical science. The requirements for patient consent, privacy, and institutional approval are well defined for

manuscripts describing research on human subjects. These basic requirements are described by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) in their Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (available at: www.icmje.org) and are interpreted in the instructions to authors of all peer-reviewed biomedical journals, including the *Journal of Periodontology*. Due to the changing ethical and legal environment around the use of patient information, the editorial team has received multiple questions about the need for subject consent from patients described in Case Series submitted for publication. The following applies to most Case Series. It should be noted that the Editors will determine whether specific Case Series require additional approvals beyond what is described below.

Requirement for Ethics Board Approval

Most Case Series are a retrospective description of clinical findings in cases or an observed course of events that document a new aspect of patient management during the normal course of clinical treatment. Since there is no hypothesis testing, no systematic data collection beyond that which is part of routine clinical practice, no data analysis, and the work has already been done, Case Series do not usually qualify as "research" requiring approval from ethical boards designed to protect humans involved in clinical research. (U.S. Fed. definition: "RESEARCH is any systematic investigation, including research development, testing and evaluation, designed to develop or contribute to generalizable knowledge.")

Example 1: Series of private practice implant cases in patients who have been taking bisphosphonates. Authors describe the findings in each case, which are collected and reported in a table format.

Example 2: Authors collect series of private practice implant cases in patients who have or have not been taking bisphosphonates. The sample size is sufficient for data analysis, and authors analyze and report the incidence of complications. Example 1 does not qualify as "research," but example 2 does qualify and requires ethical approval.

Please see "[Does My Case Series Need IRB Approval?](#)" for more information.

Privacy in Case Series

No patient identifiers should be included in Case Series. If the authors choose to include any subject identifiers, the authors must include the patient's informed written consent to publish the information.

Our policy conforms to the Uniform Requirements, which states: "Patients have a right to privacy that should not be violated without informed consent. Identifying information, including names, initials, or hospital numbers, should not be published in written descriptions, photographs, or pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian) gives written informed consent for publication. Informed consent for this purpose requires that an identifiable patient be shown the manuscript to be published. Authors should disclose to these patients whether any potential identifiable material might be available via the Internet as well as in print after publication." It should be noted that patients may have given a signed "consent to treat," but that does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript. Likewise, patient consent under government privacy rules, such as the Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) in the United States, does not constitute permission to publish their case with personal identifiers unless they have explicitly approved the manuscript.

Format

Case Series must be limited to 2,000 to 3,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

Abstract

Case Series should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- Background: Describes the clinical situation being discussed.
- Methods: Describes the clinical procedures (surgical and non-surgical) performed.

- **Results:** Describes the clinical results.
- **Conclusion(s):** Reports what authors have concluded, specifically clinical implications in practice situations.

Introduction

This section should include a critical review of the pertinent literature.

Case Description and Results

This section describes the cases, including all relevant data. For ease of presentation, tables describing longitudinal data in a chronological form may be useful. Carefully selected, high-quality clinical photographs in full color, as well as radiographs, are encouraged.

Discussion

This should include findings, put into perspective with respect to the field and literature. Unique arguments and new information gained should be summarized. Consideration of the clinical significance of the cases should be emphasized in all sections.

GUEST EDITORIALS

Guest Editorials may be invited or may be submitted from authorities in certain areas as a means of offering their perspective on one or more articles published in the *Journal of Periodontology*, or on other items of interest to the readership.

LETTERS TO THE EDITOR

Letters may comment on articles published in the *Journal of Periodontology* and should offer constructive criticism. If a letter comments on a published article, the author(s) will be provided 30 days to respond to the observations. Letters to the Editor may also address any aspect of the profession, including education and training, new modes of practice, and concepts of disease and its management. Letters should be brief (<1,000 words), focused on one or a few specific points or concerns, and can be signed by no more than five individuals. Citations should be handled as standard references.

GENERAL FORMAT

Manuscripts must be submitted in Microsoft Word. Margins should be at least 1" on both sides and top and bottom and all text should be double-spaced. Materials should appear in the following order:

- Title
- Abstract (or Introduction) and Key Words
- Text
- Footnotes
- Acknowledgment(s)
- References
- Figure Legends
- Tables

Figures should not be embedded in the manuscript. Please see the *Journal of Periodontology* [Digital Art Guidelines](#) for more information on submitting figures. Authors should retain a copy of their manuscript for their own records.

TITLE PAGE

The title page should contain:

1. a concise but informative title;
2. first name, middle initial, and last name of each author, with the highest academic degree and the current institutional affiliation, including department, for each (please use footnote symbols in the sequence *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, etc. to identify authors and their corresponding institutions);
3. disclaimers, if any;
4. the name and address (including fax number and e-mail) of the author responsible for correspondence (please indicate whether fax number and e-mail can be published);
5. word count and number of figures, tables, and references in the manuscript;

6. a short running title of no more than 60 characters, including spaces;
7. a one-sentence summary describing the key finding(s) from the study.

KEY WORDS

A maximum of six key words or short phrases, drawn from [MeSH documentation](#), to facilitate indexing should be listed below the abstract.

ACKNOWLEDGMENT(S) AND CONFLICTS OF INTEREST

Acknowledgment(s)

Following the Discussion, acknowledgments may be made to individuals who contributed to the research or the manuscript preparation at a level that did not qualify for authorship. This may include technical help or participation in a clinical study. Authors are responsible for obtaining written permission from persons listed by name. Acknowledgments must also include a statement that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author.

Conflicts of Interest

In the interest of transparency and to allow readers to form their own assessment of potential biases that may have influenced the results of research studies, the *Journal of Periodontology* requires that all authors declare potential competing interests relating to papers submitted for publication. Conflicts of interest are defined as those influences that may potentially undermine the objectivity or integrity of the research, or create a perceived conflict of interest.

Authors are required to submit:

1. A statement in the acknowledgments section of the manuscript that includes the source of any funding for the study, and defines the commercial relationships of each author. If an author has no commercial relationships to declare, a statement to that effect should be included. This statement should include financial relationships that may pose a conflict of interest or potential conflict of interest. These may include financial support for research (salaries, equipment, supplies, travel reimbursement); employment or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper; and personal financial interests such as shares in or ownership of companies affected by publication of the research, patents or patent applications whose value may be affected by this publication, and consulting fees or royalties from organizations which may profit or lose as a result of publication. An example is shown below.
2. A conflict of interest and financial disclosure form for each author. A link to this electronic form will be e-mailed to each author after manuscript submission.

Conflict of interest information will not be used as a basis for suitability of the manuscript for publication.

Example of Conflict of Interest Statement

This study was supported by a grant from the Acme Implant Corporation, Seoul, Korea. Dr. Lee is on the scientific advisory board for Acme Implant Corporation and gives lectures sponsored by the company. Dr. Smith is a consultant and shareholder of the Brownstone Implant Corporation, Boston, Massachusetts. Dr. Wang is employed full-time as chief technical officer of the Acme Implant Corporation. Drs. Able, Kim, and Bruce report no conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

References should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. A journal, magazine, or newspaper article should be given only one number; a book should be given a different number each time it is mentioned, if different page numbers are cited. All references are identified, whether they appear in the text, tables, or legends, by Arabic numbers in superscript. Journal title abbreviations should be those used by the U.S. National Library of Medicine. If you are uncertain about the correct abbreviation for a journal title, please search for the journal at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>. The use of abstracts as references is strongly discouraged. Manuscripts accepted for publication may be cited and should include the manuscript's DOI, if known. Material submitted, but not yet accepted, should be cited in text as "unpublished observations."

Written and oral personal communications may be referred to in text, but not cited as references. Please provide the date of the communication and indicate whether it was in a written or oral form. In addition, please identify the individual and his/her affiliation. Authors should obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Presented papers, unless they are subsequently published in a proceedings or peer-reviewed journal, may not be cited as references. In addition, Wikipedia.org may not be cited as a reference. For most manuscripts, authors should limit references to materials published in peer-reviewed professional journals. In addition, authors should verify all references against the original documents. References should be typed double-spaced. Examples of references are given below. Authors are encouraged to consult EndNote for the *Journal of Periodontology's* preferred reference style.

Journals

1. Standard journal reference. Note: list all authors if six or fewer; when seven or more, list only first three and add et al. Kurita-Ochiai T, Seto S, Suzuki N, et al. Butyric acid induces apoptosis in inflamed fibroblasts. *J Dent Res* 2008;87:51-55.
2. Corporate author. Federation Dentaire Internationale. Technical report no. 28. Guidelines for antibiotic prophylaxis of infective endocarditis for dental patients with cardiovascular disease. *Int Dent J* 1987;37:235.
3. Journal paginated by issue. Card SJ, Caffesse RG, Smith BA, Nasjleti CE. New attachment following the use of a resorbable membrane in the treatment of periodontitis in dogs. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1989;9(1):59-69.
4. Non-English-language titles translated into English. Buchmann R, Khoury F, Hesse T, Müller RF, Lange DE. Antimicrobial therapy of peri-implant disease (in German). *Z Zahnärztl Implantol* 1996;12:152-157.

Books and Other Monographs

5. Personal author(s). Tullman JJ, Redding SW. *Systemic Disease in Dental Treatment*. St. Louis: The CV Mosby Company; 1983:1-5.
6. Chapter in a book. Rees TD. Dental management of the medically compromised patient. In: McDonald RE, Hurt WC, Gilmore HW, Middleton RA, eds. *Current Therapy in Dentistry*, vol. 7. St. Louis: The CV Mosby Company; 1980:3-7.
7. Agency publication. Miller AJ, Brunelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Loë H. Oral Health of United States Adults. Bethesda, MD: National Institute of Dental Research; 1987. NIH publication no. 87-2868.
8. Dissertation or thesis. Teerakapong A. Langerhans' cells in human periodontally healthy and diseased gingiva. [Thesis]. Houston, TX: University of Texas; 1987. 92 p.

Electronic

Citations

Note: DOIs are preferred for journal articles. If a DOI is not available, please provide a URL and access date.

9. Online-only article. Rasperini G, Acunzo R, Limiroli E. Decision making in gingival recession treatment: Scientific evidence and clinical experience. *Clin Adv Periodontics* 2011;1:41-52. doi:10.1902/cap.2011.100002.
10. Ahead of print. McGuire MK, Scheyer ET, Nevins M, et al. Living cellular construct for increasing the width of keratinized gingiva. Results from a randomized, within-patient, controlled trial [published online ahead of print March 29, 2011]. *J Periodontol*; doi:10.1902/jop.2011.100671.
11. Web sites. Centers for Disease Control and Prevention. Periodontal Disease. Available at: http://www.cdc.gov/OralHealth/topics/periodontal_disease.htm. Accessed September 29, 2010.

TABLES

Tables should be numbered consecutively in Arabic numbers in the order of their appearance in the text. A brief descriptive title should be supplied for each. Explanations, including abbreviations, should be listed as footnotes, not in the heading. Every column should have a heading. Statistical measures of variations such as standard deviation or standard error of the mean should be included as appropriate in the footnotes. Do not use internal horizontal

or vertical rules. The submission system will easily read tables created with Word's table utility or when inserted into Word from Excel.

FIGURES

Please see the *Journal of Periodontology*'s [Digital Art Guidelines](#) for detailed instructions on submitting high-quality images.

FOOTNOTES

Footnotes should be used only to identify author affiliations; to explain symbols in tables and illustrations; and to identify manufacturers of equipment, medications, materials, and devices. Use the following symbols in the sequence shown: *, †, ‡, §, ||, ¶, #, **, ††, etc.

SUPPORTING INFORMATION

The *Journal of Periodontology* includes supplementary/supporting information in the online Journal. All supplementary material should be called out in the text.

Supplementary Figures and Tables

Journal of Periodontology articles are limited to a combined total of six figures and tables in the print publication. Any additional figures and tables should be submitted as supplementary files. Each supplementary figure or table should be submitted as a separate file. Please follow the guidelines regarding resolution, format, etc. for printed figures (see **Figures** above) and tables (see above) when preparing supplementary figures and tables. In summary, each figure, table, or multimedia file should be uploaded separately and the file names should clearly identify the file (i.e., SupplementaryFigure1.tif, SupplementaryTable1.xls, etc.). If file size limitations prevent you from uploading your supplemental material, please e-mail jerry@perio.org.

Supplementary

Videos

The *Journal of Periodontology* publishes short videos to supplement a paper when appropriate. Most standard video formats are accepted. Videos should be edited to remove extraneous material. Authors should adhere to OSHA regulations when preparing their videos. Please e-mail julie@perio.org for information on how to submit videos. If your video is accepted for publication, all authors will need to submit a video copyright form. This form can be found on ScholarOne Manuscripts in the upper right-hand corner under "Instructions & Forms."

Authors can create video abstracts for their articles through Wiley's partnership with Research Square. Visit the [Wiley](#) and [Research Square](#) websites for more information about this video option. Authors are also welcome to create and submit their own videos.

STYLE

Please follow the guidelines below when preparing a manuscript:

- Be sure to put the genus and species of an organism and journal names in the reference section in italics.
- Do not italicize common Latin terms such as *in vitro*, *in vivo*, e.g., or i.e.
- Use a block style; do not tabulate or indent material.
- Refer to the newest edition of the [Glossary of Periodontal Terms](#) published by the American Academy of Periodontology for preferred terminology.
- Authors are encouraged to use the disease classification as outlined in the [Annals of Periodontology, volume 4](#) (1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions).
- Create equations as text, treating any mathematical symbols as special characters and assigning them the Symbol font.
- Measurements of length, height, weight, and volume should be reported in metric units or their decimal multiples. Temperatures should be given in degrees Celsius and blood pressure in millimeters of mercury. All hematologic and clinical chemistry measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Description of teeth should use the American Dental Association (i.e., Universal) numbering system.
- Statistical methods should be described such that a knowledgeable reader with access to the original data could verify the results. Wherever possible, results should be quantified and appropriate indicators of measurement error or uncertainty given. Sole reliance on statistical

hypothesis testing or normalization of data should be avoided. Data in as close to the original form as reasonable should be presented. Details about eligibility criteria for subjects, randomization, methods for blinding of observations, treatment complications, and numbers of observations should be included. Losses to observations, such as dropouts from a clinical trial, should be indicated. General-use computer programs should be listed. Statistical terms, abbreviations, and symbols should be defined. Detailed statistical, analytical procedures can be included as an appendix to the paper if appropriate.

AUTHORSHIP

Individuals identified as authors must meet all of the following criteria established by the International Committee of Medical Journal Editors: 1) substantial contributions to conception and design, or acquisition, analysis, or interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; 3) final approval of the version to be published; and 4) agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Once the *Journal of Periodontology* has received a manuscript, any changes in authorship must be e-mailed to jerry@perio.org and must contain the signature of the author who has been added or removed from the paper. Authors who are added must submit a conflict of interest and financial disclosure form (see below).

Conflict of Interest and Financial Disclosure Form

A conflict of interest and financial disclosure form must be submitted by each author. A link to this electronic form will be e-mailed to each author after manuscript submission. Due to this, **all authors are required to have accounts with valid e-mail addresses in [ScholarOne Manuscripts](#)** and be listed as authors for the submitted paper. Submitting authors are able to create accounts for co-authors.

CLINICAL TRIALS

If your manuscript is reporting a randomized clinical trial, you are required to submit a [CONSORT checklist](#) with your manuscript. More information can be found at www.consort-statement.org.

All clinical trials must be registered prior to submission to the Journal of Periodontology at one of the registration sites listed below. The registration number and date of registration should be included in the Materials and Methods section. **Starting January 1, 2016, all clinical trials must be registered prior to initiation (i.e., recruitment) of the trial.** Please see <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#WhatIs> for more information regarding clinical trials.

- U.S. National Institutes of Health Clinical Trials Registry - <http://www.clinicaltrials.gov>
- EU Clinical Trials Register - <https://www.clinicaltrialsregister.eu>
- WHO International Clinical Trials Registry Platform - <http://www.who.int/ictrp/en>

ANIMAL AND HUMAN TRIALS

All manuscripts reporting the use of human subjects must include a statement that the protocol was approved by the author's institutional review committee for human subjects **AND** that the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration as revised in 2013. Do not use any designation in tables, figures, or photographs that would identify a patient, unless written consent from the patient is submitted. For research involving the use of animals, it is necessary to indicate that the protocol was approved by the author's institutional experimentation committee or was conducted in accordance with guidelines approved by the Council of the American Psychological Society (1980) for the use of animal experiments.

PRODUCT IDENTIFICATION

Use of brand names within the title or text is not acceptable, unless essential when the paper is comparing two or more products. When identification of a product is needed or helpful to explain the procedure or trial being discussed, a generic term should be used and the brand name, manufacturer, and location (city/state/country) cited as a footnote.

REVISED MANUSCRIPTS

Revised manuscripts should be submitted online at [ScholarOne Manuscripts](#) by the same author who submitted the original manuscript. Authors have 30 days to submit a revision. Revisions should adhere to the same requirements as original submissions. Additionally:

1. A detailed response to each reviewer comment for the original manuscript should be included. This response should also describe what changes were made in the manuscript to address each comment in the reviews.
2. Only the most recent version of each file should be uploaded. You may have to delete older files from the Author Center.
3. **Please Any modified or added text must be highlighted in yellow in the revised manuscript.**
4. Figures and tables should be resubmitted with revised manuscripts, even if they were not revised.

REVIEW PROCESS

Peer

Review

The *Journal of Periodontology* is a peer-reviewed publication. All manuscripts are submitted to a minimum of two reviewers and, when appropriate, to a statistical reviewer. Authors are given reviewer comments and additional information or observations as the Editor believes would be helpful. Revised manuscripts are due within 30 days of receipt of the Editor's communication.

MANUSCRIPT ACCEPTANCE

All manuscripts accepted for publication become the property of the American Academy of Periodontology. If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to log in to Author Services where, via the Wiley Author Licensing Service (WALS), they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper. Once all forms are received by the editorial office, an unedited version of the accepted manuscript will appear online ahead of print on the journal's website. Once a manuscript is online ahead of print, it is fully citable based on the Digital Object Identifier (DOI) assigned to the manuscript. Manuscripts will be copyedited, published online, and printed in an issue of the *Journal of Periodontology* approximately 4 to 6 months after acceptance.

Copyright Transfer Agreement (CTA)

If the OnlineOpen option is not selected, the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the [Copyright FAQs](#).

OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected, the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

- Creative Commons Attribution Non-Commercial License
- Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License
- Research Councils UK (RCUK) and Wellcome Trust authors will use the Creative Commons Attribution License

Please visit the terms and conditions of these open access agreements [here](#).

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK), you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and RCUK requirements. For more information on this policy and the journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

Reprints

Corresponding authors may purchase reprints at the time pages are received for proofreading.

Funding Agency Requirements

Consistent with current policies, authors who have papers based on funded research accepted for publication in the *Journal of Periodontology* may make their final accepted

paper or published article available to agency depositories. However, authors should indicate that the paper may not be released publicly until 12 months following final publication in an issue.

Authors are responsible for complying with all funding agency requirements.

QUESTIONS

Inquiries regarding current submissions should be sent to: Editorial Specialist, Journal of Periodontology, 737 North Michigan Avenue, Suite 800, Chicago, IL 60611-6660. Telephone: 312/573-3255; e-mail: jerry@perio.org.

Production queries regarding accepted papers can be emailed to jperprod@wiley.com.