

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ –
CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E SAÚDE – MESTRADO

THAÍS CAROLINE SCHNAUFER

**PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA
POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS
*WISTAR***

CASCAVEL-PR
(Março de 2021)

THAÍS CAROLINE SCHNAUFER

**PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA
POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS
*Wistar***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto sensu* em Biociências e Saúde – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde

ORIENTADORA: Profa. Dra. Patrícia
Oehlmeyer Nassar

CASCADEL-PR
(Março de 2021)

FICHA CATALOGRAFICA

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Schnauffer, Thais Caroline
PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA
POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS
WISTAR / Thais Caroline Schnauffer; orientadora Patricia
Oehlmeyer Nassar. -- Cascavel, 2021.
109 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) --
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em BioCiências
e Saúde, 2021.

1. Artrite Reumatóide. 2. Periodontite. 3. Inflamação . I.
Nassar, Patricia Oehlmeyer , orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

THAÍS CAROLINE SCHNAUFER

**PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA
POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS
*Wistar***

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Oehlmeyer Nassar
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Prof. Dr. Fábio André dos Santos
Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG

CASCAVEL-PR
(Março de 2021)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, sabedoria e resiliência. E em meio a pandemia no ano de 2020 e 2021, me permitiu e permitiu as pessoas próximas de mim seguirem com saúde e fé.

Aos meus pais Otto e Terezinha, que sempre me deram e dão todo o suporte necessário e que me ensinaram a ser uma pessoa humilde e correta. Dedico todas as minhas conquistas a vocês sempre.

A todos os meus familiares: minha irmã, meu irmão, meus sobrinhos que me proporcionavam uma alegria imensa em meio à turbulência nos dias difíceis, ao meu sogro e minha sogra que são como pais e amigos para mim.

Ao meu esposo, por todo o apoio e compreensão nesses anos de relacionamento.

Aos meus amigos: Dilma, Camila e Rafael, há 12 anos partilhando momentos e dando muito apoio nas minhas decisões.

As amigas de mestrado: Alana, Fabi, Bruna, Thiare, Ana Retameiro, Lilian, que me acompanharam nessa caminhada, torcendo por mim, me auxiliando e me apoiando de todas as formas.

A minha orientadora, professora Dra. Patricia Oehlmeyer Nassar, por todo o ensinamento e orientações, por ter acreditado em mim e me apoiado sempre.

A todos os professores envolvidos que de alguma forma me auxiliaram, Prof^o Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini por sempre sanar minhas dúvidas, Prof^a Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro por todo o apoio e auxílio, Prof^a Dra. Rose Meire Costa Brancalhão pelos ensinamentos na área histológica, Prof^a Dra. Taciane Stein que desde o começo contribuiu de forma significativa tanto na parte prática quanto teórica da pesquisa e Prof^o Dr. Carlos Augusto Nassar por todos os ensinamentos e apoio.

A todos os colaboradores do LABEF – que auxiliaram na realização dessa pesquisa, pelos momentos de descontração e risadas. Às meninas da odontologia – Edi e Fran, que me auxiliaram muito e em plena pandemia.

Ao programa de pós-graduação em Biociências e Saúde e Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade da realização dessa pesquisa.

À Capes, pela bolsa de estudos.

Obrigada por acreditarem em mim.

RESUMO

SCHNAUFER, T. C. **PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS *WISTAR***. 108 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus de Cascavel, Unioeste, 2021.

A periodontite é uma doença inflamatória multifatorial crônica que leva à liberação de mediadores inflamatórios contribuindo para uma resposta inflamatória sistêmica. Evidências suportam a associação da periodontite com o desenvolvimento de doenças inflamatórias sistêmicas como a artrite reumatóide (AR). A AR é uma doença sistêmica autoimune que causa inflamação sinovial crônica. Estudos elucidam a associação das patologias, demonstrando que o tratamento da periodontite influenciou de forma benéfica na AR e, na presença de ambas o curso clínico se acentua expressivamente. No entanto, ainda existem lacunas sobre os efeitos deletérios quando há a associação das doenças em relação a dor, edema e comprometimento morfológico dos tecidos sinoviais e periodontais. Ainda, buscou-se analisar as repercussões da injeção intradérmica e intra-articular administradas de forma isolada na periodontite, uma vez que no modelo experimental de AR são necessárias ambas as injeções. Portanto, o presente estudo avaliou se a periodontite, por meio da inflamação sistêmica, potencializa os efeitos deletérios da AR. Para tanto 51 ratos *Wistar* machos foram randomizados em seis grupos: grupo controle (GC, n= 8), grupo artrite reumatóide (GAR, n=9), grupo periodontite (GP, n=9), grupo periodontite e artrite reumatóide (GPAR, n=9), grupo periodontite e intra-articular (GPJA, n=9) e grupo periodontite e intradérmica (GPID, n=7). Os animais foram submetidos aos protocolos de indução da periodontite por meio de ligadura e AR por inoculação do Adjuvante Completo de Freund (CFA). As avaliações funcionais sobre a incapacidade motora, limiar nociceptivo, edema articular e força muscular foram realizadas em determinados períodos no experimento, resultando em um total de 9 avaliações feitas. Após 30 dias os animais foram eutanasiados e o líquido sinovial do joelho direito foi coletado para contagem total de leucócitos, as hemimandíbulas do lado direito foram coletadas para análise radiográfica, as articulações do joelho direito e as hemimandíbulas do lado esquerdo foram processadas e foto documentadas para análise morfológica e histométrica, respectivamente. Nas avaliações funcionais o grupo AR demonstrou indícios de redução de edema e melhora de força muscular nas últimas avaliações, isso não ocorreu para o grupo que continha a associação das patologias, indicando que na presença das duas doenças há um comprometimento constante no processo inflamatório e na fraqueza muscular. Além disso, no grupo submetido à ligadura e à injeção intra-articular, observou-se que na maioria das variáveis analisadas obteve-se a mesma repercussão do que o grupo com periodontite e duas inoculações de CFA, sugerindo que nesse modelo experimental somente a periodontite e a injeção intra-articular causaram alterações necessárias. Na migração leucocitária, houve um aumento significativo no grupo periodontite associado a AR, ademais, na análise

morfológica da membrana sinovial o grupo que apresentou intenso infiltrado inflamatório, espessamento da íntima sinovial, fibrose e desorganização adipocitária foi também naquele com as doenças associadas, demonstrando um acentuado comprometimento dos fluidos sinoviais na presença das duas patologias. Por fim, nas análises radiográficas e histométricas da distância JCE a COA, o grupo que obteve maior comprometimento, ou seja, maior distância dessas estruturas, foi o grupo que continha ambas as patologias. Baseado nesses achados, conclui-se que a periodontite é um fator de risco potencializador dos efeitos da AR.

Palavras-Chaves: Periodontite. Artrite Experimental. Inflamação. Adjuvante de Freund.

ABSTRACT

SCHNAUFER, T. C. **EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AS A RISK FACTOR FOR POTENTIALIZATION OF THE EFFECTS OF RHEUMATOID ARTHRITIS IN WISTAR RATS**. 108 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus de Cascavel, Unioeste, 2021.

Periodontitis is a chronic multifactorial inflammatory disease that leads to the release of inflammatory mediators contributing to a systemic inflammatory response. Evidence supports the association of periodontitis with the development of systemic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis (RA). RA is a systemic autoimmune disease that causes chronic synovial inflammation. Studies elucidate the association of these pathologies, demonstrating that the treatment of periodontitis has a beneficial influence on RA, and that in the presence of both the clinical course is significantly accentuated. However, there are still gaps about the deleterious effects when there is an association of diseases in relation to pain, edema, and morphological impairment of synovial and periodontal tissues. In addition, we sought to analyze the repercussions of intradermal and intra-articular injections administered in isolation on periodontitis, since both injections are necessary in the experimental model of RA. Therefore, the present study evaluated whether periodontitis, by means of systemic inflammation, potentiates the deleterious effects of rheumatoid arthritis. For this purpose 51 male Wistar rats were randomized into six groups: control group (CG, n=8), rheumatoid arthritis group (RAG, n=9), periodontitis group (PG, n=9), periodontitis and rheumatoid arthritis group (PRAG, n=9), periodontitis and intra-articular group (PIAG, n=9), and periodontitis and intradermal group (PIDG, n=7). The animals were subjected to the protocols of induction of periodontitis by ligation and RA by FCA. Functional assessments on motor disability, nociceptive threshold, joint edema, and muscle strength were performed at certain periods in the experiment, resulting in a total of 9 assessments made. After 30 days the animals were euthanized and the synovial fluid of the right knee was collected for total leukocyte count, the right hemimandibles were collected for radiographic analysis, and the right knee joints and left hemimandibles were processed and photo-documented for morphological and histometric analysis, respectively. In the functional evaluations the RA group showed signs of reduction of edema and improvement of muscle strength in the last evaluations; this did not occur for the group that contained the association of pathologies, indicating that in the presence of both diseases there is a constant compromise in the inflammatory process and in muscle weakness. Moreover, in the group submitted to ligation and intra-articular injection, it was observed that most of the variables analyzed had the same repercussion as the group with periodontitis and two inoculations of FCA, suggesting that in this experimental model only periodontitis and intra-articular injection caused the necessary changes. In the leukocyte migration, there was a significant increase in the periodontitis group associated with RA; furthermore, in the morphological analysis of the synovial membrane, the group that showed intense inflammatory infiltrate, thickening of the synovial intima, fibrosis, and adipocyte disorganization was also the one with the

associated diseases, demonstrating a marked impairment of synovial fluids in the presence of the two pathologies. Finally, in the radiographic and histometric analyses of the distance CEJ to ABC, the group with the greatest impairment, that is, the greatest distance between these structures, was the group that had both pathologies. Based on these findings, we conclude that periodontitis is a potentiating risk factor for the effects of rheumatoid arthritis.

Key words: Periodontitis. Experimental Arthritis. Inflammation. Freund's adjuvant.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema do dente e as suas estruturas de suporte e proteção, periodonto	23
Figura 2 - Figura ilustrativa da anatomia da articulação.....	33
Figura 3 – Esquemática dos grupos amostrais.....	40
Figura 4 – Delineamento das induções das patologias e avaliações.	41
Figura 5 – Indução da Artrite Reumatóide.....	42
Figura 6 - Fotos ilustrativas dos aparatos necessários para indução da periodontite por meio da ligadura	43
Figura 7 - Foto ilustrativa da colocação da ligadura.	44
Figura 8 - Avaliação da incapacidade articular.....	45
Figura 9 - Avaliação do limiar nociceptivo	46
Figura 10 - Foto ilustrativa da avaliação do edema articular com paquímetro não digital.....	47
Figura 11 - Foto ilustrativa do aparato para avaliação da força de preensão.....	48
Figura 12 - Análise da migração leucocitária.....	49
Figura 13 - Foto ilustrativa da radiografia da hemimandíbula direita de rato Wistar.....	51
Figura 14 - Fotomicrografia do dente de rato.....	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação para doenças e condições periodontais e peri-implantares.....	22
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AAP	Academia Americana de Periodontia
ACPA	Autoanticorpos Antipeptídeo Citrulinados Cíclico
ACR	Colégio Americano de Reumatologia
AINEs	Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais
AR	Artrite Reumatóide
CCP	Peptídeo Citrulinado Cíclico
CFA	Adjuvante Completo de Freund
Cm	Centímetros
COA	Crista óssea alveolar
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DMARD	Drogas Antirreumáticas Modificadoras da Doença
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EFP	Federação Européia de Periodontia
EULAR	Liga Europeia Contra o Reumatismo
FR	Fator Reumatóide
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
IFN- γ	Interferon Gama
IL	Interleucina
JCE	Junção cimento-esmalte
LABEF	Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional
LELRF	Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos
MEC	Matriz Extracelular
mg/ml	Miligramas por Mililitros
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MMPs	Metaloproteinases da Matriz
N	Número
Nm	Nanômetros
OPG	Osteoprotegerina
PAD	Peptídeo Arginina Deiminase

PCR	Proteína C-Reativa
RANK	Receptor Ativador do Fator Nuclear Kapa B
RANKL	Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kapa B
TCA	Ácido Tricloroacético
TEP	Tempo de Elevação da Pata
TGF- β	Fator de Crescimento e Transformação Beta
Th17	Linfócitos T Auxiliar Tipo 17
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TRAIL	Ligante Indutor de Apoptose Relacionado com o TNF
UNIOESTE	Universidade Estadual do Oeste do Paraná
X	Vezes
%	Por Cento
®	Registro
μ l	Microlitros
μ m	Micrômetros

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	17
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3 REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 Periodontite	21
3.2 Periodontite induzida por ligadura	27
3.3 Artrite Reumatóide	29
3.4 Artrite reumatóide induzida por Adjuvante Completo de Freund	34
3.5 Associação da periodontite e artrite reumatóide	35
4 METODOLOGIA	39
4.1 Caracterização da amostra	39
4.2 Procedimentos	41
4.3 Indução da artrite reumatóide.....	41
4.4 Indução da periodontite	43
4.5 Avaliações Funcionais.....	44
4.5.1 Avaliação da Incapacidade Motora.....	44
4.5.2 Avaliação da Nocicepção	45
4.5.3 Avaliação do Edema Articular	46
4.5.4 Avaliação da Força Muscular	47
5 Eutanásia dos animais	48
5.1 Leucograma do Fluido Sinovial	48
5.2 Morfologia da Membrana Sinovial	49
5.3 Análise Radiográfica da Mandíbula	50
5.4 Histometria da mandíbula.....	51
6 Análise Estatística	52

7 ARTIGO	54
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
9 AGRADECIMENTOS	81
10 REFERÊNCIAS GERAIS	82
ANEXO 1.....	97
ANEXO 2.....	98

1. INTRODUÇÃO GERAL

A periodontite pode ser definida como uma doença inflamatória multifatorial crônica associada a biofilmes de placa disbiótica (bacteriana) e levar a destruição progressiva do aparato de inserção dental (PAPAPANOU et al., 2018). Estima-se que na população mundial sua prevalência seja superior à 50% ou mais nos indivíduos adultos, sendo que a forma grave da doença se apresenta em torno de 10% nos indivíduos (BORGNAKKE et al., 2013).

O biofilme bacteriano aderido à superfície dentária, desencadeia uma intensa reação inflamatória (GARLET et al., 2006). Esse mecanismo inflamatório libera endotoxinas que ativam citocinas pró-inflamatórias (BASTOS et al., 2005) como as interleucinas IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Proteína C-Reativa (PCR) e IL-17 (GARLET et al., 2012; LINS et al., 2007; SCHENKEIN e LOOS, 2013; BASTOS et al., 2005; RODRIGUES et al., 2009). Essas citocinas causam a destruição de fibras colágenas e constituintes da matriz do tecido conjuntivo do ligamento periodontal e osso alveolar, juntamente com a formação de bolsas periodontais (SAKALAUSKIENE et al., 2014). Essas alterações reduzem a habilidade mastigatória e em casos mais graves, perdas dentais (SOUZA et al., 2013).

Uma vez que esses biomarcadores estão presentes e ativados na periodontite, eles podem contribuir de forma expressiva para uma resposta inflamatória sistêmica (LEISHMAN; SEYMOUR; FORD, 2013). Essa resposta se deve a disseminação sistêmica de bactérias e de mediadores inflamatórios pelo sistema vascular (DARVEAU; TANNER; PAGE, 1997). Além da bacteremia (BALEJO; PORTO; CORTELLI, 2014), o processo inflamatório local e sistêmico conectam a periodontite ou infecções orais com efeitos sistêmicos (KAHN et al., 2008).

Há evidências que suportam a associação entre a periodontite e o desenvolvimento de certos processos inflamatórios e sistêmicos, como doença cardiovascular, diabetes mellitus, obesidade e alterações durante a gravidez (SILVESTRE et al., 2016). A artrite reumatóide (AR) também foi incluída entre essas desordens associadas (ROSENSNTEIN et al., 2004; BARTOLD; MARSHALL; HAYNES, 2005).

A AR é caracterizada por ser uma doença autoimune com inflamação sinovial crônica (CATRINA et al., 2017; STRAUB et al., 2013). Constitui-se de uma poliartrite simétrica e compromete articulações periféricas diartrodiais e estruturas periarticulares (MACEDO; KAKEHASI; DE ANDRADE, 2016).

Além de ser uma poliartrite crônica, bilateral e simétrica, as inflamações articulares e dores podem acarretar em deformidades, instabilidades e destruição progressiva das articulações sinoviais (ABRÃO et al., 2016). Com isso, os efeitos deletérios sobre a mobilidade física e sobre a capacidade funcional comprometem a expectativa de vida desses pacientes (GOELDNER et al., 2011). A sinovite acomete a membrana sinovial, a qual é sítio de inflamação primária, e com isso a hiperplasia celular e processo inflamatório estão presentes (MACEDO; KAKEHASI; DE ANDRADE, 2016).

A AR afeta cerca de 1% da população (MARIANO, 2011). Sua etiologia exata ainda é desconhecida, sabe-se que é um resultado secundário entre fatores genéticos e ambientais (FUGGLE et al., 2016). A interação entre os fatores imunológicos, genéticos, hormonais e infecciosos promovem uma desregulação do sistema imune e quebra da tolerância imunológica. Nessa quebra, no estágio inicial pré-clínico, anticorpos como fator reumatóide e anti-proteínas citrulinadas na corrente sanguínea são encontrados (FAUCI et al., 2013). A fisiopatologia da AR é regulada pela superprodução de citocinas pró-inflamatórias e desregulação de citocinas antiinflamatórias, sendo que as principais citocinas presentes nesse meio inflamatório são TNF- α e a IL-6 (ZOU, 2017).

Vários estudos têm sugerido uma relação entre a AR e a periodontite, mostrando que pacientes com AR têm uma maior probabilidade em desenvolver periodontite quando comparado a pessoas saudáveis (DETERT et al., 2010; HAN & REYNOLDS, 2012; MONSARRAT et al., 2013). Essa relação parece ser bidirecional (CHOI et al., 2016; KOBAYASHI & YOSHIE, 2015). E, devido a essa relação, mudanças nos marcadores bioquímicos foram observadas após o tratamento periodontal não cirúrgico, propiciando uma redução da inflamação produzida em nível periodontal e então, repercutindo em modulação de forma positiva no processo inflamatório na artrite (SILVESTRE et al., 2016). Além disso, a presença da periodontite foi associada a um aumento do dano articular (MIKULS et al., 2014).

Para justificar tal associação, fatores de risco genéticos e ambientais (KOZIEL; MYDEL; POTEPA, 2014; MONSARRAT et al., 2013), respostas imunes humorais e celulares análogas e perfil imunogenético são citados (HAN & REYNOLDS, 2012). Uma das explicações sobre essa relação seria a de que as bactérias orais podem induzir a citrulinização de peptídeos que desempenham um papel importante no mecanismo de auto-imunidade (ROUTSIAS et al., 2011) que levam a um aumento de anticorpos contra proteínas citrulinadas. Essa produção de anticorpos anti-peptídeos citrulinados é específica da AR, precedendo suas manifestações clínicas (DETERT et al., 2010; OGRENDIK et al., 2005).

Isto posto, acredita-se que a periodontite, por meio dos efeitos inflamatórios sistêmicos, potencializa os efeitos deletérios da AR em ratos *Wistar* machos em modelo experimental, tornando-se necessário a realização de estudos que investiguem tais efeitos na associação das patologias.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar se a periodontite induzida experimentalmente potencializa os efeitos deletérios da artrite reumatóide em ratos *Wistar*.

2.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar os parâmetros da funcionalidade periférica dos animais em relação a incapacidade motora, nocicepção, edema articular e força muscular.
2. Avaliar a migração leucocitária no líquido sinovial dos joelhos em modelo experimental de periodontite e artrite reumatóide.
3. Descrever as alterações morfológicas na membrana sinovial dos joelhos de ratos *Wistar*.
4. Avaliar por meio de radiografia e morfometria as repercussões da periodontite em relação à perda óssea alveolar.
5. Investigar os efeitos da injeção intradérmica, bem como da injeção intra-articular nos animais com periodontite.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Periodontite

As condições de vida e seus impactos sobre a situação de saúde populacional são campos alvos e crescentes na saúde coletiva, vistos pelo aprimoramento teórico e metodológico que sustentam estudos de desigualdades no processo saúde-doença. Essas desigualdades geram uma deficiência na saúde do indivíduo, incluindo a saúde bucal. Desigualdades socioeconômicas vigentes e o acesso dificultoso na assistência odontológica refletem diretamente em um comprometimento da mesma (PASSOS et al., 2011), contribuindo assim para o surgimento da periodontite.

A classificação aceita internacionalmente (ARMITAGE, 1999) subdividia a periodontite em periodontite crônica, periodontite agressiva, doenças periodontais necrotizantes, periodontite como manifestação de doença sistêmica e abscessos periodontais. Embora essa classificação fornecesse uma estrutura viável que vinha sendo amplamente utilizada na prática clínica e investigação científica em periodontologia nos últimos anos, havia deficiências importantes, incluindo uma sobreposição substancial e falta de uma patobiologia clara entre as categorias estipuladas, dificuldades na implementação e imprecisão diagnóstica (PAPAPANOU et al., 2018).

Considerando que a saúde periodontal clínica envolve um controle imune e fisiológico, envolvendo níveis de marcadores biológicos e inflamatórios compatíveis com a homeostase (CHAPPLE et al., 2018), um novo esquema de classificação para doenças e condições periodontais e peri-implantares foi necessário para os clínicos diagnosticarem e tratarem adequadamente os pacientes, bem como para os cientistas, investigar a etiologia, patogênese, história natural e tratamento das doenças e condições (CATON et al., 2018). Participantes da Academia Americana de Periodontia (AAP) e Federação Européia de Periodontia (EFP) se encarregaram, portanto, de atualizar a classificação de 1999, conforme o Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação para doenças e condições periodontais e peri-implantares.

<p>1. Saúde Periodontal, Condições e Doenças Gengivais, subdividido em:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1.1 – Saúde Periodontal e Saúde Gengival 1.2 – Gengivite Induzida pelo Biofilme 1.3 – Doenças Gengivais Não Induzidas pelo Biofilme
<p>2. Periodontite, subdividido em:</p> <ul style="list-style-type: none"> 2.1 – Doenças Periodontais Necrosantes 2.2 – Periodontite 2.3 – Periodontite como Manifestação de Doenças Sistêmicas
<p>3. Outras Condições que afetam o Periodonto, subdividido em:</p> <ul style="list-style-type: none"> 3.1 – Manifestações Periodontais de Doenças ou Condições Sistêmicas (Doenças ou Condições Sistêmicas que afetam os Tecidos Periodontais de Suporte) 3.2 – Abscessos Periodontais e Lesões Endoperiodontais 3.3 – Condições e Deformidades Mucogengivais 3.4 – Forças Oclusais Traumáticas 3.5 – Fatores Relacionados ao Dente e às Próteses
<p>Para as condições peri-implantares, estas foram divididas em:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1. Saúde Peri-Implantar 2. Mucosite Peri-Implantar 3. Peri-Implantite 4. Deficiências nos Tecidos Peri-Implantares Moles e Duros

Fonte: Adaptado de STEFFENS, J.P., MARCANTONIO, R.A.C. (2018).

O periodonto é uma estrutura complexa e dinâmica composta por tecidos moles e duros abrangendo o cimento e tecidos de auto-renovação, incluindo a mucosa gengival (epitélio e conjuntivo), ligamento periodontal e osso alveolar que, juntos, oferecem proteção e suporte para ligação dos dentes na mandíbula e maxila (GARLET et al., 2012) (Figura 1).

O periodonto pode ser dividido em periodonto de proteção e de sustentação. O periodonto de proteção é constituído pela gengiva marginal livre

e inserida, papila interdentária e pela união da mucosa alveolar e mucogengival. Esse periodonto promove a homeostasia, fazendo uma vedação do meio interno, contribuindo para a saúde periodontal do hospedeiro frente às agressões bacterianas. Já o periodonto de suporte é constituído pelo ligamento periodontal, osso alveolar e cemento radicular. Sua função, é de sustentação dos dentes, assim como função sensorial, nutricional, de inervação e formativa (CARRANZA, 1983; LINDHE; LANG; KARRING, 2010).

No tecido conjuntivo, a matriz extracelular (MEC) e o colágeno tipo I auxiliam na estabilização dos tecidos periodontais e as fibronectinas atuam na morfologia, diferenciação e migração celular (DARVEAU, 2010). As metaloproteinases da matriz (MMPs) estão associadas à remodelação tecidual da MEC, logo, elas são responsáveis pela remodelação nos processos fisiológicos assim como nos patológicos (GARLET, 2010).

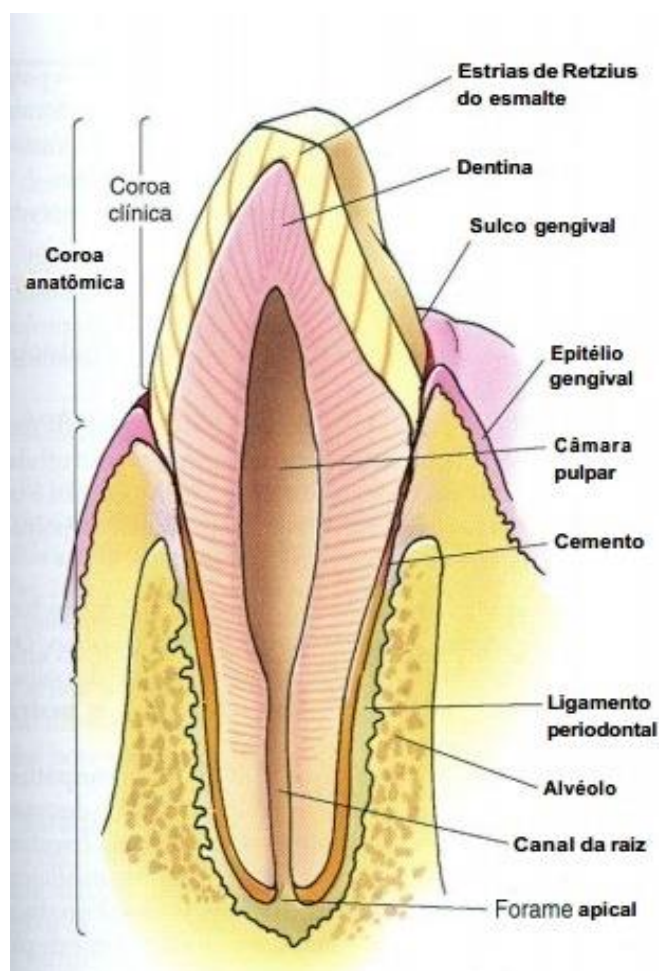


Figura 1- Esquema do dente e as suas estruturas de suporte e proteção, periodonto.
Fonte: GARTNER e HIATT, 2007.

Durante o desenvolvimento fetal, o osso alveolar é formado por ossificação intramembranosa, se constitui de matriz orgânica e contém células osteoprogenitoras, osteócitos, osteoblastos, osteoclastos e colágeno. Já o fosfato, a água, bicarbonatos, fluoretos e citratos constituem a matriz inorgânica (CARRANZA, 1983).

Em adição aos elementos do tecido conjuntivo, a perda óssea alveolar é uma estrutura chave dos ambientes periodontais e periapicais. A homeostase do osso depende de um equilíbrio entre reabsorção óssea pelos osteoclastos e formação óssea pelos osteoblastos. O receptor ativador do fator nuclear kapa B (RANK), seu ligante RANKL e sua contraparte solúvel a osteoprotegerina (OPG), impulsionam a regulação da remodelação óssea (DARVEAU, 2010; GARLET, 2010).

O RANK está presente na superfície dos pré-osteoclastos, o RANKL que é uma proteína ligada a membrana, é responsável pela diferenciação dos pré-osteoclastos em osteoclastos maduros, o que permite a reabsorção óssea. A OPG atua como um inibidor da ligação RANK-RANKL, evitando a osteoclastogênese. Estímulos sistêmicos e locais, como mediadores inflamatórios, hormônios e produtos bacterianos controlam a produção de RANKL e OPG (BELIBASAKIS & BOSTANCI, 2012). O equilíbrio entre expressão de RANKL e OPG é fundamental para a remodelação óssea (GARLET et al., 2012).

Em condições saudáveis, elementos do tecido conjuntivo estão sujeitos a um ciclo controlado de síntese e degradação. O desafio de um equilíbrio dinâmico e balanceado entre bactérias e hospedeiro, resulta em uma resistência à colonização de patógenos no periodonto. Se esse equilíbrio de renovação no tecido conjuntivo pelo acúmulo de bactérias na superfície dos dentes se excede com o objetivo de erradicar esses patógenos, pode haver o desencadeamento de uma resposta inflamatória. Essa resposta perturba a homeostase no periodonto, podendo contribuir para o surgimento da gengivite e periodontite (GARLET et al., 2012).

Logo, a colonização do biofilme que leva ao acúmulo de placa bacteriana ao longo da margem gengival é feita por microrganismos patogênicos Gram-negativos, que desencadeiam a reação inflamatória (KOZIEL; MYDEL; POTEMPA, 2014). Essa placa bacteriana pode se acumular sub ou supra

gingivalmente e também dependendo da profundidade em que ocorre, há diferenças na microbiota e o biofilme que se forma fornece nutrientes para as bactérias. A gengivite pode ser reversível fazendo a sua remoção, assim os sinais inflamatórios tendem a desaparecer e impedir a progressão para periodontite (LINDHE; KARRING; LANG, 2005).

Se a resposta imunológica do hospedeiro for insuficiente para controlar essa inflamação (DETERT et al., 2010) e também com a execução inadequada da higiene oral, a progressão da patologia ocorre e a periodontite se desenvolve (LINDHE & LANG, 2015).

Para impedir que agentes patogênicos se disseminem, processos inflamatórios e também imunológicos ocorrem, com isso, há um reconhecimento dos componentes microbianos pelas células hospedeiras da gengiva como resposta inicial e então posteriormente produção de mediadores inflamatórios e recrutamento de células como neutrófilos, monócitos e macrófagos (CRAIG et al., 2013).

Dentre os mediadores inflamatórios produzidos, encontram-se as espécies reativas de oxigênio (CHAPPLE, 1997), MMPs (GARLET et al., 2006), quimiocinas (SILVA et al., 2007) e citocinas (GARLET, 2010). Além do TNF- α , alguns outros principais mediadores pró-inflamatórios estão presentes, como as IL-6, IL-1 β e IL-8 (GARLET et al., 2012; BASTOS et al., 2005; OFFENBACHER et al., 2007). As citocinas produzidas localmente são importantes para estabelecer a imunidade funcional contra agentes patogênicos invasores (KHALAF; LONN; BENGTSSON, 2014). No entanto, elas interagem entre si, modulam os receptores da superfície celular, amplificam a sinalização e realizam interações sinérgicas ou antagônicas na função celular (HASTURK; KANTARCI; VAN DYKE, 2012).

O TNF- α se destaca entre as citocinas produzidas na periodontite (GARLET et al., 2012; LEISHMAN; SEYMOUR; FORD, 2013). É uma citocina que possui várias funções, desde a migração celular até a destruição tecidual, regula a produção de outras citocinas como IL-6 e IL-1 β , está correlacionado com a degradação da MEC e reabsorção óssea através da correlação com as MMPs e RANKL (HASTURK; KANTARCI; VAN DYKE, 2012).

As citocinas e quimiocinas levam à migração de leucócitos para os tecidos periodontais onde essas células exercem um papel importante na destruição de

patógenos ao liberarem mediadores em uma resposta inflamatória local. Portanto, estes e outros mediadores têm sido detectados em níveis elevados no fluido crevicular gengival, saliva e sangue, sendo considerados, assim, biomarcadores aceitáveis para alguns aspectos da periodontite (da COSTA et al., 2015).

Citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1 β e TNF- α têm sido associados com a progressão da periodontite e declínio após o tratamento periodontal. Estas citocinas são liberadas por macrófagos após infecção bacteriana ou lesão tecidual e, em altas concentrações, estimulam a liberação e a produção de outros mediadores inflamatórios. Similarmente, a IL-17 é uma citocina pró-inflamatória produzida por células T helper (Th17) ativadas que induzem um perfil distinto de mediadores, que podem exacerbar a inflamação e a destruição dos tecidos. De fato, células Th17 foram encontradas em pacientes com periodontite bem como a expressão de IL-17 no osso alveolar destes indivíduos, sugerindo uma relação causal entre inflamação e destruição óssea (da COSTA et al., 2015).

As células Th17 têm sido implicadas na patogênese da periodontite, principalmente devido ao seu envolvimento como linfócitos especializados que podem ativar a reabsorção óssea. Em um modelo de periodontite em primatas, Ebersole et al., (2014) mostraram uma super expressão de Th17 / citocinas T reguladoras (IL-1 β , IL-6, TGF- β e IL-21) na iniciação da doença, seguida por uma persistência da resposta Th17 na progressão da periodontite.

A periodontite pode provocar uma resposta inflamatória sistêmica por ativação da resposta de fase aguda, a qual modifica a taxa de síntese hepática das proteínas plasmáticas, denominadas de proteínas de fase aguda como as citocinas e, pode representar uma fonte distante de inflamação sistêmica de baixo grau. Por esta razão, está significativamente associada a várias condições sistêmicas, incluindo infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, diabetes, prematuros de baixo peso ao nascer (BRITO et al., 2013) e doença inflamatória intestinal (DII) (LIRA-JUNIOR & FIGUEREDO, 2016).

Além disso, todos esses mecanismos que resultam na liberação de mediadores da inflamação podem causar a destruição das articulações, levando ao aparecimento da AR. Essa hipótese revela que a infecção bacteriana oral pode desempenhar um papel na citrulinação peptídica, que pode estar envolvida na perda de autotolerância e no desenvolvimento de autoimunidade na AR

(KAUR; MOHINDRA; SINGLA, 2016). A citrulina é um aminoácido alterado da arginina e esta reação é catalisada pela enzima PAD (GABARRINE et al., 2015). Tal modificação leva a mudanças conformacionais e funcionais da proteína. Essas proteínas citrulinadas são autoantígenos na AR (WEGNER et al., 2010) e em pacientes susceptíveis pode haver o desencadeamento de uma cascata de eventos que podem levar ao desenvolvimento da AR (KOZIEL; MYDEL; POTEMPA, 2014).

3.2 Periodontite induzida por Ligadura

Em humanos, o estudo da periodontite tem suas limitações visto que, pode ocorrer uma grande variação de um indivíduo para o outro ou até mesmo no próprio indivíduo, pois a gravidade da lesão pode variar de dente para dente e de uma superfície para outra (LINDHE; LANG; KARRING, 2010). Assim, para avaliar a patogênese e modalidades terapêuticas da periodontite, estudos em animais têm sido utilizados (LISTGARTEN, 1975).

A semelhança anatômica de ratos na região molar com a do homem faz com que o estudo experimental se torne uma ferramenta válida (CHANG et al., 2002). Além disso, a histopatologia das lesões, imunologia básica, composição e desenvolvimento do biofilme bacteriano são semelhantes (SWERTS, 2014). Assim, os resultados do estudo são mais previsíveis, pois a patologia é reproduzida em um alto grau de confiabilidade (FRENKEL, 1969). Além disso, a utilização de ratos tem como vantagens, o custo reduzido e fácil manuseio (KLAUSEN, 1991).

A periodontite pode ser induzida por meio de manipulação dietética (SALLAY et al., 1984; KLAUSEN, 1991), inoculação experimental de microrganismos periodontopatogênicos ou seus produtos (FIEHN; KLAUSEN; EVANS, 1992) ou por meio da ligadura ao redor da região cervical do molar, geralmente o primeiro molar superior ou inferior, com fio de algodão ou nylon (KIM et al., 2012). O método de ligadura tem baixo custo, facilidade de colocação e pouca injúria dos tecidos (FOUREAUX et al., 2014).

Em um estudo onde foi avaliado o efeito de um inibidor seletivo da ciclooxigenase-2 (COX-2) (meloxicam) na progressão da perda óssea alveolar de ratos no desenvolvimento da periodontite induzida experimentalmente, os

animais foram divididos em 8 grupos sendo eles, controle, meloxicam, ligadura, ligadura e meloxicam. Desses, 4 foram tratados por 5 dias e o restante, por 15 dias. Nas radiografias das mandíbulas dos grupos eutanasiados no 5º dia, houve maior perda óssea alveolar no grupo ligadura do que nos outros grupos e em relação ao 15º dia, não houve diferença estatística entre os grupos ligadura e ligadura e meloxicam, entretanto, a perda óssea alveolar foi maior comparada aos grupos controle e meloxicam (NASSAR et al., 2005).

Em uma outra pesquisa foi avaliado o efeito da sinvastatina sobre a perda óssea alveolar em ratos com periodontite experimental onde os animais foram divididos em 12 grupos constituídos por 3 grupos controle, 3 grupos sinvastatina, 3 grupos ligadura e 3 grupos ligadura e sinvastatina. A eutanásia destes animais foi realizada nos dias 5, 10 e 15 dias de experimento e, em todos os períodos a perda óssea alveolar foi maior no grupo com ligadura do que no grupo controle, sinvastatina, ligadura e sinvastatina, comprovando o efeito da ligadura na indução da periodontite experimental (NASSAR et al., 2014)

Holzhausen et al. (2002) avaliaram o efeito do celecoxib sobre o desenvolvimento da periodontite induzida por ligadura em ratos e o estudo foi composto por: grupo controle, grupo Ce1 (10mg de celecoxib) e grupo Ce2 (20mg de celecoxib) e após 3, 5, 10, 18 e 30 dias após o início do tratamento, os 12 animais de cada grupo foram eutanasiados. Foi observado que após a colocação da ligadura, as características macroscópicas da gengiva se modificaram e favoreceu o acúmulo de restos alimentares e formação de biofilme bacteriano em todos os períodos. O aumento do volume da gengiva da face vestibular dos primeiros molares inferiores e aumento do volume que recobriu parte do fio de algodão da ligadura foram as alterações macroscópicas mais evidentes e facilmente observáveis a partir do 5º dia de experimento.

Ainda neste estudo, em relação a perda óssea que foi avaliada por meio de radiografia, com exceção do período de 3 dias, observou-se a influência da colocação da ligadura na reabsorção óssea alveolar a partir do 5º dia em todos os grupos com ligadura durante todos os outros períodos de avaliação. Em relação as alterações microscópicas, no grupo com ligadura aos 5 dias observou-se desorganização do epitélio da gengiva e inflamação, contendo leucócitos polimorfonucleares, fibroblastos e vasos dilatados e no tecido ósseo havia extensas áreas de reabsorção.

Schmidt (2005) realizou uma avaliação radiográfica da reabsorção óssea periodontal por meio de valor de pixel e sua comparação com a análise histopatológica em 30 ratos *Wistar* submetidos à indução da periodontite, por meio de ligadura com fio de seda ao redor do primeiro molar inferior direito. Os animais foram eutanasiados após 7, 14 e 28 dias e para cada período do experimento, 10 animais eram eutanasiados. Foi observado redução do infiltrado inflamatório e aumento da severidade da perda óssea, com a cronificação da resposta inflamatória no grupo de 28 dias.

3.3 Artrite Reumatóide

As doenças reumáticas fazem parte da história da medicina desde os tempos de Hipócrates. Ele as descreveu parcialmente no quarto século a.C e então o termo "*rheuma*" surgiu após esse período, para designar um tipo de quadro doloroso que afetava as articulações do corpo (KULKAMP et al., 2009).

A primeira descrição da AR reconhecida pela medicina moderna foi encontrada na dissertação de Augustin Jacob Landré-Beauvais no ano de 1800 e ele a descreveu inicialmente como Gota Astênica. Alfred Garrod distinguiu a gota de outras doenças artríticas, diferenciando a artrite da gota e classificando a AR como um condição distinta (ENTEZAMI et al., 2011). Posteriormente, seu filho Sir Archibald Garrod atribuiu o termo AR em 1907 (KULKAMP et al., 2009).

Atualmente ela é considerada como uma doença de origem auto-imune, com inflamação sistêmica crônica, que acomete as articulações e que causa dano progressivo no sistema musculoesquelético (KULKAMP et al., 2009; MIOTO, 2018).

Cerca de 1% da população mundial é afetada pela patologia, sendo que dor e incapacidades a acompanham (MIOTO, 2018). Ela pode se desenvolver em qualquer idade, porém a idade típica de início é aproximadamente 55 anos, e sua prevalência pode aumentar com a idade (CROWSON et al., 2011).

Um estudo realizado por Senna et al. em 2004 no Brasil, mostrou que entre as doenças reumatóides, houve uma prevalência de 0,46% para AR, representando quase um milhão de pessoas com a doença, ocorrendo predominantemente em mulheres entre a quarta e sexta décadas de vida. Estima-se que em 2030 a prevalência aumente (ABELL et al., 2005),

provavelmente decorrente do envelhecimento da população e isso conseqüentemente aumentará os gastos do sistema de saúde pública (KULKAMP et al., 2009).

A sua etiologia é multifatorial e não está muito bem esclarecida (MACEDO, 2013), acredita-se em uma associação entre aspectos genéticos e ambientais (FUGGLE et al., 2016). Alguns fatores podem contribuir para o desenvolvimento da AR como hereditariedade, nutrição inadequada, ferimentos, gravidez frequente, menopausa, hábitos de higiene incorretos, lactação prolongada, ansiedade, tuberculose e ataques de reumatismo agudo (TUFTS, 2012), além de uma combinação de genes e infecção ambiental por vírus e bactérias (KAPALE; VARDHARAJULU; WARUDE, 2017).

Suas manifestações clínicas incluem poliartrite simétrica, dor, edema, vermelhidão, nódulos reumatóides, limitação de amplitude de movimento, deformidades, erosão, rigidez devido a hiperplasia sinovial, destruição de componentes articulares, contribuindo para a redução funcional e aumento de comorbidades (GUO et al., 2018; SHRIVASTAVA & PANDEY, 2013; KITAS & GABRIEL, 2011).

Na AR, sintomas como fraqueza, febre, mialgia, fadiga, e limitação dos movimentos das articulações acometidas podem estar presentes (MOTA et al., 2011), assim como a dor, que é um dos sintomas mais limitantes e que piora com o decorrer da doença, levam a uma redução na qualidade de vida e também a um aumento na taxa de hospitalização (PINHEIRO et al., 2013). Com isso há um impacto, que não acomete somente áreas da saúde, mas também compromete fatores sociais e econômicos, pois afastamentos do trabalho e os gastos dos setores públicos e privados se sucedem (BRESSAN, 2005).

Outros sintomas encontrados são rigidez matinal, perda de peso, com curso clínico flutuante entre períodos de melhora e exacerbação dos sintomas articulares (GOMES, 2008). Os tecidos que revestem as articulações sofrem inflamação, a qual leva ao desenvolvimento de dor, rigidez e inchaço, além de danificar o tecido ósseo e cartilágneo, alterando o formato das articulações e comprometendo a biomecânica articular (TORPY; PERAZZA; GOLUB, 2011; TUFTS, 2012).

Para permitir sua classificação, critérios foram estabelecidos pelo American College of Rheumatology – ACR em 1987 e recentemente pelo

American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism – ACR/EULAR em 2010 (ALETAHA et al., 2010; ARNETT et al., 1988).

Os critérios são rigidez matinal articular por pelo menos uma hora, artrite de três ou mais áreas com edema ou derrame articular, artrite nas articulações das mãos, artrite simétrica, nódulo reumatóide, fator reumatóide sérico e alterações radiográficas como erosões ou descalcificação. Sendo que os quatro primeiros citados devem estar presentes por pelo menos seis semanas, e quatro são necessários para considerar AR (BERTOLO et al., 2009). O diagnóstico precoce e início de tratamento imediato são fundamentais para prevenção de incapacidades funcionais e morbidades (DAVIS & MATTESON, 2012).

Confirmando a gravidade da doença, além de deformidades irreversíveis e limitação funcional devido aos sintomas, a redução de sobrevida, em casos mais avançados, pode ocorrer, pois problemas como tumores, infecções, toxicidade gastrointestinal podem surgir (ABELL et al., 2005; CHEHATA et al., 2001; MOTA et al., 2011; DAVIS & MATTESON, 2012).

Os custos relacionados à artrite também são elevados, pois os fatores diretos (como gastos com medicamentos, despesas médicas e hospitalares) e fatores indiretos (tais como absenteísmo, perda ou redução da produtividade pessoal e pagamentos de aposentadoria por invalidez) podem ocorrer (de AZEVEDO; FERRAZ; CICONELLI, 2008).

Nos últimos anos, houve grandes avanços em relação ao conhecimento da fisiopatologia da AR e com isso o desenvolvimento de novas classes terapêuticas e estratégias para o tratamento dos pacientes (MCINNES & O'DELL, 2010).

Não há um consenso para a definição de AR inicial. A duração dos sintomas é mais valorizada, sendo que esses ocorrem em um período de menos de três meses a um ano (BERTOLO et al., 2009) e nessa fase inicial da doença, o tratamento farmacológico eficaz pode mudar o curso da doença por ser um período de janela de oportunidade terapêutica, contribuindo para um controle otimizado da doença (MCINNES & O'DELL, 2010; KLARENBECK et al., 2010).

O tratamento da AR compõe-se da educação do paciente e da família em relação aos riscos e benefícios do tratamento, fisioterapia, terapia ocupacional, apoio psicossocial, abordagens cirúrgicas e terapia farmacológica. Na prática clínica, o tratamento farmacológico compõe-se de anti-inflamatórios não-

esteroidais (AINEs), corticosteroides, antirreumáticos de ação lenta e fármacos modificadores do curso da doença (DMARD) (RENDAS-BAUM et al., 2011; SIGN, 2000). Contudo, o uso dos AINES, que são amplamente utilizados na AR, deve ser controlado pois algumas condições clínicas podem se agravar, como hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca, arterial e renal, hepatopatia, distúrbios de coagulação e doenças gastrointestinais (MOTA et al., 2012).

Segundo o American College of Rheumatology (ACR) (2002), os objetivos do tratamento englobam a prevenção ou controle da lesão articular, prevenção de perda de função e redução da dor e com isso melhorar a qualidade de vida. Ainda segundo o ACR, o acompanhamento multidisciplinar é imprescindível e o tratamento deve ser um processo dinâmico, com reavaliações constantes e partilha das decisões da terapia com o paciente.

O fator reumatóide (FR) é um marcador sorológico mais utilizado para diagnóstico da AR inicial, ele pode ser detectável em cerca de 70% dos pacientes com AR estabelecida e a presença dele é um dos sete critérios classificatórios do ACR (MOTA et al., 2009).

Os autoanticorpos antipeptídeo citrulinados cíclico (ACPA) também foram estudados e, além de serem detectados em torno de 70% nos pacientes, eles são altamente específicos para AR. Tanto o FR quanto os ACPA, ativam macrófagos, induzindo a ativação de citocinas na AR (SOKOLOVE et al., 2014).

Por isso, vários estudos observaram que concentrações mais altas desses autoanticorpos, se associam com um agravamento do curso da doença, demonstrando que eles prenunciam informações prognósticas altamente relevantes (MIRIOVSKY et al., 2010; HUEBER; UTZ; ROBINSON, 2003).

Na sua fisiopatogênese, a AR é uma doença autoimune, ou seja, células imunológicas atacam o próprio tecido saudável, sendo a articulação a mais afetada, fazendo com que ocorra o desenvolvimento de uma inflamação e danos teciduais (PASSOS, 2016; KAPALE; VARDHARAJULU; WARUDE, 2017).

O evento inicial então é o processo inflamatório na membrana sinovial e a hiperplasia celular, configurando assim a sinovite. Caso não haja tratamento, ocorre a destruição articular progressiva, perda cartilaginosa e óssea (FIRESTEIN, 2003). Nesse processo inflamatório células do sistema imune

invadem o tecido, levando a proliferação celular, formação de folículos linfoides germinativos e neovascularização (BARTOK & FIRESTEIN, 2010).

Essa inflamação faz com que células T e B, células dendríticas, monócitos, mastócitos, células linfóides, macrófagos, leucócitos e plasmócitos sejam recrutados (WATTS et al., 2013; RAZA et al., 2012; McINNIS & SCHETT, 2011). As células do tecido hospedeiro também respondem de forma acentuada, os fibroblastos, condrócitos e osteoclastos estão envolvidos na destruição do tecido articular e ósseo (BRENNAN & McINNIS, 2008).

Todo esse processo leva a formação do *pannus* (tecido sinovial proliferado) atinge e degrada a cartilagem e o osso (Figura 2) resultando em uma destruição articular progressiva e erosões (ANDREOLI et al., 1998; MIOSSEC, 2004). A ativação das células T gera a produção de interferon-gama (IFN- γ) que estimula a liberação de TNF- α , IL-1 β e os macrófagos e fibroblastos sinoviais estimulam a produção de metaloproteinases (BRENOL et al., 2007).

Os linfócitos T auxiliar tipo 17 (Th17) produtores de IL-17, tem função importante na resposta inflamatória induzindo a produção de IL-6 e IL-23 que faz com que aumente a reabsorção óssea e ativação de osteoclastos (VIACAVA et al., 2014). As principais citocinas são o TNF- α e a IL-6, pois elas agravam a resposta inflamatória, ativando as células endoteliais e recrutando células imunológicas no complexo articular (ZOU, 2017).

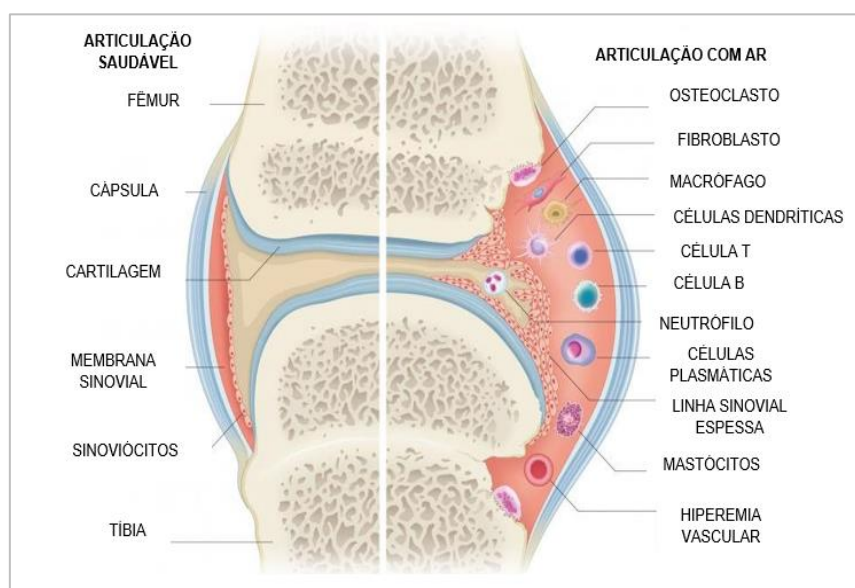


Figura 2 - Figura ilustrativa da anatomia da articulação. A esquerda, articulação saudável. A direita, articulação com comprometimento pela AR.

Fonte: Adaptado de SMOLEN et al. 2016.

Além da articulação, órgãos como o coração, pele, pulmões e pleura também podem ser afetados por conta da sua característica autoimune e sistêmica (TORPY; PERAZZA; GOLUB, 2011). Manifestações como ceratite, granulomas pulmonares, pleurite, pericardite, vasculite de pequenos vasos podem surgir (GUO et al., 2018). Quando há o envolvimento de outros órgãos, a gravidade e morbidade são maiores ainda, e redução de expectativa de vida pode ocorrer em cinco a dez anos (BERTOLO et al., 2007).

3.4 Artrite reumatóide induzida por Adjuvante Completo de Freund

Modelos animais de artrite têm sido úteis para teorias desafiadoras da patogênese da doença *in vivo*, identificando alvos para tratamento e fornecendo uma plataforma para validação terapêutica (VINCENT et al., 2012). A ingestão de medicamentos ou hábitos podem interferir no processo inflamatório, por isso, pesquisas em humanos relacionadas a AR são difíceis de serem controladas. Assim, modelos experimentais de indução de artrite em animais proporcionam maiores informações sobre o tema (GOMES et al., 2014).

Dentre os modelos experimentais de artrite que foram desenvolvidos (CAI et al., 2006; COOK & MOORE, 2006; NAGAKURA et al., 2003; NAEINI et al., 2005; YU et al., 2002), destaca-se a AR por adjuvante completo de Freund (CFA) (CAI et al., 2006; COOK & MOORE, 2006; NAGAKURA et al., 2003). A primeira descrição do CFA foi realizada por Pearson em 1956, definida como uma patologia induzida em ratos pela inoculação de uma micobactéria (FARIA et al., 2009).

O CFA é composto por óleo de parafina contendo mono-oleato de manitol como surfactante e uma micobactéria morta, sendo que as usualmente utilizadas são o *Mycobacterium tuberculosis* ou *butyricum* (BILLIAU & MATTHYS, 2001). A injeção de CFA na cauda (intradérmica) foi baseada nos achados de Wauben, Wagenaar-Hilers e Wan Eben (1994) como via preferencial de imunização.

No estudo de Gomes et al. (2013) no qual foi realizado uma padronização de modelo experimental adequado a estudos do efeito do exercício na artrite, observou-se que a imunização intradérmica não promove sinais significativos de dor e edema, somente na segunda injeção intra-articular após 7 dias, sendo esta a mais adequada na articulação tíbiofemural, pois na tíbiotársica houve a

presença de edema com aspecto necrótico na pata. Na presente pesquisa, investiga-se os efeitos das injeções de forma isolada, mas na associação da periodontite.

Em relação a dose, Wauben, Wagenaar-Hilers e Wan Eben (1994) descrevem que 0,1 a 10mg/ml de micobactéria em casos mais graves e 1,0 a 5,0mg/ml em casos brandos são utilizados. A dose dos reagentes também deve ser correta, pois assim, as avaliações funcionais não são prejudicadas. Visto que a administração de 100 e 150 µl de CFA de *mycobacterium tuberculosis* no joelho causa hiperalgesia e edema por 14 e 90 dias respectivamente (WILSON et al., 2006), e a administração com *butyricum*, de 125 µl, ocorre hiperalgesia e edema por 20 a 30 dias (YU et al., 2002).

O CFA mimetiza sinais e sintomas da AR humana, incluindo alterações histopatológicas, hipersensibilidade, edema e infiltrado celular (BARTON et al., 2007). A manifestação e severidade dos sintomas podem variar em função do gênero do animal, espécie de micobactéria, número e intervalo de inoculações e via e local de administração (CAI et al., 2006; COOK & MOORE, 2006; NAGAKURA et al., 2003). O modelo de artrite induzida por adjuvante permite o estudo da etiopatogenia, prognóstico e tratamento da AR (FARIA et al., 2009).

3.5 Associação da periodontite e artrite reumatóide

Snyderman e McCarty (1982), comentaram pela primeira vez sobre os mecanismos inflamatórios comuns entre AR e periodontite, sendo caracterizadas por inflamação auto-sustentada em um local adjacente ao osso e sinais clínicos como dor, inchaço e sensibilidade podem aparecer devido ao processo inflamatório e erosão do osso adjacente.

A preocupação entre a periodontite e outras doenças sistêmicas ganharam relevância com dois trabalhos publicados em 1989, os quais identificaram a higiene oral precária como fator de risco para acidentes vasculares cerebrais e doença coronariana (MATTILA et al., 1989; SYRJÄNEN et al., 1989). Posterior a esses trabalhos, outros estudos foram elaborados em relação a periodontite e associação de outras doenças como diabetes mellitus, complicações obstétricas, problemas pulmonares, pré-eclâmpsia, insuficiência renal crônica, neoplasias e infertilidade (ALBUQUERQUE, 2014).

A associação entre a periodontite e doenças reumáticas autoimunes vem sendo estudada desde a década de 1960 (LIUBOMOROVA, 1964), porém uma atenção maior foi dada nos anos recentes (de PABLO et al., 2009; TROMBONE et al., 2010), sendo que a AR foi incluída entre essas desordens (ROSENSNTEIN et al., 2004; BARTOLD; MARSHALL; HAYNES, 2005).

A AR e a periodontite são duas doenças inflamatórias crônicas comuns que afetam pessoas em todo o mundo e quando há o desenvolvimento de ambas, consequências significativas tanto para a saúde pública quanto para o indivíduo podem ocorrer (KOZIEL; MYDEL; POTEMPA, 2014).

Vários estudos sugeriram a relação entre essas patologias, sendo que pacientes com artrite têm maior probabilidade de apresentar a periodontite comparado a pessoas saudáveis (PISCHON et al., 2009; de PABLO et al., 2009; TOLO & JORKJEND, 1990).

Uma possível relação bidirecional entre elas foi vista, pois mudanças nos marcadores bioquímicos após o tratamento periodontal não cirúrgico gerando uma redução da inflamação, exerceu uma influência benéfica na AR (SILVESTRE et al., 2016). Logo, sujeitos com periodontite possuem um risco mais elevado de desenvolver AR e vice-versa, sendo que a periodontite é pelo menos duas vezes mais prevalente em pacientes com AR. Além disso, o curso clínico da periodontite na AR é mais grave independentemente da idade, sexo, história de tabagismo ou etnia, comparado com pessoas saudáveis (LUNDBERG et al., 2010).

Essa associação também foi demonstrada por Ishi et al. (2008), na qual condições periodontais foram avaliadas em 39 pacientes com AR e então comparadas com 22 pacientes saudáveis. Pacientes com AR tinham mais placa bacteriana, menos dentes e mais sítios com perda de inserção em nível avançado (ISHI et al., 2008). Uma associação não causal entre as patologias pode acontecer devido a fatores genéticos e ambientais como a expressão do alelo HLA-DRB1 de classe II do MHC (complexo principal de histocompatibilidade) e tabagismo, respectivamente (FIRATLI et al., 1996; KATZ et al., 1987; MAROTTE et al., 2006; BONFIL et al., 1999; de PABLO; DIETRICH; McALINDON, 2008).

O componente genético pode ter um papel importante na interação entre essas doenças (TROMBONE et al., 2010). Há relatos de que mais do que 50%

das variações nas diversas características da periodontite podem ser explicadas por fatores genéticos como, por exemplo, o polimorfismo do grupo de genes da IL-1 β (HAVEMOSE-POULSEN et al., 2007).

Os genes HLA (*human leukocyte antigen*), que têm forte associação com a AR, também parecem influenciar sobre o desenvolvimento e/ou progressão da periodontite (TATAKIS & GUGLIELMONI, 2000). Em um estudo de Mikuls et al. (2014) sobre a periodontite e *P. gingivalis* em pacientes com AR, observou-se que na presença da periodontite houve um aumento do dano articular, refletindo em escores radiológicos mais elevados.

Apesar de haver diferenças no mecanismo etiológico, estudos sugerem a associação entre elas (BERTHELOT & Le GOFF, 2010; DEMMER et al., 2011; DETERT et al., 2010). Uma das principais diferenças entre as patologias, é que a AR é uma doença autoimune e a periodontite, infecciosa. Ambas possuem uma fase transitória, de gengivite para periodontite e de fase pré-articular para manifestações clínicas na AR, além das fases de exacerbação e remissão (KINANE et al., 2011).

As duas patologias apresentam mecanismos destrutivos semelhantes, pois as citocinas pró-inflamatórias e células inflamatórias impulsionam a destruição crônica da gengiva na periodontite e erosão óssea na AR. Achados recentes condizem com a ideia de que a periodontite pode ser um fator de início e manutenção das respostas inflamatórias autoimunes que acontecem na AR (LUNDBERG et al., 2010).

O perfil de citocinas é comum entre elas, as pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α se apresentam em níveis elevados e a IL-10, que suprime a resposta imuno-inflamatória, em níveis baixos. Essas citocinas e níveis baixos de inibidores de metaloproteinases e níveis elevados de metaloproteinases, se associam na periodontite ativa (BARTOLD; MARSHALL; HAYNES, 2005). Além disso, elas predispõem a reabsorção óssea osteoclástica pela produção de IL-1 e TNF- α (SRINIVASAN, 2013). Elas também partilham de mecanismos moleculares comuns, nos quais níveis baixos de OPG, faz com que ocorra uma redução na proteção vascular e níveis altos do ligante do receptor ativador do RANKL e ligante indutor de apoptose relacionado com o TNF (TRAIL). Com a associação do tecido inflamado, ocorre dano vascular e ativação de

osteoclastos, contribuindo para a reabsorção óssea (KAUR; WHITE; BARTOLD, 2013).

Um número de hipóteses tem tentado explicar a relação entre elas (SILVESTRE et al., 2016). Uma hipótese é a de que bactérias do periodonto podem estimular o desenvolvimento da AR e tem sido estudada por vários autores, *in vitro* (QUIRKE et al., 2014; WEGNER et al., 2010), em animais (BARTOLD et al., 2010; MARESZ et al., 2013; CHUKKAPALLI et al., 2016) e em humanos (ROSENSTEIN et al., 2004; HITCHON et al., 2010; ARVIKAR et al., 2013), uma vez que na AR há uma resposta auto-imune gerada por proteínas alteradas por enzimas de origem bacteriana, como os anticorpos anti-proteína citrulinadas (ACPA) (SAKKAS et al., 2014; KONIG et al., 2015; MIKULS et al., 2012).

As infecções orais desempenham papel na patogênese da AR e essa hipótese pode ser sustentada pela detecção de DNA de bactérias anaeróbias e anticorpos no fluido sinovial de pacientes com AR (DETERT et al., 2010). A *Porphyromonas gingivalis* é capaz de invadir os condrócitos nas articulações de joelho em humanos e, conseqüentemente há uma alteração no ciclo celular e aumento da apoptose celular (PISCHON et al., 2009). Além disso, a *Porphyromonas gingivalis* expressa o peptídeo arginina deiminase (PAD), convertendo a arginina em citrulina pela citrulinização. É o único microrganismo capaz de expressar a enzima PAD e esse processo por meio da citrulinização induz a alterações na função e estrutura de proteínas (MIKULS et al., 2012).

Em algumas proteínas esse processo é comum, porém, está associada a AR pelo fato de que a AR apresenta uma baixa imunotolerância às proteínas citrulinadas no líquido sinovial, fazendo com que ocorra uma alteração na resposta imune contra essas proteínas (DETERT et al., 2010), pois a enzima PAD leva a citrulinização de proteínas do hospedeiro e produção de auto-antígenos (anticorpos anti-CCP) (RODRIGUEZ et al., 2010), o que pode levar ao desenvolvimento da fase inicial da AR em pessoas que sejam susceptíveis geneticamente (PIZZO et al., 2010).

Além disso, a *P. gingivalis* expressa a *gingipains* que é uma protease extracelular, capaz de interromper a cascata de coagulação, destruir o colágeno e modificar e degradar imunoglobulinas e citoquinas (KHARLAMOVA et al., 2016).

Dentre outras hipóteses aceitas, está o “*double hit*”, sendo que o primeiro “*hit*” é a inflamação devido à periodontite seguido de um segundo “*hit*” à nível articular, com exacerbação da resposta inflamatória nos locais acometidos (SILVESTRE et al., 2016).

O primeiro “*hit*” envolve o biofilme periodontal o qual induz uma resposta inflamatória local, aumento de citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- α) e MMPs. O segundo “*hit*” é uma inflamação sistêmica induzida pela periodontite e as características são níveis elevados de PCR, IL-1 e IL-6, TNF- α e MMPs (PAYNE et al., 2015; BAUMAN, 2015).

Com o aumento da circulação desses mediadores inflamatórios, há um estímulo das células periodontais e sinoviais a mediar a destruição do tecido conjuntivo (KAUR; WHITE; BARTOLD, 2013). A produção de metaloproteinases pela membrana sinovial e periodonto, além de mediar a destruição do tecido conjuntivo, induzem a diferenciação e ativação de osteoclastos, favorecendo a reabsorção óssea (GOLUB; PAYNE; REINHARDT, 2006).

4. METODOLOGIA

Esta pesquisa classificou-se como descritiva, de caráter experimental, com análise de cunho quantitativo (GIL, 2007) e foi realizada no Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF) e no Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional (LABEF) vinculados à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) – Campus de Cascavel. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes éticas da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1983). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE (Protocolo nº. 19-19) (Anexo 1).

4.1 Caracterização da amostra

Os procedimentos experimentais foram realizados com 51 ratos machos da linhagem *Wistar*, com idade de três meses e peso aproximado de 319.55 ± 8.53 gramas, provindos do Biotério Central da UNIOESTE e mantidos, durante a experimentação, no biotério setorial do LELRF, sob condições controladas de

temperatura ($21 \pm 1^\circ \text{C}$) e luz (ciclo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro – 07:00 – 19:00 h), água e ração *ad libitum*. Após uma semana de adaptação, os animais foram randomizados aleatoriamente em seis grupos conforme mostra a Figura 3 (NASSAR et al., 2009), a diferença no número de animais se deve à perda amostral durante o experimento, onde dois animais do grupo GPID tiveram queda da ligadura.

- **Grupo controle (GC):** animais que não foram submetidos a indução das patologias ou exercício e receberam injeção intradérmica e intra-articular com solução salina para efeito placebo;

- **Grupo artrite reumatóide (GAR):** animais que foram submetidos a indução de AR (sensibilização + injeção intra-articular com CFA);

- **Grupo periodontite (GP):** animais que foram submetidos a ligadura nos primeiros molares inferiores (receberam solução salina intradérmica e intra-articular para efeito placebo);

- **Grupo periodontite e artrite reumatóide (GPAR):** animais que foram submetidos a ligadura nos primeiros molares inferiores e induzidos à AR (sensibilização + injeção intra-articular com CFA);

- **Grupo periodontite e intra-articular (GPIA):** animais que foram submetidos a ligadura nos primeiros molares inferiores e submetidos a injeção intra-articular com CFA e intradérmica com solução salina;

- **Grupo periodontite e intradérmica (GPID):** animais que foram submetidos a ligadura nos primeiros molares inferiores e submetidos a injeção intradérmica com CFA e intra-articular com solução salina.

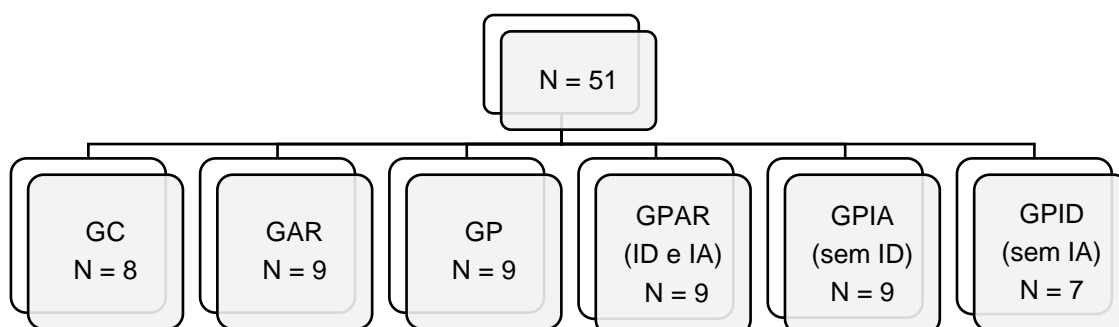


Figura 3 - Esquemática dos grupos amostrais.
Fonte: Autora.

4.2 Procedimentos

Previamente ao início do experimento, todos os animais foram adaptados aos equipamentos de avaliações funcionais, antes de qualquer administração de substâncias ou processo cirúrgico. No dia 1 e 8 os animais foram submetidos a avaliações funcionais basais (B0 e B1 respectivamente) e após, mais 7 avaliações foram feitas.

Posterior a realização da B0, os animais foram submetidos a injeção intradérmica na base da cauda com CFA ou solução salina, de acordo com o grupo e, após 7 dias receberam a injeção intra-articular com CFA ou solução salina, também de acordo com o grupo ao qual pertencia. No dia 3, para a indução da periodontite, os animais dos grupos GP, GPAR, GPIA e GPID foram submetidos ao procedimento cirúrgico para a colocação da ligadura (Figura 4) e no 30º dia foi realizada a eutanásia dos animais. A seguir, segue a descrição detalhada de cada procedimento.

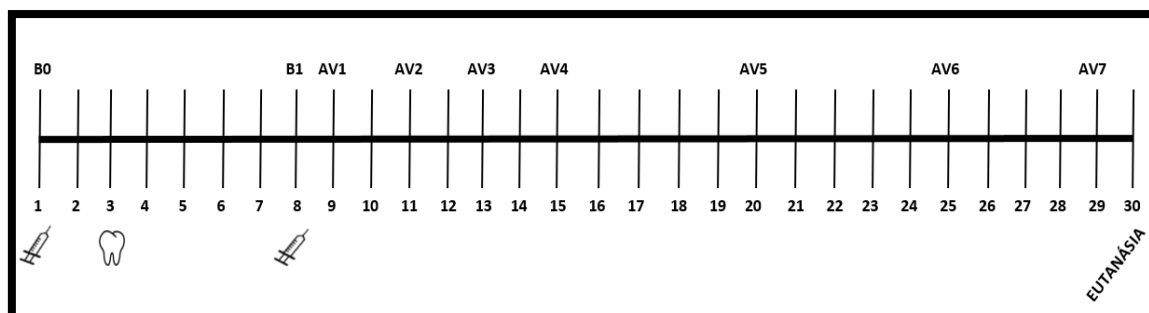


Figura 4 - Delineamento das induções das patologias e avaliações.
Fonte: Autora.

4.3 Indução da artrite reumatóide

Para a indução da inflamação articular no experimento foi utilizado o método descrito por Gomes et al. (2014) que consiste na utilização do Adjuvante Completo de Freund - CFA *Mycobacterium butyricum* (0,5 mg/ml, Difco ®); solução isotônica de cloreto de sódio (0,9 %, Aster ®) e álcool iodado (1%, Rialcool ®).

Os animais foram contidos manualmente de forma cuidadosa com uma flanela, de modo que apenas o terço inferior do abdômen permanecesse livre,

foi realizado tricotomia e com álcool iodado (1%) foi feita a assepsia local e, para as injeções, foram utilizadas seringas de 1 ml e agulha 13 x 4.5 mm. Para a injeção intradérmica, a agulha foi inserida aproximadamente um centímetro na base da cauda subcutaneamente, sendo que os animais dos grupos GAR e GPAR receberam a pré sensibilização com 50µl (microlitros) de CFA (0,5 mg/ml, *Mycobacterium butiryicum*) e GPID recebeu somente essa injeção. Já nos grupos GC, GP e GPIA, foi injetado solução salina (cloreto de sódio 0,9%) no mesmo volume.

Sete dias após a sensibilização, novamente os animais foram contidos manualmente para que a região do joelho do membro pélvico direito fosse tricotomizada e posteriormente feita a assepsia local com álcool iodado (1%). Com seringa de 1 ml e agulha 13 x 4.5 mm, a qual foi introduzida perpendicularmente em cerca de 1/3 do seu comprimento, os animais dos grupos GAR e GPAR foram submetidos a injeção na articulação tíbio femoral com 50 µl (0,5 mg/ml) de CFA *Mycobacterium butiryicum* e o grupo GPIA foi submetido somente a essa injeção. O restante dos grupos recebeu a aplicação com solução salina (cloreto de sódio 0,9%).

Conforme o modelo utilizado, são necessárias duas aplicações, a primeira na base da cauda e a segunda aplicação, na articulação tibiofemoral, com um intervalo de 7 dias entre elas. Porém, os grupos GPIA e GPID foram submetidos a somente uma injeção, para que as repercussões dessas injeções de forma isolada, mas associada à periodontite, fossem possíveis de se analisar.

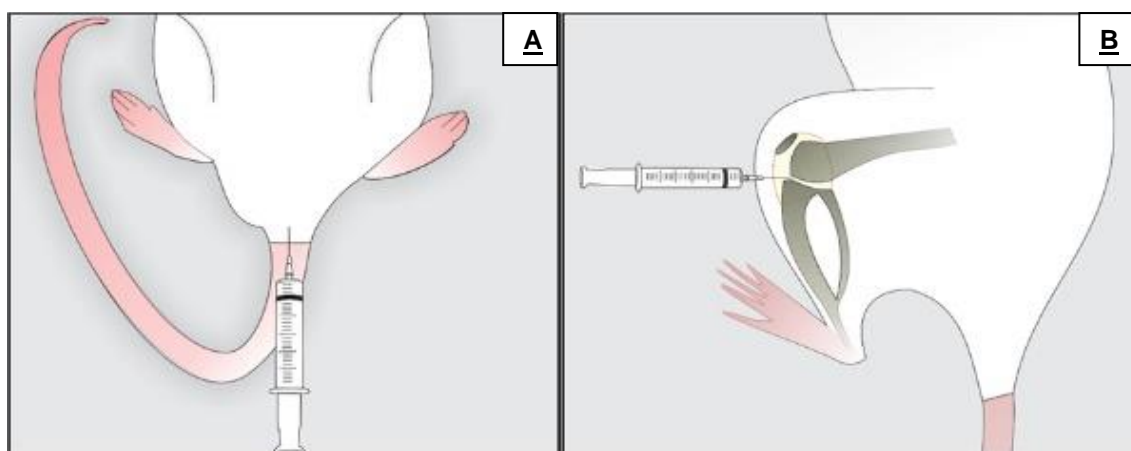


Figura 5 – Indução da artrite reumatóide.
Fonte: NEVES, 2019.

4.4 Indução da periodontite

Para a indução da periodontite, os animais dos grupos GP, GPAR, GPIA e GPID tiveram restrição alimentar por 8 horas antes da colocação da ligadura. Posteriormente, os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina (50 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (15 mg/Kg), e posicionados em mesa operatória apropriada, a qual permitiu a manutenção da abertura bucal dos ratos facilitando o acesso aos dentes da região posterior da mandíbula. Com o auxílio de uma pinça modificada e uma sonda exploradora, foi colocado um fio de algodão número 40 ao redor do primeiro molar inferior direito e esquerdo (Figura 6, A e B). Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam por via oral uma gota de Dipirona sódica para alívio de dor e febre (NASSAR et al., 2009; NASSAR et al., 2014).

Esta ligadura atuou como irritante gengival, favorecendo o acúmulo de placa bacteriana e consequente desenvolvimento da periodontite (Figura 7). Conforme relatado em estudos anteriores (NASSAR et al., 2014; HOLZHAUSEN et al., 2002), no 5º dia é possível observar alterações macroscópicas da gengiva bem como a perda óssea alveolar, sendo assim, no 5º dia onde tais alterações são vistas, a aplicação da segunda injeção intra-articular para a indução da AR também foi realizada.

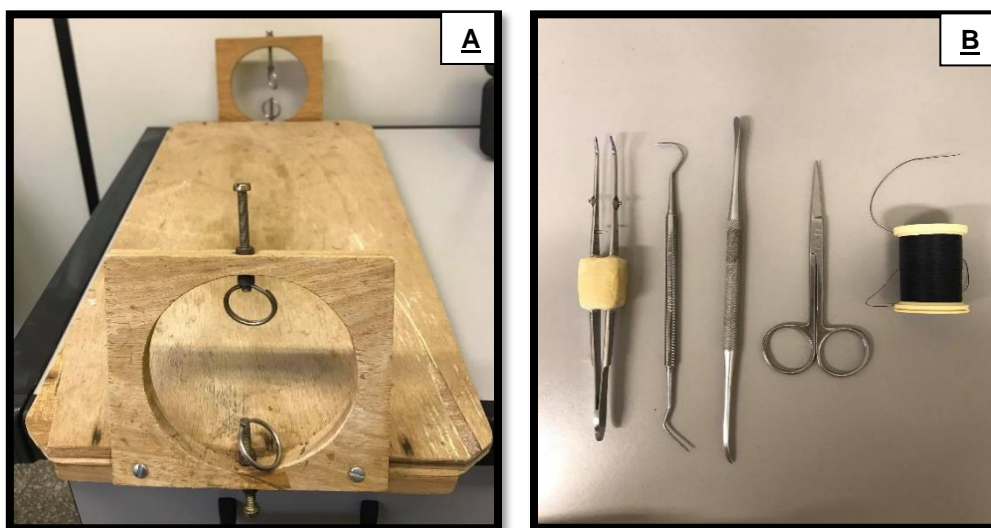


Figura 6 - Fotos ilustrativas dos aparatos necessários para indução da periodontite por meio da ligadura. A: Mesa operatória. B: Instrumentos utilizados.

Fonte: Autora. 2019.

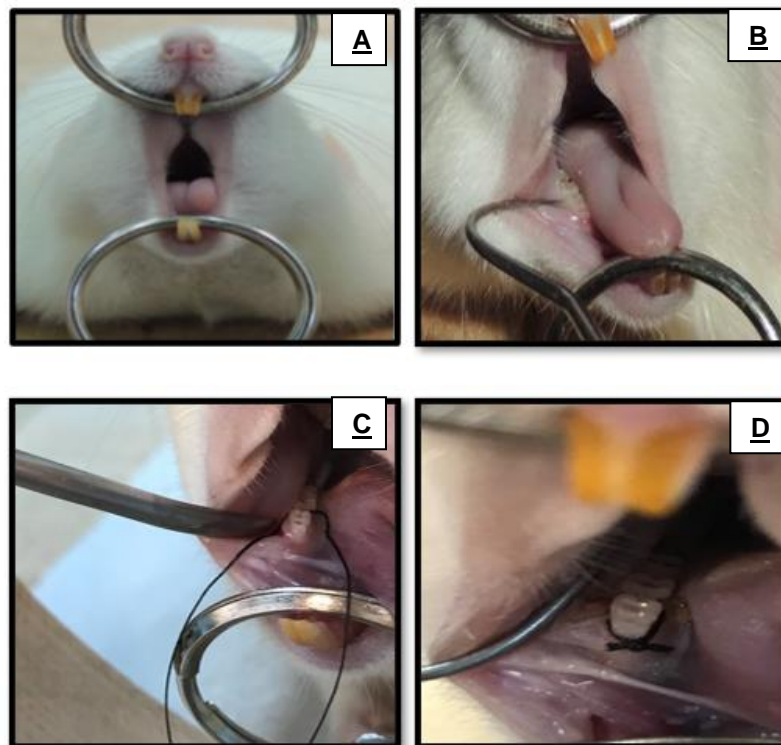


Figura 7 - Foto ilustrativa da colocação da ligadura. A: Abertura da cavidade oral. B: Abertura do espaço entre o 1º e 2º molar inferior. C: Colocação da ligadura com fio de algodão no primeiro molar inferior. D: Ligadura colocada no primeiro molar inferior.

Fonte: Autora, 2019.

4.5 Avaliações Funcionais

Previamente ao início do experimento, todos os animais foram treinados e adaptados aos equipamentos de avaliação funcional. Duas avaliações funcionais basais (basal 0 - B0 e basal 1 - B1) foram realizadas, sendo que B0 ocorreu antes da indução das patologias e B1 sete dias após o primeiro estímulo na cauda e cinco dias após a colocação da ligadura e antecedente à injeção intra-articular.

Após a B1, mais 7 avaliações foram feitas, a primeira foi realizada após 24 horas da B1 – AV1. Posterior à AV1, as avaliações foram realizadas em dias intercalados até chegar na AV4 e posterior a essa avaliação, a AV5 foi realizada no 12º dia, AV6 no 17º dia e a AV7 no 21º dia.

4.5.1 Avaliação da Incapacidade Motora

Para avaliar o grau de incapacidade motora, foi utilizado o modelo de incapacitação articular, descrito por Tonussi e Ferreira (1992), composto por um cilindro metálico (30 cm de altura e 30 cm de diâmetro) revestido por malha trançada em aço inox (2 mm), conectado a um motor que gerou 3 rotações por minuto. Sapatilhas metálicas foram acopladas em ambas as regiões plantares dos animais, sendo que a sapatilha direita foi conectada a um fio direcionado a uma caixa amplificadora, conectada à um computador que continha o software Rise-Step (Insight®), então o animal deambulou por um minuto nesse cilindro e o registro dos valores em que a pata sensibilizada ficou sem tocar a superfície foi feito por meio desse software.

A esse registro, denomina-se de Tempo de Elevação da Pata (TEP; segundos), constituindo a medida de incapacidade articular (Figura 8) (STEIN, 2012). O TEP de animais sem intervenções, é de aproximadamente 10 segundos e o aumento do TEP após a injeção intra-articular com agentes flogísticos indica o desenvolvimento de incapacitação articular (TONUSSI, 1999).

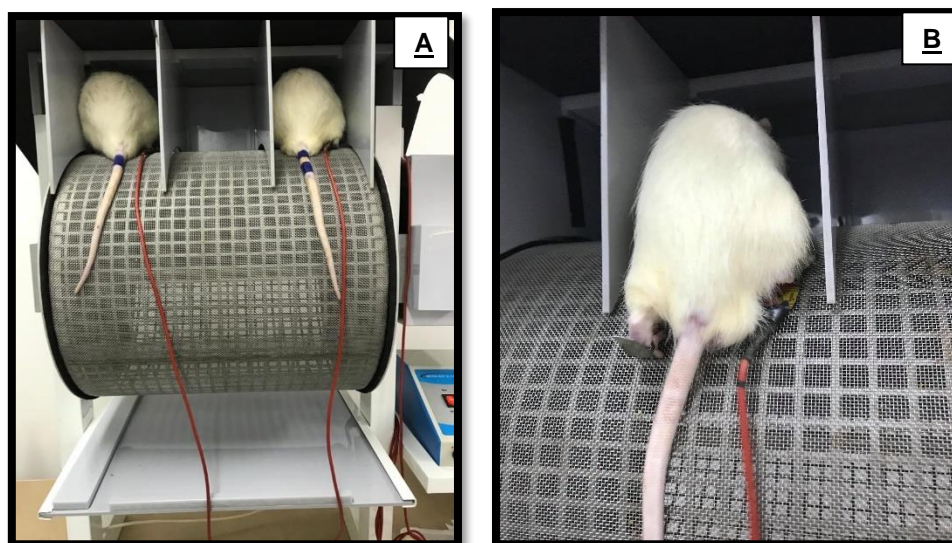


Figura 8 – Avaliação da incapacidade articular. A: Avaliação da incapacidade articular com os animais deambulando no cilindro. B: Sapatilhas acopladas aos membros pélvicos.
Fonte: Autora, 2019.

4.5.2 Avaliação da Nocicepção

Essa avaliação foi realizada com um analgesímetro digital, tipo filamento de Von Frey (Insight®) que consiste em um transdutor de pressão conectado a

um contador digital de força. O contato do transdutor de pressão ao membro pélvico direito MPD dos animais foi realizado por meio de uma ponteira descartável de polipropileno, com 0,5 mm de diâmetro (NEUGEBAUER et al., 2007). Os animais foram colocados em caixas de madeira, cujo assoalho é uma rede de malha constituída de arame não maleável (Figura 9, A). O animal permaneceu alguns minutos na baia para aclimatação e nesse tempo, não houve intervenção.

O experimentador aplicou então, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente no centro da superfície plantar do MPD do rato até que o animal retirasse o membro (Figura 9, B). Foram obtidos 3 valores e a média foi utilizada. A intensidade de hipernocicepção será quantificada com a variação na pressão suportada pelo animal e será expressa em gramas.

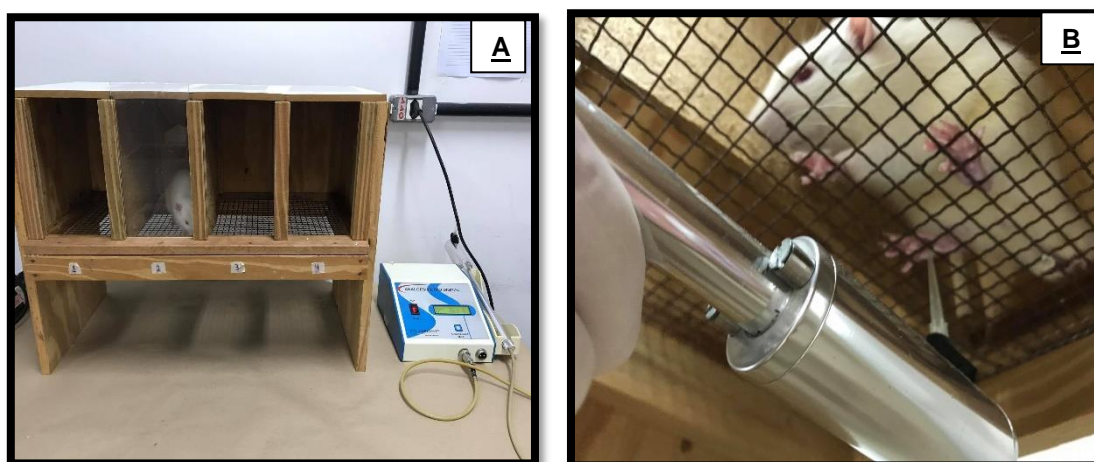


Figura 9 - Avaliação do limiar nociceptivo. A: Aparelho para a análise e a caixa de madeira com assoalho em rede de malha. B: Avaliação com filamento de Von Frey digital.
Fonte: Autora, 2019.

4.5.3 Avaliação do Edema Articular

Para essa avaliação os animais foram gentilmente imobilizados com uma flanela somente pelo tempo necessário para a realização das medidas. A quantificação do edema foi realizada com o auxílio de um paquímetro não digital, o qual foi posicionado no MPD na região da interlinha articular do joelho, médio-lateralmente, conforme ilustrado na figura 10, então 3 medidas foram obtidas, a

média dos valores foi utilizado e os dados foram expressos em milímetros (mm) (GOULD et al., 2007; HSIEH, 2006).



Figura 10 – Foto ilustrativa da avaliação do edema articular com paquímetro não digital.
Fonte: TAVARES, 2019.

4.5.4 Avaliação da Força Muscular

Para a avaliação da força muscular do MPD, foi utilizado um medidor de força de preensão (Insight®, Ribeirão Preto, São Paulo) descrito por Bertelli e Mira (1995). Para tal, o animal foi posicionado de modo que se agarrasse com o membro pélvico direito em uma grade que é conectada a um transdutor e o membro esquerdo foi imobilizado pela mão do avaliador para que não houvesse interferência no teste (Figura 11). O animal foi tracionado com firmeza crescente até perder a preensão. As medidas foram realizadas três vezes e o valor médio foi utilizado. A força exercida pelo animal foi expressa em gramas



Figura 11 - Foto ilustrativa do aparato para avaliação da força de preensão. Momento em que o animal está com o membro pélvico na grade.
Fonte: Autora, 2019.

5 Eutanásia dos animais

No 30º dia, os animais foram eutanasiados por meio de sobredosagem da associação de anestésico dissociativo (Quetamina - 240 mg/Kg) e de agonista de adrenorreceptores alfa 2 (Xilazina - 45 mg/Kg) administrados por via intraperitoneal. O início da coleta do líquido sinovial e dos tecidos foi realizada quando houvesse ausência da resposta motora ao pinçamento da cauda e pregas digitais.

5.1 Leucograma do Fluido Sinovial

Para a coleta do líquido sinovial, o método descrito por Gomes et al. (2014) foi utilizado. Após a eutanásia, a cápsula articular foi exposta e realizado uma lavagem articular com 100 µl de solução fisiológica 0,9 % com 4 µl de E.D.T.A 5%, coletando-se 20 µl do lavado e diluído em líquido de Turk (ácido acético glacial 2 ml, azul de metileno 1% e água destilada 98 ml) com fator de diluição variando de 80 a 380 µl de acordo com a concentração de células no fluido. A contagem das células totais foi realizada numa câmara vítrea de Neubauer (células/mm³) em microscópio de luz na objetiva de 40x, então, essa

contagem foi determinada por quatro quadrantes e realizado uma multiplicação pelo fator de diluição utilizado (Figura 12).

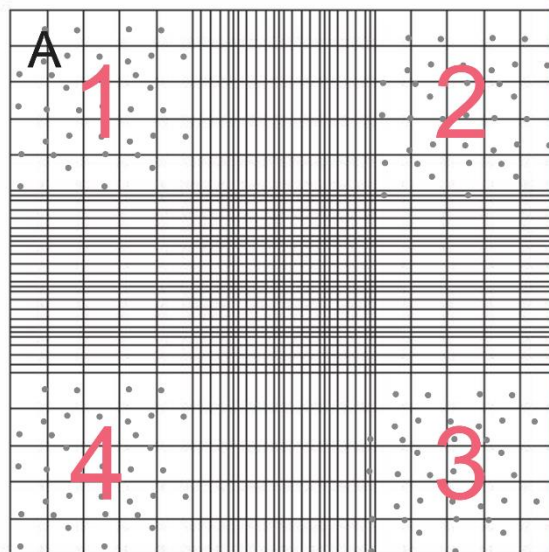


Figura 12 – Análise da migração leucocitária. (A): contagem total.
Fonte: Autora, 2019.

5.2 Morfologia da membrana sinovial

Posterior a eutanásia e a coleta do lavado sinovial, as articulações do joelho direito foram coletadas e dissecadas, fixadas em Metacarn por 48 horas, e então o Metacarn foi trocado por álcool 70% por 15 dias. Após, foi realizada uma lavagem em água corrente por 24 horas e as articulações foram colocadas em imersão no ácido tricloroacético (TCA) 5% por 7 dias, a troca da solução foi feita a cada 5 dias sendo que as articulações foram avaliadas diariamente em relação à descalcificação. As peças foram lavadas em água corrente por 24 horas novamente e acondicionadas no álcool 70%. Sequencialmente foi dado início ao protocolo histológico de rotina, passando pelas graduações de álcoois para desidratação e de xilol para diafanização e inclusão em parafina (Parafina Purificada, cód. 1228, lote 1008459, Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brasil).

Para a confecção das lâminas, as articulações foram clivadas em micrótomo manual (*Olympus* CUT 4055) com 7 μ m de espessura e os cortes foram colocados em lâminas com solução de albumina diluída. Para a coloração, foi utilizado o protocolo de Hematoxilina e Eosina (H&E), e as lamínulas foram coladas nas lâminas com Entellan para observação em microscopia

(JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983). A análise microscópica foi realizada por meio de um microscópio de luz (Leica Microsystems, Switzerland) e os campos de interesse foram fotomicrografados em um fotomicroscópio (Olympus DP71).

As características morfológicas da membrana sinovial foram analisadas, sendo que a região articular anterior foi definida como local de observação (KUNZ et al., 2015).

5.3 Análise Radiográfica da Mandíbula

Posterior à eutanásia, as hemimandíbulas do lado direito foram coletadas, dissecadas, fixadas em Metacarn (70% metanol, 20% clorofórmio, 10% ácido acético glacial), por 48 horas e após esse período o Metacarn foi substituído por Álcool 70% até que as hemimandíbulas fossem utilizadas para análise.

Para as tomadas radiográficas, as hemimandíbulas foram posicionadas com a face lingual sobre o sensor radiográfico digital Kodak RVG 6100 com resolução de imagem 20 pl/mm, resolução teórica do sensor 27,03 pl/mm, fibra ótica 1, dimensões de superfície ativa de 22 x 30 mm e dimensões da matriz (pixels) 1200 x 1600 (1,92 milhões) e de tal forma que as cúspides vestibulares e linguais dos primeiros molares ficassem no mesmo plano vertical. Foi utilizado aparelho de raio X GE – 1000, regulado para 15mA, 65Vp, 18 impulsos, distância foco/filme de 50 centímetros com incidência de raio X perpendicular às peças.

Para análise das imagens digitalizadas, foi utilizado o programa Image Tools 3.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA), e então medidas lineares, em centímetros, percorrendo a junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar do lado mesial do primeiro molar inferior direito foram feitas (Figura 13). Foram realizadas três medidas, em dias diferentes, por um mesmo pesquisador previamente calibrado e a média das mesmas foi utilizada (NASSAR et al., 2009).



Figura 13 – Foto ilustrativa da radiografia da hemimandíbula direita de rato *Wistar*.
Fonte: Autora.

5.4 Histometria da Mandíbula

Posterior à eutanásia, as hemimandíbulas do lado esquerdo foram coletadas, dissecadas e fixadas em solução de Metacarn por 48 horas e então o Metacarn foi substituído por Álcool 70% o qual permaneceu até o início do processamento histológico. Após 60 dias os tecidos foram lavados em água corrente por 48 horas e colocados em imersão no ácido tricloroacético (TCA) 5% por 20 dias, sendo que a troca da solução foi feita a cada 5 dias e as hemimandíbulas foram avaliadas diariamente em relação à descalcificação. As peças foram novamente lavadas em água corrente por 48 horas e acondicionadas no álcool 70%. Em seguida, foi dado início ao protocolo de processamento histológico de rotina, passando por várias graduações de álcoois para desidratação e de xilol para diafanização e inclusão em parafina (Parafina Purificada, cód. 1228, lote 1008459, Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brasil).

Para a confecção das lâminas, os cortes foram realizados em micrótomo manual (*Olympus* CUT 4055) com 7 μm de espessura e postos sob a lâmina com solução de albumina diluída. Para a coloração, foi utilizado o protocolo de Hematoxilina e Eosina (H&E) e as lamínulas foram coladas nas lâminas com Entellan para observação em microscopia (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1983). A análise microscópica foi realizada por 3 avaliadores por meio de um microscópio de luz (*Leica Microsystems*, Switzerland) e fotomicrografadas em um fotomicroscópio (*Olympus* DP71).

A medida da crista óssea alveolar foi realizada por meio do Fotomicroscópio, o qual contém o *software* *LazEz*® possibilitando a captura de imagens. A partir dessas imagens, foi realizada uma medida da menor distância

entre o ápice da crista óssea alveolar vestibular e a junção cimento-esmalte, utilizando o programa analisador de imagens *Image Tools 3.0* (*University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA*) (Figura 14). Foram realizadas três medidas, em dias diferentes, por um mesmo pesquisador previamente treinado e a média das mesmas foi utilizada (MATTIA et al., 2017).

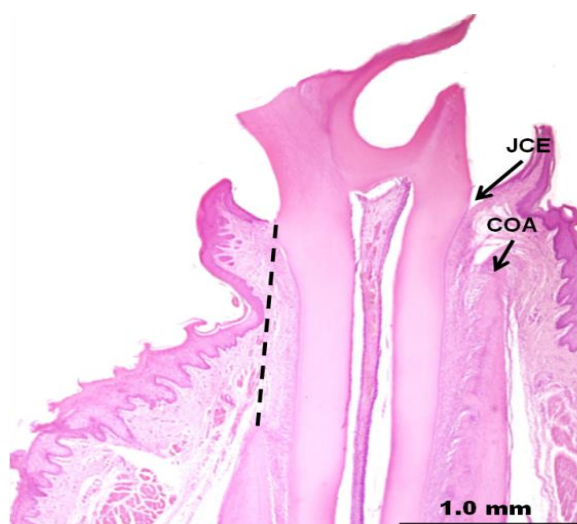


Figura 14 - Fotomicrografia do dente de rato, mostrando onde será realizada a medida da distância da junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar. COA: Crista óssea alveolar, JCE: junção cimento-esmalte.

Fonte: LEITE et al., 2017.

6. Análise Estatística

Para análise estatística das avaliações funcionais foi utilizado o programa SPSS 20.0 ®. As comparações foram realizadas por Modelos Generalizados Lineares com pós-teste de Fisher (LSD). O valor de significância adotado foi de $p < 0,05$ e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

Para a análise estatística das avaliações radiográfica e histomorfométrica da mandíbula foi utilizado o Programa Bioestat@ - versão 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Brasil, AM). Foi testada a distribuição normal e a variância homogênea. Como a distribuição foi considerada normal e a variância homogênea, foi utilizado o teste paramétrico ANOVA – One way seguido por teste de comparação múltipla de Tukey. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$ (5%).

Os resultados serão apresentados em formato de artigo científico.

7. Artigo

Submetido em: Março/2021 – ACTA ODONTOLOGICA SCANDINAVICA

PERIODONTITE EXPERIMENTAL COMO FATOR DE RISCO PARA POTENCIALIZAÇÃO DOS EFEITOS DA ARTRITE REUMATÓIDE EM RATOS *WISTAR*

ABSTRACT

OBJETIVO: O objetivo do presente estudo foi avaliar se a periodontite, por meio da inflamação sistêmica, potencializa os efeitos deletérios da artrite reumatóide. **MATERIAIS E MÉTODOS:** 51 ratos *Wistar* machos foram randomizados em seis grupos: grupo controle (GC n=8), grupo artrite reumatóide (GAR, n=9), grupo periodontite (GP, n=9), grupo periodontite e artrite reumatóide (GPAR, n=9), grupo periodontite e intra-articular (GPIA, n=9) e grupo periodontite e intradérmica (GPID, n=7). Os animais foram submetidos a colocação de ligadura e AR por CFA. A incapacidade motora, limiar nociceptivo, edema articular e força muscular foram avaliados e no 30º dia os animais foram eutanasiados. O líquido sinovial, hemimandíbulas e articulações do joelho foram coletadas. **RESULTADOS:** O grupo AR demonstrou redução de edema e melhora de força muscular, isso não ocorreu para o grupo GPAR. No grupo GPIA, observou-se na maioria das variáveis a mesma repercussão do que GPAR. Na migração leucocitária e análise morfológica da membrana sinovial o grupo que apresentou maior comprometimento foi GPAR. Nas análises radiográficas e histométricas, o grupo que obteve maior distância da COA a JCE, foi o grupo GPAR. **CONCLUSÃO:** A periodontite é um fator de risco potencializador dos efeitos da artrite reumatóide.

Palavras-Chaves: Ligadura. Artrite Experimental. Inflamação. Adjuvante de Freund.

INTRODUÇÃO

A periodontite pode ser definida como uma doença inflamatória multifatorial crônica associada a biofilmes de placa disbiótica e caracterizada pela destruição progressiva do aparato de inserção dental [1]. O biofilme bacteriano, aderido à superfície dentária desencadeia uma intensa reação inflamatória [2]. Esse mecanismo inflamatório libera endotoxinas que ativam citocinas pró-inflamatórias [3] como as interleucinas IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), Proteína C-Reativa (PCR) e IL-17 [3-7].

Essas citocinas causam a destruição de fibras colágenas e constituintes da matriz do tecido conjuntivo do ligamento periodontal e osso alveolar, juntamente com a formação de bolsas periodontais [8]. Uma vez que esses biomarcadores estão presentes e ativados na periodontite, eles podem contribuir de forma expressiva para uma resposta inflamatória sistêmica do hospedeiro [9]. Essa resposta se deve a disseminação sistêmica de bactérias e de mediadores inflamatórios pelo sistema vascular [10].

Há evidências que suportam a associação entre a periodontite e o desenvolvimento de certos processos inflamatórios e sistêmicos, como doença cardiovascular, diabetes mellitus, obesidade e alterações durante a gravidez [11]. A artrite reumatóide (AR) também foi incluída entre essas desordens associadas [12,13]. Ela é caracterizada por ser uma doença autoimune com inflamação sinovial crônica [14,15]. Constitui-se de uma poliartrite simétrica e compromete articulações periféricas diartrodiais e estruturas periarticulares [16].

Além de ser uma poliartrite crônica, bilateral e simétrica, as inflamações articulares e dores podem acarretar em deformidades, instabilidades e destruição progressiva das articulações sinoviais [17]. Com isso, os efeitos deletérios sobre a mobilidade física e sobre a capacidade funcional comprometem a expectativa de vida desses pacientes [18]. A sinovite acomete a membrana sinovial, a qual é sítio de inflamação primária, e com isso a hiperplasia celular e processo inflamatório estão presentes [16]. A fisiopatologia da AR é regulada pela superprodução de citocinas pró-inflamatórias e desregulação de citocinas antiinflamatórias, sendo que as principais citocinas presentes nesse meio inflamatório são TNF- α e a IL-6 [19].

Vários estudos têm sugerido uma relação entre a AR e a periodontite, mostrando que pacientes com AR têm uma maior probabilidade em desenvolver

periodontite quando comparado a pessoas saudáveis [20,21,22]. Essa relação parece ser bidirecional [23,24]. E, devido a essa relação, mudanças nos marcadores bioquímicos foram observadas após o tratamento periodontal não cirúrgico, propiciando uma redução da inflamação produzida a nível periodontal e então, repercutindo em modulação de forma positiva no processo inflamatório na artrite [11]. Além disso, a presença da periodontite foi associada a um aumento do dano articular por meio de escores radiológicos [25].

MÉTODOS

Animais e grupos experimentais

O estudo foi do tipo experimental e randomizado, compostos por 51 ratos machos, da linhagem *Wistar*, com idade de três meses, peso 325 ± 39 g, mantidos em caixas de polipropileno, com acesso água e ração *ad libitum*, sob condições controladas de temperatura ($21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo claro/escuro de 12 horas. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE (Protocolo nº. 19-19/25/07/2019).

Os animais foram randomizados aleatoriamente em seis grupos [26], GC (grupo controle), GAR (grupo artrite reumatóide), GP (grupo periodontite), GPAR (grupo periodontite e artrite reumatóide), GPIA (grupo periodontite e intra-articular), GPID (grupo periodontite e intradérmica). A diferença no número de animais se deve à perda amostral durante o experimento.

Modelo experimental de artrite reumatóide induzida por Adjuvante Completo de Freund

Para a indução da AR foi utilizado o método descrito por Gomes et al. [27], os grupos GAR, GPAR, GPID foram submetidos a um protocolo de pré-sensibilização no dia 1 por meio de uma inoculação intradérmica na base da cauda de 50 μ L de CFA (Adjuvante Completo de Freund, Difco®, 0,5 mg/mL, *Mycobacterium butyricum*). Nos animais dos grupos GC, GP e GPIA, foi utilizado solução fisiológica de cloreto de sódio (0,9 %, Aster®). Os animais receberam a injeção com uma seringa de 1 mL e agulha 13x4,5 mm. A agulha foi inserida aproximadamente 1cm na base da cauda subcutaneamente. Após 7 dias, os

animais dos grupos GAR, GPAR e GPIA receberam a injeção intra-articular com 50µL (0,5 mg/mL) de CFA e solução fisiológica de cloreto de sódio (0,9 %, Aster®) para os animais dos grupos GC, GP e GPID. Os animais foram contidos gentilmente e a injeção foi administrada na articulação tibiofemoral direita dos animais.

Indução da periodontite por meio de ligadura

Para a indução da periodontite no 5º dia, os animais tiveram restrição alimentar por 8 horas e após esse período os animais foram anestesiados com (xilazina 0,04 ml/100g e quetamina 0,08 ml/100g) e posicionados em mesa operatória apropriada, a qual permitiu a manutenção da abertura bucal dos ratos facilitando o acesso aos dentes da região posterior da mandíbula. Com o auxílio de uma pinça modificada e uma sonda exploradora, foi colocado um fio de algodão número 40 ao redor do primeiro molar inferior direito e esquerdo. Essa ligadura atuou como irritante gengival, favorecendo o acúmulo de placa bacteriana e desenvolvimento da periodontite [26].

Avaliações funcionais

Na semana anterior à realização das avaliações, os animais foram treinados e adaptados aos equipamentos de avaliação funcional. Posteriormente, as avaliações foram realizadas no dia 1 e 8 (Basal 0 e Basal 1) e nos dias 9, 11, 13, 15, 20, 25 e 29 (Avaliações 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7, respectivamente).

Teste de incapacidade articular

A incapacidade articular foi mensurada por meio do tempo (segundos) da elevação da pata (TEP) [28]. Para isso, os animais foram submetidos à uma deambulação em um cilindro metálico (30 cm de altura e 30 cm de diâmetro) revestido por malha trançada em aço inox (2 mm), conectado a um motor que gerou 3 rotações por minuto. Nos animais, sapatilhas metálicas foram acopladas em ambas as regiões plantares, sendo que a sapatilha direita foi conectada através de um fio condutor a um computador que continha o programa Rise – Step, então o animal deambulou por um minuto nesse cilindro e o registro dos

valores em que a pata sensibilizada ficou sem tocar a superfície foi feito por meio do programa.

O TEP de animais sem nenhuma intervenção é de aproximadamente 10 segundos e o aumento do TEP após a injeção intra-articular com agentes flogísticos indica o desenvolvimento de incapacitação articular [29].

Avaliação da nocicepção

Essa avaliação foi realizada por meio de um analgesímetro digital, tipo filamento de Von Frey (Insight®) que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas. O contato do transdutor de pressão ao membro pélvico direito (MPD) dos animais foi realizado por meio de uma ponteira descartável de polipropileno, com 0,5 mm de diâmetro [30]. Os animais foram colocados em caixas de madeira, com assoalho em rede de malha constituída de arame não maleável. O animal permaneceu alguns minutos na baia para aclimação e nesse tempo não houve intervenção. O experimentador aplicou então, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente no centro da superfície plantar do MPD até que o animal retirasse o membro. Foram obtidos 3 valores e a média foi utilizada.

Avaliação do Edema Articular

A quantificação do edema foi realizada com o auxílio de um paquímetro não digital, o qual foi posicionado no MPD na região da interlinha articular do joelho, médio-lateralmente e então 3 medidas foram obtidas e a média dos valores foi utilizado [31, 32].

Avaliação da força muscular

Para a avaliação da força muscular do MPD, foi utilizado um medidor de força de preensão (*Insight*®) [33]. Para tal, o animal foi posicionado de modo que se agarrasse com o MPD em uma grade conectada a um transdutor e o membro esquerdo foi imobilizado pela mão do avaliador para que não houvesse interferência no teste. O animal foi tracionado com firmeza crescente até perder a preensão. As medidas foram realizadas três vezes e o valor médio foi utilizado.

Leucograma do Fluido Sinovial

Posterior ao período experimental, os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia (30º dia), por meio de sobredosagem da associação de anestésico (Quetamina - 240 mg/Kg) e de agonista de adrenorreceptores alfa 2 (Xilazina - 45 mg/Kg) administrados por via intraperitoneal. Após checagem do estado de consciência do animal (ausência de resposta motora ao pinçamento da cauda e pregas interdigitais) foi realizado a coleta do líquido sinovial.

Para isso, a cápsula articular do joelho direito foi exposta e realizado uma lavagem articular com 100 µl de solução fisiológica 0,9 % com 4 µl de E.D.T.A 5% e então, 20 µl do fluido foram coletados e diluído em líquido de Turk (ácido acético glacial 2 ml, azul de metileno 1% e água destilada 98 ml) com fator de diluição variando de 80 a 380 µl de acordo com a concentração de células no fluido. A contagem das células totais foi realizada numa câmara vítrea de Neubauer (células/mm³) e com microscópio de luz na objetiva de 40x, então, essa contagem foi determinada por quatro quadrantes e realizado uma multiplicação pelo fator de diluição utilizado [27].

Morfologia da membrana sinovial e Histometria da Mandíbula

As articulações do joelho direito e as hemimandíbulas do lado esquerdo foram coletadas e dissecadas, fixadas em Metacarn (70% de metanol, 20% de clorofórmio, 10% de ácido acético glacial) por 48 horas e após esse período foi trocado por álcool 70% (Neon®) por 15 dias. Em seguida, foi realizada a lavagem do material em água corrente por 24 horas e as articulações foram colocadas em imersão no ácido tricloroacético (TCA) 5% (Neon®) por 7 dias, seguindo para processo histológico de rotina para inclusão em parafina (Alphatec®). Para a confecção das lâminas, cortes em plano sagital em Micrótomo *Olympus* CUT 4055 com 7 µm de espessura e montados em lâminas de vidro, foram feitos. Para a coloração, foi utilizado o protocolo de Hematoxilina e Eosina (Synth®). A análise microscópica foi realizada por meio de um microscópio de luz e os campos de interesse foram fotomicrografados em fotomicroscópio Olympus® DP71 (USA).

Na análise morfológica, foi observado aspectos normais e alterações da membrana sinovial e nas fotomicrografias das hemimandíbulas, foi realizada uma medida da menor distância entre o ápice da crista óssea alveolar e a junção cimento-esmalte, utilizando o programa analisador de imagens *Image*

Tools 3.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA). As medidas foram repetidas uma vez por dia, em três dias diferentes, e então a média foi utilizada [34].

Análise Radiográfica da Mandíbula

As hemimandíbulas do lado direito foram coletadas, dissecadas, fixadas em Metacarn (70% metanol, 20% clorofórmio, 10% ácido acético glacial) por 48 horas e após esse período o Metacarn foi substituído por Álcool 70%. Para as tomadas radiográficas, as hemimandíbulas foram posicionadas com a face lingual sobre o sensor radiográfico digital (Kodak RVG 6100 com resolução de imagem 20 pl/mm, resolução teórica do sensor 27,03 pl/mm, fibra ótica 1, dimensões de superfície ativa de 22 x 30 mm e dimensões da matriz (pixels) 1200 x 1600 (1,92 milhões) e de tal forma que as cúspides vestibulares e linguais dos primeiros molares ficassem no mesmo plano vertical. Foi utilizado aparelho de raio X GE – 1000, regulado para 15mA, 65Vp, 18 impulsos, distância foco/filme de 50 centímetros com incidência de raio X perpendicular às peças.

Para análise das imagens digitalizadas, foi utilizado o programa Image Tools 3.0 (University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA), e então foram realizadas as medidas lineares percorrendo a junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar do lado mesial do primeiro molar inferior direito.

Análise Estatística

Para análise estatística das avaliações funcionais foi utilizado o programa SPSS 20.0®. As comparações foram realizadas por Modelos Generalizados Lineares com pós-teste de Fisher (LSD). O valor de significância adotado foi de $p < 0,05$ e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

Para a análise estatística das avaliações radiográfica e histométrica da mandíbula foi utilizado o Programa Bioestat@ - versão 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Brasil, AM). Foi testada a distribuição normal e a variância homogênea. Como a distribuição foi considerada normal e a variância homogênea, foi utilizado o teste paramétrico ANOVA – One way seguido por teste de comparação múltipla de Tukey. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando $p < 0,05$ (5%).

RESULTADOS

Massa Corporal

Durante o período do experimento, a massa corporal foi quantificada, sendo possível a análise de perda ou ganho de peso dos animais. Na análise entre os grupos não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$), ou seja, todos eles mantiveram semelhança durante o experimento, porém, em relação as pesagens, o peso que obteve diferença estatística significativa foi o peso 1 em relação ao 3 ($p < 0,05$), indicando que todos os grupos obtiveram um ganho de peso comparado ao início do experimento, conforme descrição na Tabela 1.

Tabela 1 – Massa corporal dos animais.

	<i>Peso 1^a</i>	<i>Peso 2^{ab}</i>	<i>Peso 3^b</i>
GC	325,00 ± 39,76	340,38 ± 31,45	350,38 ± 29,84
GAR	314,33 ± 37,49	320,33 ± 24,37	327,89 ± 22,31
GP	323,33 ± 45,07	342,56 ± 31,95	358,89 ± 33,71
GPAR	331,11 ± 52,48	334,00 ± 46,70	342,00 ± 48,42
GPIA	316,11 ± 32,45	331,78 ± 29,30	349,78 ± 28,80
GPID	307,43 ± 50,22	323,71 ± 34,14	334,86 ± 32,97

Incapacidade Motora

Os grupos GAR e GPAR apresentaram diferença estatística significativa do grupo GC a partir da B1 perdurando até a última avaliação e, ao avaliar os valores médios desses grupos, o grupo GAR obteve maior TEP do que o grupo GPAR. O grupo GPIA demonstrou diferença estatística a partir de AV1, perdurando até AV7. O grupo GP se assemelhou ao grupo GC em todas as avaliações e o grupo GPID se assemelhou ao grupo GC na maioria delas.

Em relação as avaliações intragrupo, no GAR esse parâmetro mostrou diferença estatística a partir da B1 e, em AV1 e AV3 houve uma queda no valor, mas que não foi persistente, vistos pelos valores médios mais altos nas outras avaliações. No grupo GPAR, denotou-se um aumento no TEP nas avaliações,

mas esse parâmetro se reestabeleceu, vistos pela semelhança estatística entre as basais e AV7. No grupo GPIA, as basais mantiveram semelhança entre si e diferença estatística de todas as outras avaliações, conforme descrição na Tabela 2.

Tabela 2 – Avaliação da Incapacidade motora.

	GC	GAR	GP	GPAR	GPIA	GPID
B0	15,07 ± 3,70 ^{Aa}	12,55 ± 2,33 ^{Aa}	14,22 ± 3,00 ^{Aa}	16,35 ± 5,02 ^{Aa}	13,37 ± 4,77 ^{Aa}	12,53 ± 2,88 ^{Aa}
B1	10,79 ± 1,92 ^{Aa}	21,81 ± 10,70 ^{BCc}	12,00 ± 3,48 ^{Aa}	19,74 ± 8,68 ^{BDac}	15,52 ± 7,03 ^{ADa}	16,16 ± 5,92 ^{ACDac}
AV1	11,84 ± 2,27 ^{Aa}	31,84 ± 9,46 ^{Cd}	13,58 ± 3,82 ^{ADa}	24,16 ± 8,39 ^{Ebcd}	30,66 ± 7,75 ^{Cb}	18,67 ± 6,43 ^{BDEad}
AV2	12,85 ± 5,45 ^{Aa}	35,97 ± 8,17 ^{Cbd}	12,37 ± 3,93 ^{Aa}	29,39 ± 5,51 ^{Bb}	31,29 ± 7,62 ^{BCb}	17,15 ± 5,58 ^{Aae}
AV3	15,20 ± 6,73 ^{Aa}	34,65 ± 11,04 ^{Cde}	13,20 ± 2,86 ^{Aa}	27,61 ± 11,31 ^{Bbe}	28,61 ± 6,70 ^{BCb}	15,90 ± 4,19 ^{Aaf}
AV4	13,44 ± 4,08 ^{ADa}	38,25 ± 10,24 ^{Cbe}	12,13 ± 3,73 ^{Da}	21,95 ± 5,28 ^{Eadef}	29,86 ± 10,74 ^{Bb}	19,60 ± 3,09 ^{AEbcdefg}
AV5	14,21 ± 1,61 ^{Aa}	38,00 ± 6,57 ^{Cbe}	12,54 ± 2,20 ^{Aa}	24,50 ± 8,38 ^{BDbcfg}	30,05 ± 10,91 ^{Bb}	18,77 ± 3,89 ^{ADag}
AV6	14,74 ± 5,64 ^{Ada}	40,30 ± 6,17 ^{Cbe}	12,57 ± 2,56 ^{Da}	24,53 ± 8,27 ^{BEbcfh}	28,48 ± 9,17 ^{Bb}	19,29 ± 6,68 ^{AEag}
AV7	12,44 ± 3,75 ^{Aa}	41,25 ± 6,22 ^{Cb}	12,05 ± 5,05 ^{Aa}	22,00 ± 6,52 ^{BDadefgh}	27,91 ± 8,58 ^{Db}	19,39 ± 5,51 ^{Bag}

Os valores representam média ± desvio padrão. Letras diferentes denotam dados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Nas linhas, as letras maiúsculas são comparação entre os grupos ao longo das avaliações. Nas colunas, as letras minúsculas são comparação dentro do mesmo grupo. Fonte: autora

Limiar nociceptivo

Sobre a avaliação do limiar nociceptivo, em relação aos grupos GPAR e AR, houve diferença estatística em relação ao GC a partir de AV1 até AV7 e, na maioria das avaliações houve semelhança entre esses dois grupos. No GPIA houve diferença estatística significativa do GC em todas as avaliações. Os grupos GPID e GP se assemelharam ao GC em todas as avaliações

Em relação as avaliações intragrupo, no GP, nas avaliações AV1 e AV2 denotou-se hiperalgesia, mas esse parâmetro foi reestabelecido ao longo das avaliações, notado pela diferença estatística da AV7. No GPIA, houve diferença estatística significativa a partir de AV1 que se manteve até AV7, conforme descrição na Tabela 3.

Tabela 3 – Avaliação do limiar nociceptivo.

	GC	GAR	GP	GPAR	GPIA	GPID
B0	39,51 ± 5,10 ^{Aa}	40,22 ± 4,34 ^{Aa}	43,67 ± 4,03 ^{Aa}	48,97 ± 5,41 ^{Aa}	46,88 ± 6,30 ^{Aa}	43,21 ± 5,86 ^{Aa}
B1	38,95 ± 3,91 ^{Aa}	37,62 ± 4,92 ^{Aa}	41,96 ± 3,88 ^{Aac}	43,52 ± 2,98 ^{Aa}	41,73 ± 2,70 ^{Aa}	42,86 ± 5,11 ^{Aa}
AV1	38,07 ± 2,06 ^{Aa}	17,10 ± 7,81 ^{Cc}	35,04 ± 5,89 ^{DEbcd}	15,00 ± 10,72 ^{Cc}	27,26 ± 10,83 ^{Bbc}	38,77 ± 4,84 ^{AEa}
AV2	40,41 ± 4,20 ^{Aa}	8,73 ± 3,88 ^{Cb}	34,00 ± 12,58 ^{Dbe}	15,94 ± 8,23 ^{Ccd}	24,56 ± 14,86 ^{Bc}	41,60 ± 5,44 ^{Aa}
AV3	37,88 ± 3,38 ^{ADa}	10,53 ± 4,79 ^{Cbc}	40,49 ± 4,21 ^{Dade}	22,06 ± 10,54 ^{Ebd}	32,43 ± 10,94 ^{Bb}	42,37 ± 3,46 ^{ADa}
AV4	36,49 ± 4,49 ^{Aa}	12,77 ± 3,52 ^{Cbc}	37,76 ± 4,35 ^{Aade}	25,26 ± 10,79 ^{Bb}	30,03 ± 14,52 ^{Bbc}	42,87 ± 5,37 ^{Aa}
AV5	35,94 ± 2,79 ^{Aa}	12,52 ± 4,84 ^{Cbc}	39,33 ± 7,75 ^{Aade}	20,63 ± 9,41 ^{Dbc}	29,63 ± 13,63 ^{Bbc}	44,37 ± 2,64 ^{Aa}
AV6	36,58 ± 2,21 ^{Aa}	14,01 ± 6,79 ^{Cbc}	42,04 ± 3,0 ^{Aa}	20,56 ± 11,17 ^{Cbc}	32,53 ± 11,39 ^{BDb}	39,97 ± 7,34 ^{ADa}
AV7	36,74 ± 2,73 ^{Aa}	15,46 ± 8,57 ^{Cbc}	43,01 ± 1,93 ^{Aa}	18,39 ± 11,19 ^{Cbc}	32,42 ± 9,55 ^{BDb}	38,89 ± 9,76 ^{ADa}

Os valores representam média ± desvio padrão. Letras diferentes denotam dados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Nas linhas, as letras maiúsculas são comparação entre os grupos ao longo das avaliações. Nas colunas, as letras minúsculas são comparação dentro do mesmo grupo. Fonte: autora.

Edema articular

Sobre o edema articular, em todas as avaliações GPAR e GAR obtiveram diferença estatística significativa em relação ao GC e na maioria delas esses grupos se mantiveram semelhantes. O GPIA também apresentou diferença estatística do GC em todas as avaliações e nos grupos GP e GPID houve semelhança do grupo GC na maioria das avaliações

Em relação as avaliações intragrupo, no grupo GAR, B0 e B1 mantiveram semelhança, porém diferença estatística em relação as outras avaliações.

Nos grupos GPAR e GPIA, houve diferença das basais em relação a todas as outras avaliações e, de AV1 até AV7 esses valores se mantiveram semelhantes, diferentemente do GAR, não houve redução do parâmetro edema em nenhuma das avaliações, conforme descrição na Tabela 4.

Tabela 4 – Avaliação do edema articular.

	GC	GAR	GP	GPAR	GPIA	GPID
B0	0,98 ± 0,04 ^{Aa}	1,00 ± 0,04 ^{Aa}	0,97 ± 0,04 ^{Aa}	0,99 ± 0,06 ^{Aa}	1,01 ± 0,06 ^{Aa}	1,03 ± 0,09 ^{Aab}
B1	0,98 ± 0,04 ^{Aa}	1,01 ± 0,06 ^{Aa}	0,98 ± 0,06 ^{Aac}	0,97 ± 0,06 ^{Aa}	1,00 ± 0,06 ^{Aa}	0,99 ± 0,05 ^{Ab}
AV1	1,00 ± 0,05 ^{Aa}	1,23 ± 0,07 ^{Bbc}	1,02 ± 0,07 ^{Aad}	1,18 ± 0,07 ^{Bb}	1,16 ± 0,09 ^{Bb}	1,06 ± 0,05 ^{Aab}
AV2	1,00 ± 0,06 ^{Aa}	1,30 ± 0,10 ^{Cc}	1,03 ± 0,08 ^{Aae}	1,21 ± 0,11 ^{Bb}	1,18 ± 0,14 ^{Bb}	1,05 ± 0,02 ^{Aab}
AV3	1,01 ± 0,05 ^{Aa}	1,28 ± 0,12 ^{Ccd}	1,04 ± 0,05 ^{Aaf}	1,23 ± 0,16 ^{BCb}	1,17 ± 0,10 ^{Bb}	1,03 ± 0,04 ^{Aab}
AV4	1,00 ± 0,06 ^{Aa}	1,23 ± 0,09 ^{Cbce}	1,05 ± 0,07 ^{Abcdef}	1,22 ± 0,15 ^{Cb}	1,13 ± 0,09 ^{BDb}	1,08 ± 0,06 ^{ADa}
AV5	1,01 ± 0,05 ^{Aa}	1,23 ± 0,08 ^{Cbce}	1,05 ± 0,06 ^{ADbcdef}	1,24 ± 0,16 ^{Cb}	1,15 ± 0,07 ^{Bb}	1,11 ± 0,04 ^{BDa}
AV6	1,00 ± 0,04 ^{Aa}	1,20 ± 0,07 ^{Cbe}	1,05 ± 0,06 ^{ADbcdef}	1,20 ± 0,15 ^{Cb}	1,12 ± 0,06 ^{BDb}	1,10 ± 0,07 ^{BDa}
AV7	1,00 ± 0,04 ^{Aa}	1,21 ± 0,07 ^{BDbde}	1,07 ± 0,03 ^{ACbdef}	1,22 ± 0,11 ^{Db}	1,13 ± 0,06 ^{BCEb}	1,06 ± 0,05 ^{AEab}

Os valores representam média ± desvio padrão. Letras diferentes denotam dados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Nas linhas, as letras maiúsculas são comparação entre os grupos ao longo das avaliações. Nas colunas, as letras minúsculas são comparação dentro do mesmo grupo. Fonte: autora.

Força Muscular

Na avaliação da força muscular, os grupos GAR e GPAR apresentaram diferença do GC em todas as avaliações. No grupo GPIA houve uma alteração no parâmetro de força em algumas avaliações, mas que não foi sustentado. Em todas as avaliações os grupos GP e GPID obtiveram semelhança ao GC.

Em relação as avaliações intragrupo, o grupo GC inicialmente obteve um valor baixo, possivelmente devido a adaptação do animal ao equipamento, mas

no restante das avaliações houve aumento e manutenção de força. O grupo GAR apresentou redução nos parâmetros de força a partir de AV2 que perdurou até AV7 e nos valores das médias nas últimas avaliações, há um aumento nesse parâmetro. Já o grupo GPAR apresentou redução de força a partir de AV3 e que se manteve até AV7. O grupo GPIA apresentou redução desse parâmetro somente em uma avaliação, conforme descrição na Tabela 5.

Tabela 5 – Avaliação da Força Muscular.

Os valores representam média \pm desvio padrão. Letras diferentes denotam dados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Nas linhas, as letras maiúsculas são comparação entre os grupos ao longo das avaliações. Nas colunas, as letras minúsculas são comparação dentro do mesmo grupo. Fonte:

C	GC	GAR	GP	GPAR	GPIA	GPID
B0	68,53 \pm 4,72 ^{Aa}	74,53 \pm 12,80 ^{Aac}	79,70 \pm 11,71 ^{Aa}	80,41 \pm 12,71 ^{Aa}	77,70 \pm 6,23 ^{Aabc}	76,34 \pm 9,86 ^{Aa}
	B1	93,43 \pm 15,79 ^{Ab}	88,71 \pm 16,16 ^{Ac}	84,73 \pm 9,24 ^{Aa}	104,60 \pm 42,77 ^{Ac}	91,09 \pm 10,27 ^{Ab}
AV1		95,93 \pm 18,02 ^{Ab}	68,93 \pm 19,86 ^{BCDac}	83,03 \pm 7,54 ^{ADa}	65,68 \pm 50,94 ^{BDEad}	74,79 \pm 22,16 ^{BDFabc}
	AV2	104,6 \pm 22,99 ^{Ab}	40,07 \pm 23,57 ^{Cbd}	77,91 \pm 22,68 ^{BDA}	69,67 \pm 42,04 ^{BEae}	62,87 \pm 27,77 ^{Bc}
AV3		97,00 \pm 16,86 ^{Ab}	57,29 \pm 28,45 ^{Bade}	80,09 \pm 10,51 ^{ACa}	58,16 \pm 35,13 ^{Bbde}	73,27 \pm 20,88 ^{BCabc}
	AV4	96,11 \pm 12,87 ^{Ab}	46,56 \pm 20,45 ^{Cbef}	74,74 \pm 17,05 ^{BDA}	47,59 \pm 30,94 ^{Cbd}	75,29 \pm 24,57 ^{ADabc}
AV5		95,10 \pm 17,99 ^{Ab}	55,97 \pm 33,06 ^{Badf}	78,23 \pm 10,85 ^{Aa}	57,22 \pm 23,33 ^{Bbde}	78,90 \pm 26,61 ^{Aabc}
	AV6	99,76 \pm 16,44 ^{Ab}	61,57 \pm 28,72 ^{BDaf}	84,48 \pm 9,98 ^{ACa}	43,16 \pm 17,89 ^{Db}	77,67 \pm 24,94 ^{BCEabc}
AV7		95,73 \pm 15,69 ^{Ab}	61,12 \pm 30,36 ^{Baf}	91,41 \pm 4,45 ^{Aa}	53,38 \pm 33,66 ^{Bbde}	88,57 \pm 31,51 ^{Aab}

autora.

Leucograma do Fluido Sinovial

Na migração leucocitária o GC não apresentou aumento no número de leucócitos pela migração leucocitária visto pela diferença estatística em relação a todos os outros grupos ($p < 0,05$), assim como GPID. No entanto, em GP houve um aumento no número de leucócitos em relação ao GC e GPID ($p < 0,05$) e apesar de não apresentar diferença estatística ($p > 0,05$) o número de leucócitos também foi maior em relação ao GPIA. Já no GAR houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no número de leucócitos em relação aos grupos GC, GPIA e GPID, porém não houve diferença entre GAR e GP ($p > 0,05$).

Contudo, o grupo que apresentou maior migração de leucócitos foi o GPAR visto pela diferença estatística significativa em relação aos outros grupos ($p < 0,05$) (Figura 1).

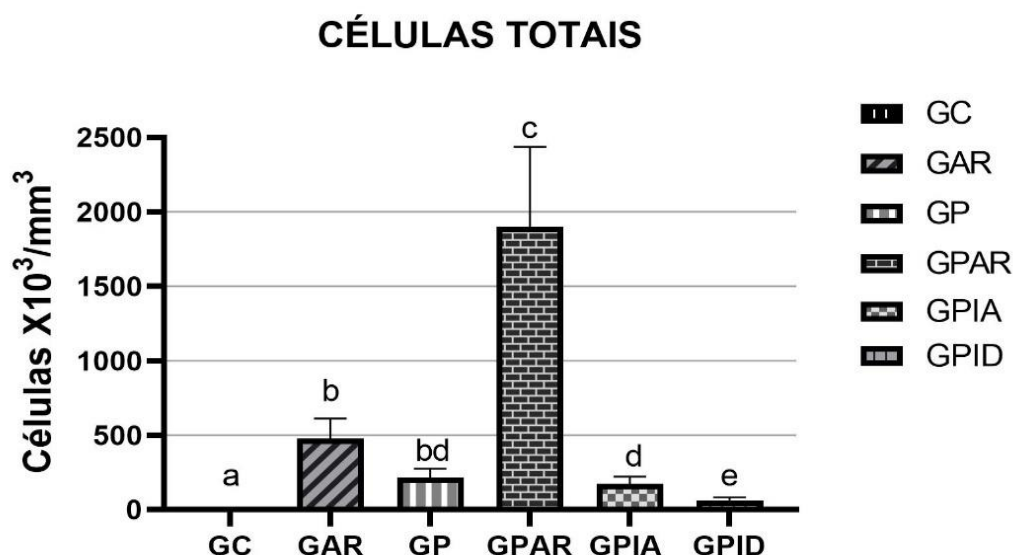


Figura 1: Contagem dos leucócitos totais. GC: Grupo controle; GAR: Grupo Artrite Reumatóide; GP: Grupo Periodontite; GPAR: Grupo periodontite e artrite reumatóide; GPIA: Grupo periodontite e intra-articular; GPID: Grupo periodontite e intradérmica. Letras diferentes denotam dados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Avaliação morfológica da membrana sinovial

Na análise morfológica da MS, o GC (Figura 2, A) apresentou aspectos característicos normais, com a MS disposta em duas camadas de células (sinoviócitos) na íntima sinovial e, na camada subíntima houve predominância de células adiposas, distribuídas de forma organizada, com os vasos sanguíneos

e tecido conjuntivo inalterados. Os animais dos grupos GP (Figura 2, C) e GPID (Figura 2, F) apresentaram características morfológicas semelhantes ao GC.

Entretanto, os grupos GAR e GPIA (Figura 2, B e E) demonstraram presença de infiltrado inflamatório, com o espessamento da íntima sinovial com fibrose e desorganização dos sinoviócitos, além de alteração na disposição adipocitária na camada subíntima, com a perda da conformidade organizacional.

Contudo, o GPAR (Figura 2, D) apresentou intenso processo inflamatório, com a íntima sinovial espessa e desorganizada e subíntima com ausência de adipócitos.

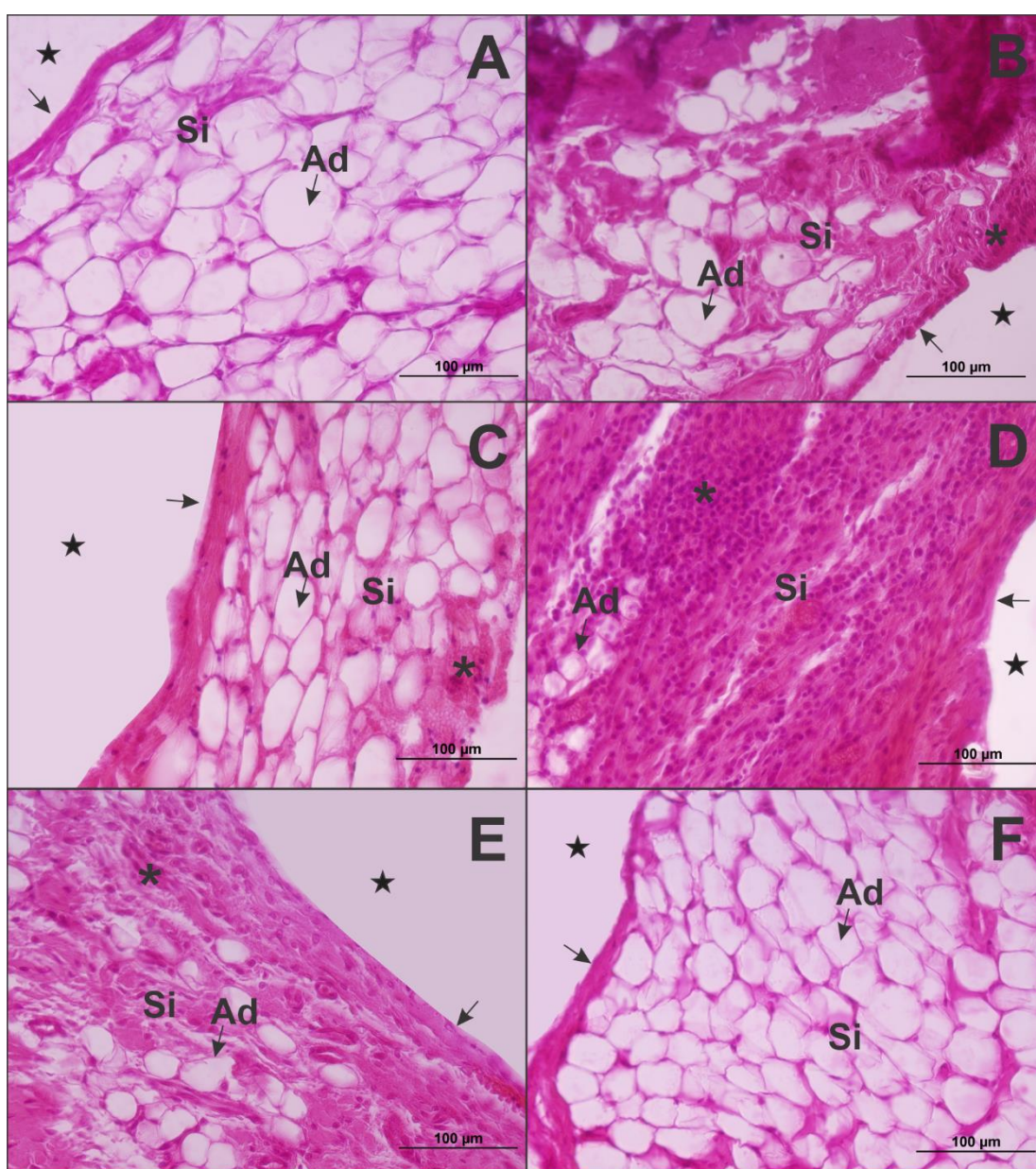


Figura 2 – Fotomicrografias da membrana sinovial da articulação do joelho de ratos *Wistar*, corte sagital, coloração em hematoxilina e eosina. Em A: Grupo Controle (GC), membrana com íntima

sinovial (seta preta) delgada e subíntima (Si) com células adiposas (Ad); Em B: Grupo Artrite Reumatóide (GAR), espessamento da membrana sinovial com fibrose (asterisco) e subíntima (Si) com alteração na característica adipocitária; Em C: Grupo Periodontite (GP) membrana com íntima sinovial (seta preta) delgada e subíntima (Si) com células adiposas (Ad); Em D: Grupo Periodontite e Artrite Reumatóide (GPAR), espessamento da membrana sinovial com fibrose (asterisco) e subíntima (Si) com perda da característica adipocitária (Ad); E: Grupo Periodontite e Intra-articular (GPIA), espessamento da membrana sinovial com fibrose (asterisco) e subíntima (Si) com alteração na característica adipocitária; F: Grupo Periodontite e Intradérmica (GPID), membrana com íntima sinovial (seta preta) delgada e subíntima (Si) com células adiposas (Ad). Cavidade articular (estrela). Aumento 40x.

Fonte: Autora, 2021.

Avaliação Radiográfica e Histometria das Mandíbulas

Em relação a avaliação radiográfica e histometria da medida da junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar das hemimandíbulas, conforme mostra a Tabela 6, observou-se que GAR se assemelhou ao GC ($p > 0,05$), portanto os mesmos não apresentaram perda óssea alveolar, uma vez que não foram submetidos a colocação de ligadura nos molares.

Já o GP, GPIA e GPID obtiveram valores significativamente maiores que o controle ($p < 0,05$) e semelhança entre eles ($p > 0,05$). Logo, a associação da periodontite e injeção intra-articular e periodontite e injeção intradérmica não causaram maiores perdas ósseas alveolares comparados ao grupo que continha somente a periodontite.

Já no GPAR houve diferença em relação a todos os outros grupos ($p < 0,05$), indicando que a periodontite associada à AR causaram a maior perda óssea alveolar nos animais comparado aos outros grupos (Tabela 6, Figuras 3 e 4).

Tabela 6 – Avaliação radiográfica e histométrica das hemimandíbulas

	<i>Análise Radiográfica</i>	<i>Análise Histométrica</i>
GC	57,8 ± 2,3 ^A	222,83 ± 48,76 ^A
GAR	58,3 ± 3,2 ^A	232,49 ± 36,96 ^A
GP	70,4 ± 3,3 ^B	354,59 ± 96,52 ^B
GPAR	77,3 ± 1,7 ^C	513,17 ± 86,35 ^C
GPIA	70,4 ± 5,2 ^B	370,15 ± 33,41 ^B
GPID	70,9 ± 4,8 ^B	372,50 ± 50,73 ^B

Os valores representam média ± desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes denotam dados estatisticamente diferentes entre os grupos ($p < 0,05$). Fonte: autora.

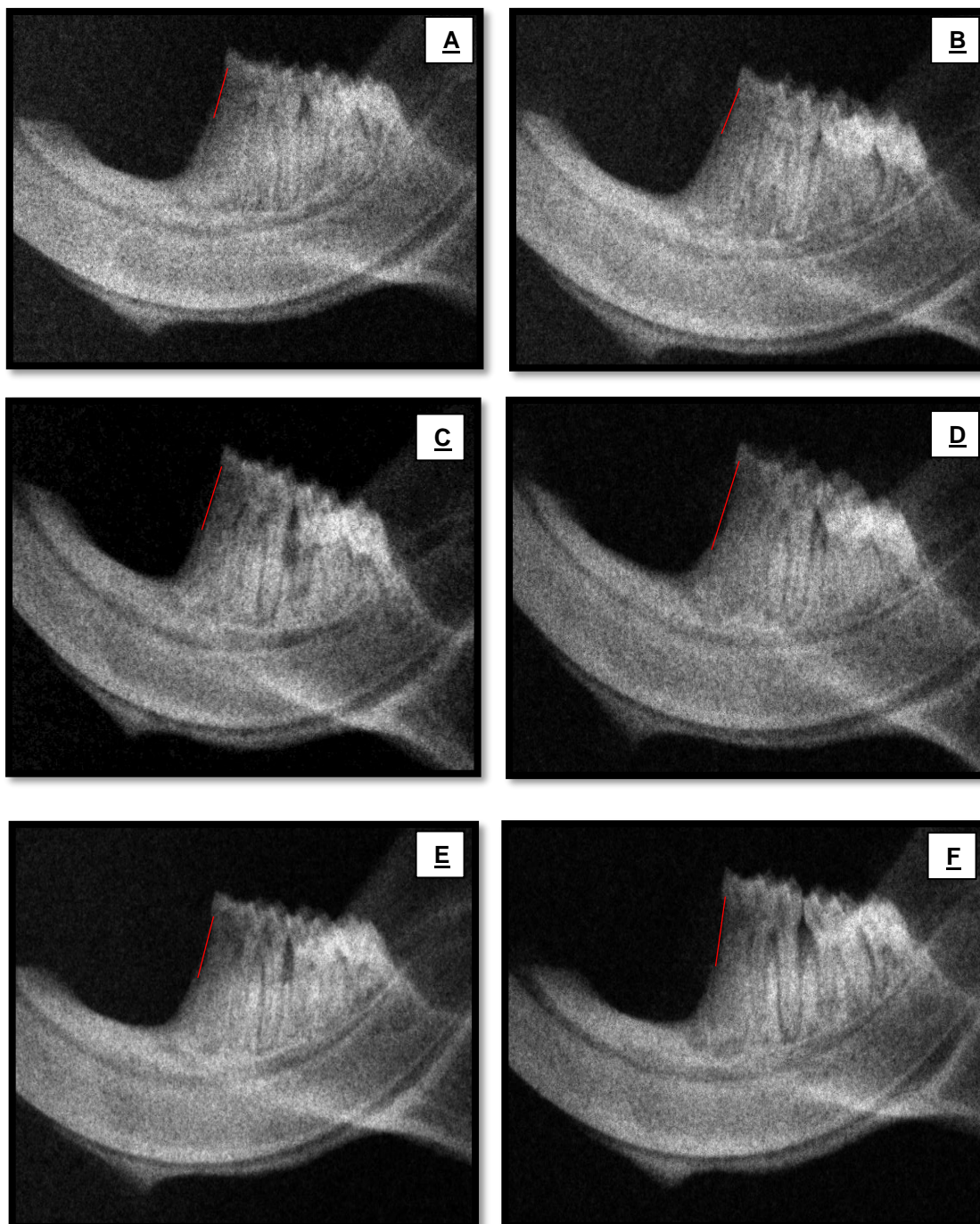


Figura 3 - Hemimandíbulas direita da porção mesial dos animais. A: Grupo Controle (GC); B: Grupo Artrite Reumatóide (GAR); C: Grupo Periodontite (GP); D: Grupo Periodontite e Artrite Reumatóide (GPAR); E: Grupo Periodontite e Intra-articular; F: Grupo Periodontite e Intradérmica (GPID). As linhas vermelhas representam a distância da junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar.

Fonte: Autora, 2020.

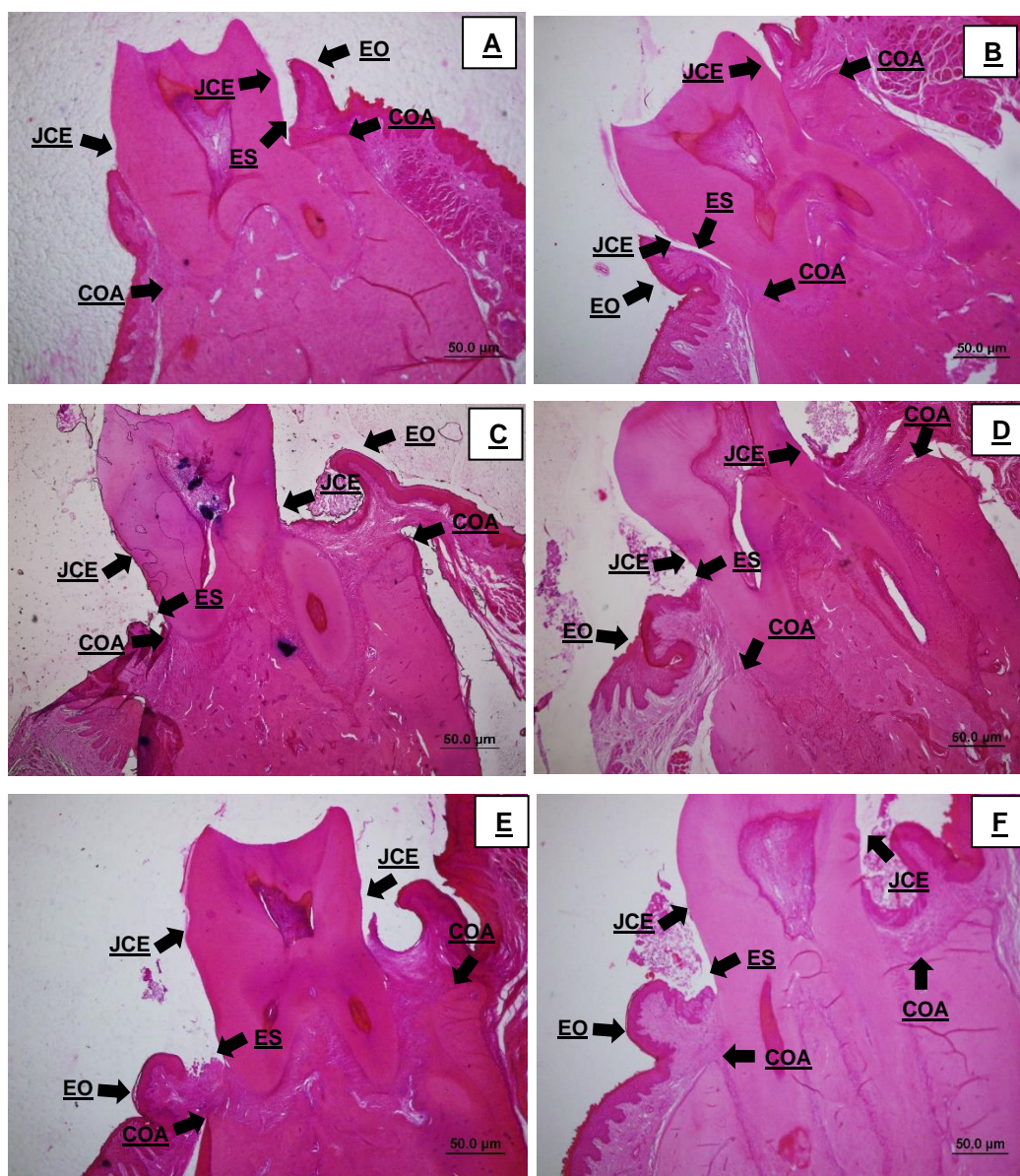


Figura 4– Fotomicrografia das hemimandíbulas do lado esquerdo de ratos *Wistar*; coloração em hematoxilina e eosina. A: Grupo Controle (GC); B: Grupo Artrite Reumatóide (GAR); C: Grupo Periodontite (GP); D: Grupo Periodontite e Artrite Reumatóide (GPAR); E: Grupo Periodontite e Intra-articular; F: Grupo Periodontite e Intradérmica (GPID). COA: Crista óssea alveolar; ES: Epitélio sulcular; EO: Epitélio oral; JCE: Junção cimento-esmalte. Aumento 40x.
Fonte: Autora, 2020.

DISCUSSÃO

Estudos tem sugerido a relação entre essas patologias, sendo que pacientes com artrite têm maior probabilidade de apresentar a periodontite comparado a pessoas saudáveis [35,36]. Além disso, pesquisas sugerem que a periodontite pode dar início e realizar a manutenção de respostas inflamatórias autoimunes que ocorrem na AR [37].

Em uma pesquisa realizada por Cantley et al. [38], onde foi avaliado a exacerbação da AR em ratos com periodontite pré-existente, o peso corporal dos grupos com periodontite, artrite, e com periodontite e artrite foi monitorado e não houve diferença significativa entre eles, os achados do presente estudo condizem com esses resultados. Além disso, houve semelhança dos pesos do grupo com periodontite e do grupo controle e esse achado corroborou com um estudo realizado por Coltri et al. [39], onde foi avaliado a influência da obesidade sobre o tecido gengival de ratos com a periodontite experimental e, em relação ao peso corporal, os grupos controle e ligadura não tiveram diferenças estatísticas significativas.

O aumento de massa corporal nos grupos foi concordante com uma pesquisa realizada por Leite et al. [40] onde foi avaliado a periodontite experimental como potencializadora dos efeitos do imobilismo no músculo estriado esquelético e, dentre os grupos, o controle e o periodontite obtiveram um aumento significativo do peso do início para o final do experimento.

No TEP a associação das patologias não causou alterações mais significativas do que o grupo que continha somente a AR, porém a periodontite associada a injeção intra-articular comprometeu a capacidade motora. Além disso, os valores mais alterados foram observados no primeiro e terceiro dia após a injeção. Esse achado foi condizente com uma pesquisa realizada por Gomes et al. [27], onde os animais que receberam inicialmente somente a injeção intra-articular apresentaram um aumento no TEP nos primeiros dias sendo que o pico da curva foi no segundo dia.

Em uma pesquisa realizada por Alves et al. [41] a qual avaliou o efeito da laserterapia de baixa intensidade na nocicepção, expressão de mediadores inflamatórios, neutrófilos e macrófagos na fase aguda de artrite reumatoide experimental em ratos, no período experimental de 24 horas foi observado uma diferença estatística significativa entre o grupo controle e o grupo AR no limiar

nociceptivo. No presente estudo o mesmo ocorreu para os grupos periodontite e AR e também no grupo que continha somente a AR.

Nos grupos com periodontite associada a AR e somente com AR houve alteração no diâmetro articular e na maioria das avaliações esses grupos se mantiveram semelhantes. Isso justifica a gravidade da AR, a qual leva a danos irreversíveis nas estruturas cartilagueas e ósseas, além de haver perda da funcionalidade, dor e incapacidade progressiva (rigidez, inchaço, deformidades) [42]. Por outro lado, nos grupos que continham a associação das patologias e periodontite mais injeção intra-articular, essa alteração perdurou por todas as avaliações, o mesmo não ocorreu com o grupo que continha somente a AR. Isso pode indicar que a associação da periodontite com AR e periodontite com a injeção intra-articular favoreceram a manutenção do edema no joelho.

Na pesquisa de Gomes et al. [27], os animais que haviam recebido somente a injeção intra-articular apresentaram aumento do edema e posterior diminuição. No presente estudo, o grupo com periodontite e injeção intra-articular não apresentou redução do edema, mas sim manutenção desse parâmetro de forma alterada. À vista disso, os mecanismos imune-inflamatórios análogos de desregulação inflamatória ocasionam uma susceptibilidade dos pacientes com AR e periodontite a desenvolverem formas agressivas, avançadas e graves de ambas as patologias [43].

A AR e a periodontite associada a AR causaram alteração no parâmetro de força muscular. Porém, nas últimas avaliações no grupo GAR, houve um aumento desse parâmetro visto pelos valores das médias, indicando uma possível recuperação de força muscular. O mesmo não ocorreu para o grupo GPAR, o qual apresentou redução de força que se manteve durante as avaliações, indicando que a associação das patologias ocasionou a manutenção da fraqueza muscular. Uma das queixas comuns na AR é a fraqueza muscular, visto que esta ocasiona uma alteração na habilidade do paciente em contrair os músculos [44].

No estudo de Gomes et al. [27] a via preferencial de imunização foi na base da cauda, e essa não causou sinais de dor e edema significativos, condizente com os achados deste estudo, onde os grupos que continham somente periodontite e periodontite mais intradérmica, mantiveram semelhança com o grupo controle.

Foi observado que a associação das patologias em relação ao TEP e limiar nociceptivo foram semelhantes ao grupo que continha somente a AR, mas nas avaliações de edema e força a associação das patologias ocasionaram uma manutenção da alteração desses parâmetros até a última avaliação.

Além disso, o grupo GPIA demonstrou diferença do GC nas avaliações funcionais de TEP, limiar nociceptivo e edema, ou seja, a indução da periodontite e da AR somente com a injeção intra-articular causaram alteração nessas avaliações funcionais, indicando que para esse modelo experimental, somente a ligadura e a injeção intra-articular, sem a injeção intradérmica foram suficientes para causarem comprometimento articular, porém, é necessário a realização de mais estudos que corroborem com esses achados.

Pacientes com periodontite tendem a apresentar maiores escores de atividade de artrite em comparação aos pacientes sem periodontite, além de haver uma relação proporcional entre a gravidade da periodontite e atividade da AR [43]. Sendo assim, é plausível que a maior migração leucocitária com aumento estatístico significativo, representada pela contagem total no número de células, tenha sido no grupo com as patologias associadas.

A AR acomete, ainda, estruturas articulares, periarticulares e tendões, sendo que a mais afetada é a membrana sinovial [16]. A sinovite acomete a membrana sinovial, a qual é sítio de inflamação primária, e com isso a hiperplasia celular e processo inflamatório estão presentes [16]. Isto ocorreu nos animais do grupo AR, os quais apresentaram infiltrado inflamatório, espessamento da íntima sinovial e alterações nas características adipocitária na membrana sinovial. No entanto, essas alterações foram mais acentuadas no grupo que continha ambas as patologias. A presença da periodontite em pacientes com AR foi associada a um aumento do dano articular, visto por meio de escores radiográficos mais altos [25].

Nas análises radiográficas e histométricas por meio da avaliação da distância da junção cimento-esmalte à crista óssea alveolar para avaliação da reabsorção óssea alveolar, o grupo que obteve maior comprometimento, foi o grupo que continha ambas as patologias. Semelhantemente, um estudo realizado para caracterização da doença periodontal associada à AR experimental em camundongos, foi identificado uma maior perda óssea alveolar significativa no grupo que continha a associação das patologias [45]. Ambas as

patologias apresentam mecanismos destrutivos semelhantes, pois as citocinas pró-inflamatórias e células inflamatórias impulsionam a destruição crônica da gengiva na periodontite e erosão óssea na AR. Achados recentes condizem com a ideia de que a periodontite pode ser um fator de início e manutenção das respostas inflamatórias autoimunes que acontecem na AR [37].

O perfil de citocinas é comum entre elas, as pró-inflamatórias como IL-1 β e TNF- α se apresentam em níveis elevados e a IL-10, que suprime a resposta imuno-inflamatória, em níveis baixos. Essas citocinas e níveis baixos de inibidores de metaloproteinases e níveis elevados de metaloproteinases, se associam na periodontite ativa [13]. Elas também partilham de mecanismos moleculares comuns, nos quais níveis baixos de OPG, faz com que ocorra uma redução na proteção vascular e níveis altos do ligante do receptor ativador do RANKL e ligante indutor de apoptose relacionado com o TNF (TRAIL). Com a associação do tecido inflamado, ocorre dano vascular e ativação de osteoclastos, contribuindo para a reabsorção óssea [46].

A hipótese inicial do estudo, a qual foi verificar se a periodontite potencializa os efeitos deletérios da AR, tais como dor, força muscular e edema, além do comprometimento morfológico da membrana sinovial e dos tecidos periodontais pode ser confirmada, uma vez que houve alterações nas avaliações funcionais. Apesar da associação das patologias não ter acentuado essa alteração, ela se manteve constante em edema e força. Na migração leucocitária, comprometimento da membrana sinovial e reabsorção óssea alveolar, houve alterações significativas indicando atividade sistêmica da periodontite e seu curso associado a AR a nível tecidual mais agravado.

Sugere-se que mais pesquisas sejam realizadas sobre a periodontite como potencializadora dos efeitos da AR, pois traçar estratégias de prevenção para ambas as doenças, bem como tratamentos mais eficazes e específicos que englobem os pacientes como um todo são de grande importância para a saúde do paciente. Além disso, é necessário a realização de estudos que investiguem os efeitos funcionais e teciduais da periodontite associada a injeção intra-articular como modelo experimental.

CONCLUSÃO

Baseado nos achados dessa pesquisa, podemos concluir que a periodontite é um fator de risco potencializador dos efeitos da artrite reumatóide.

REFERÊNCIAS

1. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89:173-182.
2. Garlet GP, Cardoso CR, Silva TA, et al. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. *Oral Microbiol. Immunol.* 2006;21:12–20.
3. Bastos AD, Falcão CB, Pereira ALA, et al. [Obesity and periodontal disease]. *Braz. Res. in Pediatric Dentistry and Integrated Clinical.* 2005;5:275-279. Brazilian.
4. Garlet GP, Aranha AMF, Silveira EM, et al. The Role of Chemokines and Cytokines in the Pathogenesis of Periodontal and Periapical Lesions: Current Concepts. *Inflammation, Chronic Dis. Cancer - Cell Mol. Biol. Immunol. Clin. Bases.* 2012;219-264.
5. Lins RDAU, Pequeno MT, Melo JPLC, et al. [Bone Resorption in Periodontal Disease: the Role of Cytokines and Prostaglandins]. *J Oral and Maxillofaci. Surgery and Traumatology.* 2007;7:29–35. Brazilian.
6. Schenkein HA, Loos BG. Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J. Periodontol.* 2013;84:51–69.
7. Rodrigues AZ, Kawata VKS, Novaes AB Jr, et al. [Therapeutic strategies and potential targets for host response modulation of periodontal patients]. *Periodon. Magaz.* 2009;19:14–21. Brazilian.
8. Sakalauskiene J, Giedrimiene D, Kubilius R, et al. Cytokine production by leukocytes in patients with periodontitis. *Cent. Eur. J. Med.* 2014;9:621–628.
9. Leishman SJ, Seymour GJ, Ford PJ. Local and systemic inflammatory responses to experimentally induced gingivitis. *Dis. Markers.* 2013;35:543–549.
10. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol.* 2000. 1997;14:12–32.
11. Silvestre FJ, Rangil JS, Bagan L. Effect of nonsurgical periodontal treatment in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: A systematic review. *Med. Oral Patol. Oral Cir Bucal.* 2016;21:349–354.
12. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, et al. Hypothesis. The humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation.* 2004;28:311–318.

13. Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR. Periodontitis and Rheumatoid arthritis – A Review. *J Periodontol.* 2005;10:102–105.
14. Catrina AI, Svensson CI, Malmström V, et al. Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2016;13:79–86.
15. Straub RH, Bijlsma JWJ, Masi A, et al. Role of neuroendocrine and neuroimmune mechanisms in chronic inflammatory rheumatic diseases- The 10-year update. *Semin. Arthritis Rheum.* 2013;43:392–404.
16. Macedo RBV, Kakehasi AM, de Andrade MVM. IL33 in rheumatoid arthritis: Potencial contribution to pathogenesis. *Rev. Bras. Reumatol.* 2016;56:451–457.
17. Abrão ALP, Santana CM, Bezerra ACB, et al. What rheumatologists should know about orofacial manifestations of autoimmune rheumatic diseases. *Rev. Bras. Reumatol.* 2016;56:441–45.
18. Goeldner I, Skare TL, Reason IT de M, et al. [Rheumatoid Arthritis: a current view]. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 2011;47:495-503. Brazilian.
19. Zou SR. Five Balances in the Management of Rheumatoid Arthritis. *J. Biosci. Med.* 2017;05:10–21.
20. Detert J, Pischon N, Burmester GR, et al. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2010;29:189–201.
21. 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;42:3–12.
22. Monsarrat P, Vergnes JN, Cantagrel A, et al. Effect of periodontal treatment on the clinical parameters of patients with rheumatoid arthritis: Study protocol of the randomized, controlled ESPERA trial. *Trials.* 2013;14:1–9.
23. Choi IA, Kim JH, Kim YM, et al. Periodontitis is associated with rheumatoid arthritis: A study with longstanding rheumatoid arthritis patients in Korea. *Korean J. Intern. Med.* 2016;31:977–986.
24. Kobayashi T, Yoshie H. Host Responses in the Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis. *Curr. Oral Heal. Reports.* 2015;2:1–8.
25. Mikuls TR, Payne JB, Yu F, et al. Periodontitis and porphyromonas gingivalis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66:1090–1100.
26. Nassar PO, Nassar CA, Guimarães MR, et al. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. *J. Periodontal Res.*

- 2009;44:479–488.
27. Gomes RP, Bressan E, da Silva TM, et al. Standardization of an experimental model suitable for studies on the effect of exercise on arthritis. *Einstein*. 2013;11:76–82.
 28. Tonussi CR, Ferreira SH. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. *Pain*. 1992;48:421–427.
 29. Tonussi CR, Ferreira SH. Tumour necrosis factor- α mediates carrageenin-induced knee-joint incapacitation and also triggers overt nociception in previously inflamed rat knee-joints. *Pain*. 1999;82:81–87.
 30. Neugebauer V, Han JS, Adwanikar H, et al. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Mol. Pain*. 2007;3:1–13.
 31. Gould D, Yousaf N, Fatah R, et al. Gene therapy with an improved doxycycline-regulated plasmid encoding a tumour necrosis factor-alpha inhibitor in experimental arthritis. *Arthritis Res. Ther*. 2007;9:1–12.
 32. Hsieh YL. Effects of ultrasound and diclofenac phonophoresis on inflammatory pain relief: Suppression of inducible nitric oxide synthase in arthritic rats. *Phys. Ther*. 2006;86:39–49.
 33. Bertelli JA, Mira JC. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. *J. Neurosci. Methods*. 1995;58:151–155.
 34. Mattia TM, de Leite MA, Nassar PO, et al. The Influence of Obesity Induced by Monosodium Glutamate in Periodontal Tissues of Female Wister Rats with Experimental Periodontitis. 2017;7:28–40.
 35. Pischon N, Röhner E, Hocke A, et al. Effects of *Porphyromonas gingivalis* on cell cycle progression and apoptosis of primary human chondrocytes. *Ann. Rheum. Dis*. 2009;68:1902–1907.
 36. de Pablo P, Chapple ILC, Buckley CD, et al. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol*. 2009;5:218–224.
 37. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, et al. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat. Rev. Rheumatol*. 2010;6:727–730.
 38. Cantley MD, Haynes DR, Marino V, et al. Pre-existing periodontitis exacerbates experimental arthritis in a mouse model. *J. Clin. Periodontol*. 2011;38:532–541.
 39. Coltri BM, da Costa KF, Pontillo V, et al. [Morphometric evaluation of the influence of obesity on gingival tissue in rats with experimental periodontitis]. *Rev. Bras. Ciênc. Saúde*. 2017;21:127–132. Brazilian.
 40. Leite MA, de Mattia TM, Kakiyama CMM, et al. Experimental Periodontitis

- in the Potentialization of the Effects of Immobilism in the Skeletal Striated Muscle. *Inflammation*. 2017;40:2000–2011.
41. Alves ACA. [Analysis of the effect of low intensity laser therapy on nociception, expression of inflammatory mediators, neutrophils and macrophages in the acute phase of experimental rheumatoid arthritis in rats] [dissertation]. São Paulo (SP): Nine of July University; 2016. Brazilian.
 42. de Molon RS, Rossa Jr C, Thurlings RM, et al. Linkage of periodontitis and rheumatoid arthritis: Current evidence and potential biological interactions. 2019;20:4541.
 43. Wen S, Beltrán V, Chaparro A, et al. [¿La periodontitis crónica modifica la morbilidad de la artritis reumatoide?: Aspectos clínicos y moleculares. Una revisión sistemática]. *Rev. Med. Chil*. 2019;147:762–775. Spanish.
 44. Khurana R, Berney SM. Clinical aspects of rheumatoid arthritis. *Pathophysiology*. 2005;12:153–165.
 45. Queiroz-Junior CM, Madeira MFM, Coelho FM, et al. Experimental arthritis exacerbates *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*- induced periodontitis in mice. *J. Clin. Periodontol*. 2012;39:608–616.
 46. Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: A systematic review. *J. Dent. Res*. 2013;92:399–408.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O modelo experimental utilizado na pesquisa com a indução da periodontite por meio da ligadura e associação da AR por meio do CFA foram eficazes em induzir as doenças de forma sistêmica e então de potencializar os efeitos deletérios da AR sobre as variáveis analisadas, como manutenção das alterações em edema e força sem indícios de melhora como no grupo que continha somente AR, também no comprometimento de forma significativa nos tecidos sinoviais e periodontais.

Além disso, no grupo submetido a ligadura e injeção intra-articular observou-se que em quase todas as variáveis houve as mesmas repercussões do que o grupo com periodontite e duas inoculações de CFA, indicando a não necessidade de duas inoculações na presença da periodontite.

9. AGRADECIMENTOS

A CAPES e ao CNPq pelo financiamento em pesquisa.

10. REFERÊNCIAS GERAIS

- ABELL, J. E.; HOOTMANN, J. M.; ZACK, M. M.; MORIARTY, D.; HELMICK, C. G. Physical activity and health related quality of life among people with arthritis. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 59, n. 5, p. 380-385, 2005.
- ABRÃO, A. L. P.; SANTANA, C. M.; BEZERRA, A. C. B.; AMORIM, R. F. B.; SILVA, M.B.; MOTA, L. M. H.; FALCÃO, D. P. O que os reumatologistas devem saber sobre as manifestações orofaciais das doenças reumáticas autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, n. 5, p. 441-450, 2016.
- ALBUQUERQUE, C. M. R. Doença Periodontal: Suscetibilidade genética e implicações sistêmicas. **Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina**. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto. Portugal, 2014.
- ALETAHA, D., et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. **Arthritis & Rheumatism**, v. 69, n. 9, p. 1580-1588, 2010.
- ANDREOLI, T.E.; BENNETT, J.C.; CARPENTER, C. C. J.; PLUM, F. **Medicina Interna Básica**. Editora: Guanabara, p. 568-570, 1998.
- ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Annals of periodontology**, v. 4, n. 1, p. 1-6, 1999.
- ARNETT, F.C.; EDWORTHY, S.M.; BLOCH, D.A.; McSHANE, D.J.; FRIES, J.F.; COOPER, N.S.; HEALEY, L. A.; KAPLAN, S. R.; LIANG, M. H.; LUTHRA, H. S. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 31, n. 3, p. 315-324, 1988.
- ARVIKAR, S.; COLLIER, D. S.; FISHER, M. C.; UNIZONY, S., et al. Clinical correlations with *Porphyromonas gingivalis* antibody response in patients with early rheumatoid arthritis. **Arthritis research & therapy**, v. 15, n. 5, p. R109, 2013.
- BALEJO, R. D. P.; PORTO, S.; CORTELLI, S. C. Bacteremia em pacientes periodontais: revisão de literatura. **Braz J Periodontol-December**, v. 24, n. 04, 2014.
- BARTOK, B.; FIRESTEIN, G.S. Fibroblast-like synoviocytes: keyeffector cells in rheumatoid arthritis. **Immunological Reviews**, v. 233, n. 1, p. :233-255, 2010.
- BARTOLD, P. M.; MARINO, V.; CANTLEY, M.; HAYNES, D. R. Effect of *Porphyromonas gingivalis*-induced inflammation on the development of rheumatoid arthritis. **Journal of clinical periodontology**, v. 37, n. 5, p. 405-411, 2010.
- BARTOLD, P. M.; MARSHALL, R. I.; HAYNES, D. R. Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. **Journal of periodontology**, v. 76, p. 2066-2074, 2005.

BARTON, N. J.; STEVENS, D. A.; HUGHES, J. P.; ROSSI, A. G.; CHESSELL, I. P.; REEVE, A. J.; McQUEEN, D. S. Demonstration of a novel technique to quantitatively assess inflammatory mediators and cells in rat knee joints. **Journal of Inflammation**, v. 4, n. 1, p. 13, 2007.

BASTOS, A. A.; FALCÃO, C. B.; PEREIRA, A. L. A.; PEREIRA, A. F. V.; ALVERS, C. M. C. Obesidade e doença periodontal. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 5, n. 3, 2005.

BAUMAN, N. Update on "Two-Hit" model of RA, from two perspectives. **Rheumatology Network**, 2015.

BELIBASAKIS, G. N.; BOSTANCI, N. The RANKL-OPG system in clinical periodontology. **Journal of clinical periodontology**, v. 39, n. 3, p. 239-248, 2012.

BERTELLI, J. A.; MIRA, J. C. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 58, n. 1-2, p. 151-155, 1995.

BERTHELOT, J. M.; LE GOFF, B. Rheumatoid arthritis and periodontal disease. **Joint Bone Spine**, v. 77, n. 6, p. 537-541, 2010.

BERTOLO, M. B., et al. Atualização do consenso brasileiro no diagnóstico e tratamento da artrite reumatóide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 47, n. 3, p. 151-159, 2007.

BERTOLO, M.B.; BRENOL, C.V.; SCHAINBERG, C.G., et al. Atualização do Consenso Brasileiro no Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatóide. **Temas de Reumatologia Clínica**, v.10, n. 1, 2009.

BILLIAU, A.; MATTHYS, P. Models of action of Freund's Adjuvant in experimental models of autoimmune disease. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 70, n. 6, p. 849-860, 2001.

BONFIL, J. J.; DILLIER, F. L.; MERCIER, P.; REVIRON, D.; FOTI, B.; SAMBUC, R.; BRODEUR, J. M.; SEDARAT, C. A "case control" study on the role of HLA DR4 in severe periodontitis and rapidly progressive periodontitis. Identification of types and subtypes using molecular biology (PCR.SSO). **Journal of Clinical Periodontology**, v. 26, n. 2, p. 77-84, 1999.

BORGNAKKE, W. S.; YLOSTALO, P. V.; TAYLOR, G. W.; GENCO, R. J. Effect of periodontal disease on diabetes: systematic review of epidemiologic observational evidence. **Journal of Periodontology**, v. 84, p. s135-s152, 2013.

BRENNAN, F. M.; McINNIS, I. B. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 11, p. 3537-3545, 2008.

BRENOL, C. V.; MONTICIELO, O. A.; XAVIER, R. M.; BRENOL, J. C. T. Artrite reumatóide e aterosclerose. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 53, n. 5, p. 465-470, 2007.

- BRESSAN, E. Envolvimento de citocinas pró e antiinflamatórias na incapacitação e edema articular e na migração celular no modelo de artrite induzida por LPS em ratos. **Dissertação de Mestrado em Farmacologia**. Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Florianópolis, 2005.
- BRITO, L. C. W., et al. Experimental periodontitis promotes transient vascular inflammation and endothelial dysfunction. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 9, p. 1187-1198, 2013.
- CAI, X.; WONG, Y.F.; ZHOU, H.; LIU, Z.Q.; XIE, Y.; JIANG, Z.H.; BIAN, Z. X.; XU, H. X.; LIU, L. Manipulation of the induction of adjuvante arthritis in Sprague-Dawley rats. **Inflammation Research**, v. 55, n. 9, p. 368-377, 2006.
- CARRANZA, F. A. **Periodontia Clínica de Glickman**. 5ª edição. Rio de Janeiro: Interamericana, p. 968, 1983.
- CATON, J. G.; ARMITAGE, G.; BERGLUNDH, T.; CHAPPLE, I. L. C.; JEPSEN, S.; KORNMANN, S. K.; MEALEY, L. B.; PAPAPANOU, P. N.; SANZ, M.; S TONETTI, S. M. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. **J clin periodontol**, Copenhagen, v. 45, n. 20, p. 1–8, 2018.
- CATRINA, A.I., et al. Mechanisms Leading from Systemic Autoimmunity to Joint-Specific Disease in Rheumatoid Arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 13, n. 2, p. 79-86, 2017.
- CHANG, Y.C.; YANG, S. F.; LAI, C. C.; LIU, J. Y.; HSIEH, Y. S. Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. **Journal of Periodontal Research**, v.37, n.3, p.196- 203, 2002.
- CHAPPLE, I. L. C.; MEALEY, B. L.; VAN DYKE, T. E. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on a intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J clin periodontol**, Copenhagen, v. 45, n. 20, p. 68-77, 2018.
- CHAPPLE, I. L. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 24, n. 5, p. 287-296, 1997.
- CHEHATA, J.C.; HASSELL, A.B.; CLARKE, S.A.; MATTEY, D.L.; JONES, M.A.; JONES, P.W.; DAWES, P.T. Mortality in rheumatoid arthritis: relationship to single and composite measures of disease activity. **Rheumatology**, v. 40, n. 4, p. 447–452, 2001.
- CHOI, I. A.; KIM, J. H.; KIM, Y. M.; LEE, J. Y.; KIM, K. H.; LEE, E. Y.; LEE, E. B.; LEE, Y. M.; SONG, Y. M. Periodontitis is associated with rheumatoid arthritis: a study with longstanding rheumatoid arthritis patients in Korea. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 31, n. 5, p. 977, 2016.

CHUKKAPALLI, S.; KWEH, M. R.; GEHLOT, P.; VELSKO, I., et al. Periodontal bacterial colonization in synovial tissues exacerbates collagen-induced arthritis in B10.RIII mice. **Arthritis research & therapy**, v. 18, n. 1, p. 161, 2016.

COOK, C. D.; MOORE, K. I. Effects of sex, hindpaw injection site and stimulus modality on nociceptive sensitivity in arthritis rats. **Physiology & Behavior**, v. 87, n. 3, p. 552-562, 2006.

CRAIG, R. G.; PERNAT, A. M.; FILHO, R. P.; LEVIN, N. W.; KOTANKO, P. Periodontal diseases and systemic inflammation. In: **Seminars in dialysis**, p. 23-28, 2013.

CROWSON, C. S.; MATTESON, E. L.; MYASOEDOVA, E.; MICHET, C. J.; ERNSTE, F. C.; WARRINGTON, K. J.; DAVIS, J. M.; HUNDER, G. G.; THERNEAU, T. M.; GABRIEL, S. E. The lifetime risk of adult-onset rheumatoid arthritis and other inflammatory autoimmune rheumatic diseases. **Arthritis & Rheumatism**, v. 63, n. 3, p. 633–639, 2011.

da COSTA, T. A.; SILVA, M. J. B.; ALVES, P. M.; CHICA, J. E. L.; BARCELOS, E. Z.; GIANI, M. A. A.; GARLET, G. P.; DA SILVA, J. S.; RODRIGUES JÚNIOR, V.; RODRIGUES, D. B. R.; CARDOSO, C. R. B. Inflammation Biomarkers of Advanced Disease in Nongingival Tissues of Chronic Periodontitis Patients. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

DARVEAU, R. P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 7, p. 481, 2010.

DARVEAU, R. P.; TANNER, A.; PAGE, R. C. The microbial challenge in periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 14, n. 1, p. 12-32, 1997.

DAVIS, J. M.; MATTESON, E. L. My treatment approach to rheumatoid arthritis. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 87, n. 7, p. 659–673, 2012.

de AZEVEDO, A. B.; FERRAZ, M.B.; CICONELLI, R.M. Indirect costs of rheumatoid arthritis in Brazil. **Value Health**, v. 11, n. 5, p. 869-77, 2008.

de PABLO, P.; CHAPPLE, I. L.; BUCKLEY, C. D.; DIETRICH, T. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 5, n. 4, p. 218-224, 2009.

de PABLO, P.; DIETRICH, T.; McALINDON, T. E. Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. **The Journal of Rheumatology**, v. 35, n. 1, p. 70–76, 2008.

DEMMER, R. T.; MOLITOR, J. A.; JACOBS, JR, D. R.; MICHALOWICZ, B. S. Periodontal disease, tooth loss and incident rheumatoid arthritis: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiological follow-up study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. 11, p. 998–1006, 2011.

DETERT, J., et al. **The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease**. *Arthritis Research & Therapy*, v. 12, n. 5, p. 218-225, 2010.

EBERSOLE, J. L.; KIRAKODU, S.; NOVAK, M. J.; STROMBERG, A. J.; SHEN, S.; ORRACA, L.; GONZALEZ-MARTINEZ, J.; BURGOS, A.; GONZALEZ, O. A. Cytokine gene expression profiles during initiation, progression and resolution of periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 41, n. 9, p. 853-861, 2014.

ENTEZAMI, P.; FOX, D. A.; CLAPHAM, P. J.; CHUNG, K. C. Historical perspective on the Etiology of Rheumatoid Arthritis. **Hand Clinics**, v. 27, n. 1, p. 1-10, 2011.

FARIA, T.J.; SOUZA-SILVA, E.; OLIVEIRA, D.T.; SENNA, E.L.; TONUSSI, C.R. Evaluation of the pro-inflammatory potential of nanostructured drug carriers in knee- joints of rats: effect on nociception, edema, and cell migration. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 12, p. 4844-4851, 2009.

FAUCI, A. S., et al. **Harrison's Rheumatology**, 3ª edição, McGraw Hill Education, 2013.

FIEHN, N. E.; KLAUSEN, B.; EVANS, R. T. Periodontal bone loss in Porphyromonas gingivalis-infected specific pathogen-free rats after preinoculation with endogenous Streptococcus sanguis. **J Periodontal Res**, v.27, n. 6, p. 609-614, 1992.

FIRATLI, E.; KANTARCI, A.; CEBECI, I.; TANYERI, H.; SONMEZ, G.; CARIN, M.; TUNCER, O. Association between HLA antigens and early onset periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 23, n. 6, p. 563–566, 1996.

FIRESTEIN, G.S. Evolving Concepts of rheumatoid arthritis. **Nature**, v. 15, n.423, p. 356-361, 2003.

FOUREAUX, R. C., et al. Comparação de métodos para mensuração da perda óssea alveolar periodontal em ratos submetidos a estresse. **Arquivos em Odontologia**, v. 50, n. 4, p. 185-192, 2014.

FRENKEL, J. K. Pathology society symposium on choice of animal models for the study of disease processes in man. **Introduction. Fed Proc**, v. 28, p. 160-215, 1969.

FUGGLE, N. R.; SMITH, T. O.; KAUL, A.; SOFAT, N. Hand to Mouth: A Systematic Review and Meta-Analysis of the Association between Rheumatoid Arthritis and Periodontitis. **Frontiers in immunology**, v. 7, p. 80, 2016.

GABARRINI, G.; SMIT, M.; WESTRA, J.; BROUWER, E. et al. The peptidylarginine deiminase gene is a conserved feature of Porphyromonas gingivalis. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-8, 2015.

GARLET, G. P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a reappraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 12, p. 1349-1363, 2010.

GARLET, G. P., et al. Cytokine pattern determines the progression of experimental periodontal disease induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through the modulation of MMPs, RANKL, and their physiological inhibitors. **Oral microbiology and immunology**, v. 21, n. 1, p. 12-20, 2006.

GARLET, G. P.; ARANHA, A. M. F.; SILVEIRA, E. M.; VIEIRA, A. E.; JÚNIOR, C. M. Q.; MADEIRA, M. F. M.; FUKADA, S. Y.; SILVA, T. A. The role of chemokines and cytokines in the pathogenesis of periodontal and periapical lesions: current concepts. **Inflammation, Chronic Diseases and Cancer-Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases**. IntechOpen, 2012.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4 edição. São Paulo: Atlas, p. 175, 2007.

GOELDNER, I.; SKARE, T. L.; REASON, I. T. M.; UTIYAMA, S. R. R. Artrite Reumatoide: uma visão atual. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n.5, Rio de Janeiro, 2011.

GOLUB, L. M.; PAYNE, J. B.; REINHARDT, R. A. Can systemic diseases co-induce (not just exacerbate) periodontitis? A hypothetical "two-hit" model. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 2, p. 102-105, 2006.

GOMES, R. P.; BRESSAN, E.; SILVA, T. M.; DOMENECH, S. C.; TONUSSI, C. R. Evidências de que um protocolo de atividade física pode reduzir a contagem de leucócitos sinoviais de ratos artríticos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 19, n. 1, p. 70-73, 2013.

GOMES, R. P.; BRESSAN, E.; SILVA, T. M.; GEVAERD, M. S.; TONUSSI, C. R.; DOMENECH, S. C. Efeitos de um minuto e dez minutos de deambulação em ratos com artrite induzida por adjuvante completo de Freund sobre os sintomas de dor e edema. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 54, n. 2, p. 83-89, 2014.

GOMES, R.P. Atividade Física no Tratamento de Artrite Induzida por Adjuvante de Freund: Efeitos na Nocicepção, Edema e Migração Celular. **Dissertação de Mestrado**. Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC, 2008.

GOULD, D. et al. Gene Therapy with an improved doxycycline-regulated plasmid encoding a tumour necrosis factor-alpha inhibitor in experimental arthritis. **Arthritis research & Therapy**, v. 9, n. 1, p. R7, 2007.

GUO, Q.; WANG, Y.; XU, D.; NOSSENT, J.; PAVLOS, N. J.; XU, J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. **Bone research**, v. 6, n. 1, p. 15, 2018.

HAN, J. Y.; REYNOLDS, M. A. Effect of anti-rheumatic agents on periodontal parameters and biomarkers of inflammation: a systematic review and meta-

analysis. **Journal of periodontal & implant Science**, v. 42, n. 1, p. 3-12, 2012.

HASTURK, H.; KANTARCI, A.; VAN DYKE, T. E. Oral inflammatory diseases and systemic inflammation: role of the macrophage. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 118, 2012.

HAVEMOSE-POULSEN, A.; SORENSEN, L. K.; BENDTZEN, K.; HOLMSTRUP, P. Polymorphisms within the IL-1 gene cluster: effects on cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures of patients with aggressive periodontitis, juvenile idiopathic arthritis and rheumatoid arthritis. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 3, p. 475-492, 2007.

HITCHON, C.; CHANDAD, F.; FERUCCI, E. D.; WILLEMZE, A., et al. Antibodies to Porphyromonas gingivalis are associated with anticitrullinated protein antibodies in patients with rheumatoid arthritis and their relatives, **The Journal of Rheumatology**, v. 37, n. 6, p. 1105-1112, 2010.

HOLZHAUSEN, M.; JUNIOR, C. R.; JUNIOR, M. E.; NASSAR, P. O.; SPOLIDORIO, L. C.; SPOLIDORIO, D. M. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **Journal of periodontology**, v. 73, n. 9, p. 1030-1036, 2002.

HSIEH, Yueh-Ling. Effects of ultrasoun and diclofenac phonophoresis on inflammatory pain relief: suppression of inducible nitric oxide synthase in arthritic rats. **Physical therapy**, v. 86, n. 1, p. 39-49, 2006.

HUEBER, W.; UTZ, P. J.; ROBINSON, W. H. Autoantibodies in early arthritis: advances in diagnosis and prognostication. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 21, n. 5, p. S59-S64, 2003.

ISHI, E. P.; BERTOLO, M.B.; ROSSA-JUNIOR, C.; KIRKWOOD, K. L.; ONOFRE, M. A. Periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis. **Brazilian Oral Research**, v. 22, n. 1, p. 72-77, 2008.

JUNQUEIRA, L. C.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. 1 ed. São Paulo: Santos; 1983

KAHN, S.; GARCIA, C. H.; GALAN, J. J.; NAMEN, F. M.; MACHADO, W. A. S.; SILVA, J. J. A.; SARDENBERG, E. M. S.; EGREJA, A. M. Avaliação da existência de controle de infecção oral nos pacientes internados em hospitais do estado do Rio de Janeiro. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 6, p. 1825-1831, nov./dez. 2008.

KAPALE, P.; VARDHARAJULU, G.; WARUDE, T. Effect of free exercise and Rheumathoid arthritis. **Indian J Physiother Occup Ther**. v. 11, p. 63-67, 2017.

KATZ, J.; GOULTSCHIN, J.; BENOLIEL, R.; BRAUTBAR, C. Human leukocyte antigen (HLA) DR4. Positive association with rapidly progressing periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 58, n. 9, p. 607-610, 1987.

- KAUR, G.; MOHINDRA, K.; SINGLA, S. Autoimmunity – Basics And Link With Periodontal Disease. **Autoimmunity reviews**, v. 16, n. 1, p. 64 - 71, 2016.
- KAUR, S.; WHITE, S.; BARTOLD, P.M. Periodontal Disease and Rheumatoid Arthritis: a systematic review. **Journal of Dental Research**, v. 92, n. 5, p. 339-408, 2013.
- KHALAF, H.; LÖNN, J.; BENGTSSON, T. Cytokines and chemokines are differentially expressed in patients with periodontitis: possible role for TGF- β 1 as a marker for disease progression. **Cytokine**, v. 67, n. 1, p. 29-35, 2014
- KHARLAMOVA, N.; JIANG, X.; SHERINA, N.; POTEPA, B., et al. Antibodies to *Porphyromonas gingivalis* Indicate Interaction Between Oral Infection, Smoking, and Risk Genes in Rheumatoid Arthritis Etiology. **Arthritis & Rheumatology**, v. 68, n. 3, p. 604-613, 2016.
- KIM, S. E.; LEE, E. R.; LEE, Y.; JEONG, M.; PARK, Y. W.; AHN, J. S.; AHN, J. T.; SEO, K. A modified method for inducing periodontitis in dogs using a silk-wire twisted ligature. **Journal of Veterinary Science**, v. 13, n. 2, p. 193-197, 2012.
- KINANE, D. F.; PRESHAW, P. M.; LOOS, B. G.; Working Group 2 of Seventh European Workshop on Periodontology. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology, **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. 11, p. 44-48, 2011.
- KITAS, G. D.; GABRIEL, S. E. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: state of the art and future perspectives. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 70, n. 1, p. 8–14, 2011.
- KLARENBECK, N. B.; KERSTENS, P. J. S. M.; HUIZINGA, T. W. J.; DIJKMANS, B. A. C.; ALLAART, C. F. Recent advances in the management of rheumatoid arthritis. **The British Medical Journal**, v. 341, p. c6942, 2010.
- KLAUSEN B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. **Journal of Periodontology**, v. 62, n. 1, p. 59-73, 1991.
- KOBAYASHI, T.; YOSHIE, H. "Host Responses in the Link Between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis". **Current Oral Health Reports**, v. 2, p. 1-8, 2015.
- KONIG, M. F.; PARACHA, A. S.; MONI, M.; BINGHAM, C. O.; ANDRADE, F. Defining the role of *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase (PPAD) in rheumatoid arthritis through the study of PPAD biology. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 74, n. 11, p. 2054-2061, 2015.
- KOZIEL, J.; MYDEL, P.; POTEPA, J. The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: an update review. **Current Rheumatology Reports**, v. 16, n. 3, p. 408, 2014.

KULKAMP, W.; DARIO, A. B.; GEVAERD, M. S.; DOMENECH, S. C. Artrite reumatoide e exercício físico: resgate histórico e cenário atual. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 14, n. 1, p. 55-64, 2009.

KUNZ, R. I.; SILVA, L. I.; COSTA, J. R. G.; SOARES, C. L. R.; BERTOLINI, G. R. F.; BRANCALHÃO, R. M. C.; RIBEIRO, L. F. C. R. Alterações histomorfológicas na articulação do joelho de ratos Wistar após remobilização em meio aquático. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 22, n.3, p. 317-324, 2015.

LEISHMAN, S. J.; SEYMOUR, G. J.; FORD, P. J. Local and systemic inflammatory responses to experimentally induced gingivitis. **Disease markers**, v. 35, n. 5, p. 543-549, 2013.

LEITE, M. A. et al. Experimental periodontitis in the potentialization of the effects of immobilism in the skeletal striated muscle. **Inflammation**, v. 40, n. 6, p. 2000-2011, 2017.

LINDHE J., LANG N. P., KARRING T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1304, 2010.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG N. P. **Tratado de periodontologia clínica e implantologia oral**, 4ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1013, 2005.

LINDHE, J.; LANG, N. P. **Clinical Periodontology and Implant Dentistry**. Chichester, John Wiley & Sons, 2015.

LINS, R. D. A. U. et al. Atividade ósteo-reabsortiva na doença periodontal: o papel das citocinas e prostaglandinas. **Revista Brasileira de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilo-facial**. v. 7, n. 2, p. 29- 36, 2007.

LIRA-JÚNIOR, R.; FIGUEREDO, C. M. Periodontal and inflammatory bowel diseases: Is there evidence of complex pathogenic interactions? **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 35, p. 7963, 2016.

LISTGARTEN, M. A. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. **Journal of Periodontology**, v. 46, n. 11, p. 677-680, 1975.

LIUBOMOROVA, I. M. State of periodontium in patients affected with rheumatism. **Stomatologia**, n. 43, p. 33–37, 1964.

LUNDBERG, K.; WEGNER, N.; LINDBERG, T. Y.; VENABLES, P. J. Periodontitis in RA – the citrullinated enolase connection. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 6, n. 12, p. 727-730, 2010.

MACEDO, R. B. V. Estudo morfofuncional comparativo de fibroblastos sinoviais de pacientes com artrite reumatóide e de modelo experimental de artrite induzida por colágeno. **Dissertação de Mestrado**, 2013.

MACEDO, R. B. V.; KAKEHASI, A. M.; DE ANDRADE, M. V. M. Ação da IL 33 na artrite reumatóide: Contribuição para a fisiopatologia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, n. 5, p. 451-457, 2016.

MARESZ, K. J.; HELLVARD, A.; SROKA, A.; ADAMOWICZ, K., et al. *Porphyromonas gingivalis* facilitates the development and progression of destructive arthritis through its unique bacterial peptidylarginine deiminase (PAD). **PLoS pathogens**, v. 9, n. 9, p. e1003627, 2013.

MARIANO, R.N. **Cartilha Artrite Reumatoide**. Comissão de Artrite Reumatoide da Sociedade Brasileira de Reumatologia, 2011.

MAROTTE, H.; FARGE, P.; GAUDIN, P.; ALEXANDRE, C.; MOUGIN, B.; MIOSSEC, P. The association between periodontal disease and joint destruction in rheumatoid arthritis extends the link between the HLA-DR shared epitope and severity of bone destruction. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 65, n. 7, p. 905–909, 2006.

MATTIA, T. M.; LEITE, M. A.; NASSAR, P. O. The influence of obesity induced by monosodium glutamate in periodontal tissues of female Wistar rats with experimental periodontitis. *American International Journal of Contemporary Research*, v. 7, p. 28- 40, 2017.

MATTILA, K. J.; NIEMINEN, M. S.; VALTONEN, V. V.; RASI, V. P.; KESANIEMI, Y. A.; SYRJALA, S. L.; JUNGELL, P. S.; ISOLUOMA, M.; HIETANIEMI, K, JOKINEN, M. J Association between dental health and acute myocardial infarction. **BMJ**, v. 298, n. 6676, p. 779–781, 1989.

McINNESS, I. B.; SCHETT, G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. **The New England Journal of Medicine**, v. 365, p. 2205-2219, 2011.

MCINNES, I.B.; O'DELL, J.R. State-of-the-art: rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease**, v. 69., n. 11, p. 1898-1906, 2010.

MIKULS, T. R.; PAUNE, J. B.; YU, F.; THIELE, G. M.; REYNOLDS, R. J.; CANNON, G. W., et al. Periodontitis and *Porphyromonas gingivalis* in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatology**; v. 66, n. 5, p.1090-1100, 2014.

MIKULS, T.R.; THIELE, G. M.; DEANE, K. D.; PAYNE, F. B., et al. *Porphyromonas gingivalis* and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoidarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 64, n. 11, p. 3522-3530, 2012.

MIOSSEC, P. An update on the cytokine network in rheumatoid arthritis. *Current opinion in rheumatology*, v. 16, n. 3, p. 218-222, 2004.

MIOTO, A. M. Efeito do exercício físico aquático de baixa, média e alta intensidade na artrite induzida em joelho de ratos Wistar. **Dissertação de Mestrado**, 2018.

MIRIOVSKY, B. J.; MICHAUD, K.; THIELE, G. M., et al. Anti-CCP antibody and rheumatoid factor concentrations predict greater disease burden in U.S. veterans with rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic Disease**, v. 69, n. 7, p. 1292-1297, 2010.

MONSARRAT, P., et al. Effect of periodontal treatment on the clinical parameters of patients with rheumatoid arthritis: study protocolo of the randomized, controlled ESPERA trial. **Trials**, v. 14, n. 1, p. 253, 2013.

MOTA, L. M. H., et al. Consenso 2012 da Sociedade Brasileira de Reumatologia para o tratamento da artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 52, n. 2, p. 152-174, 2012.

MOTA, L. M. H.; NETO, L. L. S.; BURLINGAME, R.; LAURINDO, I. E. M. Comportamento distinto dos sorotipos do fator reumatóide em avaliação seriada de pacientes com artrite reumatóide inicial. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 49, n. 3, p. 223-235, 2009.

MOTA, L. M., et al. 2011 Consensus of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and early assessment of rheumatoid arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, n. 3, p. 207-219, 2011.

NAGAKURA, Y.; OKADA, M.; KOHARA, A.; KISO, T.; TOYA, T.; IWAI, A.; WANIBUCHI, F.; YAMAGUCHI, T. Allodynia and hyperalgesia in Adjuvant-Induced Arthritic rats: time course of progression and efficacy of analgesics. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 2, p. 490-497, 2003.

NASSAR, C. A.; BATTISTETTI, G. D.; NAHSAN, F. P.; OLEGÁRIO, J.; MARCONATO, J.; MARIN, C. F.; FACCIONI, D. M.; COSTA, K. F.; KOTTWITZ, L. B.; NASSAR, P. O. Evaluation of the effect of simvastatin on the progression of alveolar bone loss in experimental periodontitis – an animal study. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 16, n. 1, p. 2-7, 2014.

NASSAR, C. A.; NASSAR, P. O.; NASSAR, P. M.; SPOLIDORIO, L. C. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents bone resorption. **Brazilian oral research**, v. 19, n. 1, p. 36-40, 2005.

NASSAR, P. O.; NASSAR, C. A.; GUIMARÃES, M. R.; ANDIA, D. C.; MUSCARA, M. N.; SPOLIDORIO, D. M.; ROSSA, C. J.; SPOLIDORIO, L. C. Simvastatin therapy in cyclosporine A-induced alveolar bone loss in rats. **Journal of periodontal research**, v. 44, n. 4, p. 479-488, 2009.

NEUGEBAUER, V.; HAN, J. S; ADWANIKAR, H.; et al. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. **Mol Pain**, v. 3, p. 8, 2007.

NEVES, M. et al. Physical exercise and low-level laser therapy on the nociception and leukocyte migration of Wistar rats submitted to a model of rheumatoid arthritis. **Lasers in Medical Science**, v. 35, n. 1, p. 1277–1287, 2019.

OFFENBACHER, S.; BARROS, S. P.; SINGER, R. E.; MOSS, K.; WILLIAMS, R. C.; BECK, J. D.; Periodontal disease at the biofilm - gingival interface. **Journal of Periodontology**, v. 78, n.10, p. 1911-1925, 2007.

OGRENDIK, M.; KOKINO, S.; OZDEMIR, F.; BIRD, P. S.; HAMLET, S. Serum Antibodies to Oral Anaerobic Bacteria in Patients With Rheumatoid Arthritis. **Medscape General Medicine**, v. 7, n. 2, p. 2, 2005.

PAPAPANOU, P. N., et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Periodontology**, v. 89, p. S173-s182, 2018.

PASSOS, J. S.; ARAÚJO, T. M.; GOMES FILHO, I. S.; DA CRUZ, S. S. Condições de vida e saúde bucal: uma abordagem teórico-conceitual das desigualdades sociais. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 35, p.138-150, 2011.

PASSOS, L.F.S. Artrite reumatoide: novas opções terapêuticas. **OPAS/OMS – Representação Brasil**. v. 1, p.1-7, 2016.

PAYNE, J. B.; GOLUB, L. M.; THIELE, G. M.; MIKULS, T. R. The link between Periodontitis and Rheumatoid Arthritis: a Periodontist's Perspective. **Current Oral Health Reports**, v. 2, n. 1, p. 20-29, 2015.

PINHEIRO, G.R.C.; KHANDKER, R.K.; SATO, R.; ROSE, A.; PIERCY, J. Impact of rheumatoid arthritis on quality of life, work productivity and resource utilisation: an observational, cross-sectional study in Brazil. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 31, n. 3, p. 334-340, 2013.

PISCHON, N.; ROEHNER, E.; HOCKE, A.; N'GUESSAN, P.; MUELLER, H. C, MATZIOLIS, G., et al. Effects of *Porphyromonas gingivalis* on cell cycle progression and apoptosis of primary human chondrocytes. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 68; n. 12, p.1902-1907; 2009.

PIZZO, G.; GUIGLIA, R.; Lo RUSSO, L.; CAMPISI, G. Dentistry and internal medicine: from the focal infection theory to the periodontal medicine concept, **European Journal of Internal Medicine**, v. 21, n. 6, p. 496-502, 2010.

QUIRKE, A. M.; LUGLI, E. B.; WEGNER, N.; HAMILTON, B. C., et al. Heightened immune response to autocitrullinated *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase: a potential mechanism for breaching immunologic tolerance in rheumatoid arthritis. **Annals of the Rheumatic diseases**, v. 73, n. 1, p. 263-269, 2014.

RAZA, K.; SABER, T.P.; KVIEN, T.K.; TAK, P.P.; GERLAG, D.M. Timing the therapeutic window of opportunity in early rheumatoid arthritis: proposal for definitions of disease duration in clinical trials. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 71, n. 12, p. 1921-1923, 2012.

RENDAS-BAUM R, WALLENSTEIN GV, KONCZ T, KOSINSKI M, YANG M, BRADLEY J, et al. Evaluating the efficacy of sequential biologic therapies for

rheumatoid arthritis patients with an 62 inadequate response to tumor necrosis factor- α inhibitors. **Arthritis Research & Therapy**, v.13, n. 1, p. R25, 2011.

RODRIGUES, A. Z. et al. Estratégias terapêuticas e potenciais alvos para modulação da resposta do paciente periodontal. **Revista de Periodontia**. v. 19. n. 1. p. 14- 21, 2009.

RODRIGUEZ, J. P. L.; MARTINEZ, R. E. M.; MENDOZA, C. A.; MARIN, N. P.; SEYMOUR, G. J. Rheumatoid arthritis and the role of oral bacteria. **Journal of Oral Microbiology**, v. 2, n. 1, p. 5784, 2010.

ROSENSTEIN, E. D.; GREENWALD, R. A.; KUSHNER, L. J.; WEISSMANN, G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. **Inflammation**, v. 28, n. 6, p. 311-318, 2004.

ROUTSIAS, J. G.; GOULES, J. D.; GOULES, A.; CHARALAMPAKIS, G.; PIKAZIS, D. Autopathogenic correlation of periodontitis and rheumatoid arthritis. **Rheumatology**, v. 50, n. 7, p. 1189-1193, 2011.

SAKALAUSKIENE, J.; GIEDRIMIENE, D.; KUBILIUS, R.; GLEIZNYS, A.; VITKAUSKIENE, A.; IVANAUSKIENE, E.; PUSKUNIGYTE, K. Cytokine production by leukocytes in patients with periodontitis. **Open Medicine**, v. 9, n. 6, p. 821-829, 2014.

SAKKAS, L. I.; BOGDANOS, D. P.; KATSIARI, C.; PLATSOUKAS, C. D. Anti-citrullined peptides as autoantigens in rheumatoid arthritis - relevance to treatment. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 11, p.1114-1120, 2014.

SALLAY, K. et al. Bacterial invasion of oral tissues of immunosuppressed rats. **Infect Immun**, v. 43, n. 3, p. 1091-1093, 1984.

SCHENKEIN, H. A.; LOOS, B. G. Inflammatory Mechanisms Linking Periodontal Diseases to Cardiovascular Diseases. **Journal of Clinical Periodontology**. v. 40, n. 14, p. 51-69, 2013.

SCHMITD, L. B. Avaliação radiográfica da reabsorção óssea periodontal por meio de calor de pixel e comparação com análise histopatológica. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2005.

SCOTTISH INTERCOLLEGIATE GUIDELINES NETWORK (SIGN). **Management of early rheumatoid arthritis**. Edinburgh, 2000.

SENNA, E. R, et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. **The Journal of rheumatology**, v. 3, n. 3, p. 594-597, 2004.

SHRIVASTAVA, A.K.; PANDEY, A. Inflammation and rheumatoid arthritis. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 69, n. 2, p. 335-347, 2013.

SILVA, T. A.; GARLET, G. P.; FUKADA, S. Y.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. **Journal of Dental Research**, v. 86, n. 4, p. 306-319, 2007.

SILVESTRE, J. F.; JAVIER, S. R.; BAGAN, L.; BAGAN J. V. Effect of nonsurgical periodontal treatment in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: A systematic review. **Medicine oral, patologia oral y cirurgia bucal**, v. 21, n. 3, p. e349, 2016.

SMOLEN, J.S., ALETAHA, D., MCINNES, I.B. Rheumatoid arthritis. **Lancet**. v. 388, p. 2023-2038, 2016.

SNYDERMAN, R.; AND MCCARTY, G. A. Analogous mechanisms of tissue destruction in rheumatoid arthritis and periodontal disease. In: **Host-Parasite Interaction in Periodontal Diseases**, R. J. Genco and S. E. Mergenhagen, eds. American Society of Microbiology, p. 354-362, 1982.

SOKOLOVE, J.; JOHNSON, D.S.; LAHEY, L.J., et al. Rheumatoid factor as a potentiator of anti-citrullinated protein antibody mediated inflammation in rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatol**, v. 66, n. 4, p. 813-821, 2014.

SOUZA, C. H. C.; NETA, N. B. D.; LAURENTINO, J. B.; SANTOS, D. L. N.; JÚNIOR, R. R. P.; MENDES, R. F. Fatores de risco relacionados à condição de saúde periodontal em universitários. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 42, n. 3, p. 152-159, 2013.

SRINIVASAN, P.C. The Role of Inflammatory Cytokines and the RANKL-RANK-OPG Molecular Triad in Periodontal Bone Loss - A Review. **Journal of Clinical & Cellular Immunology**, v. 13, p. 2, 2013.

STEFFENS, J.P., MARCANTONIO, R.A.C. Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares: guia Prático e Pontos-Chave. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 47, n. 4, p. 189-197, 2018.

STEIN, T. S. Papel dos receptores histaminérgicos da medula espinhal na inflamação articular de ratos e sua possível contribuição como adjuvante para os efeitos da morfina. **Dissertação de Mestrado** – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2012.

STRAUB, R.H; BIJLSMA, J.W.J; MASi, A. and CUTOLO, M. Role of Neuroendocrine and Neuroimmune Mechanisms in Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases: The 10 Years Update. In: **Seminars in Arthritis and Rheumatism**. WB Saunders, p. 392-404, 2013.

SWERTS, A. A. Ação da laserterapia na periodontite experimental induzida em ratos tratados com sinvastatina: estudo bioquímico e radiográfico. **Tese de Mestrado**. Universidade Federal de Alfenas, 2014.

SYRJÄNEN, J.; PELTOLA, J.; VALTONEN, V.; IIVANAINEN, M.; KASTE, M.; HUTTUNEN, J. K. Dental infections in association with cerebral infarction in young and middle-aged men. **Journal of Internal Medicine**, v. 225, n. 3, p. 179-184, 1989.

TATAKIS, D. N.; GUGLIELMONI, P. HLA-B27 transgenic rats are susceptible to accelerated alveolar bone loss. **Journal of periodontology**, v. 71, n. 9, p. 1395-1400, 2000.

TOLO, K.; JORKJEND, L. Serum antibodies and loss of periodontal bone in patients with rheumatoid arthritis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 17, n. 5, p. 288–291, 1990.

TONUSSI, C. R.; FERREIRA, S. H. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. **Pain**, v. 48, n. 3, p. 421-427, 1992.

TONUSSI, C. R.; FERREIRA, S. H. Tumor necrosis factor-alpha mediates carrageenin-induced knee joint incapacitation and also triggers overt nociception in previously inflamed rat knee joints. **Pain**, v. 82, p. 81-87, 1999.

TORPY, J.M., PERAZZA, G.D., GOLUB, R.M. Rheumatoid Arthritis. **JAMA**. v. 305, p. 1, 2011.

TROMBONE, A. P.; CLAUDINO, M.; COLAVITE, P.; DE ASSIS, G. F.; AVILA-CAMPOS, M. J.; SILVA, J. S.; CAMPANELLI, A. P.; IBANEZ, O. M.; DE FRANCO, M.; GARLET, G. P. Periodontitis and arthritis interaction in mice involves a shared hyperinflammatory genotype and functional immunological interferences. **Genes and Immunity**, v. 11, n. 6, p. 479–489, 2010.

TUFTS, M. H. Rheumatoid Arthritis. **From the AJN Archives**. v. 112, 2012.

VIACAVA, P. R.; TEIXEIRA, V. O. N.; ALABARSE, P. V. G.; XAVIER, L. L.; XAVIER, R. M.; FILIPPIN, L. I. Efeito do exercício aeróbico em modelo experimental de artrite. **Clinical and Biomedical Research**, v. 34, n. 1, p. 28-39, 2014.

VINCENT, T. L.; WILLIAMS, R. O.; MACIEWICZ, R.; SILMAN, A.; GARSIDE, P. Mapping pathogenesis of arthritis through small animal models. **Rheumatology**, v. 51, n. 11, p. 1931-1941, 2012.

WATTS, R. A., et al. **Oxford Textbook of Rheumatology**. 4ª edição, Nova Iorque, 2013.

WAUBEN, M. H.; WAGENAAR-HILERS, J. P.; WAN EBEN, W. Adjuvant arthritis. In: Cohen, I. R.; Miller, A. Autoimmune diseases models: a guide book. **United States: Academic Press**, p. 211-216, 1994.

WEGNER, N.; LUNDBERG, K.; KINLOCH, A.; FISHER, B. et al. Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. **Immunological reviews**, v. 233, n. 1, p. 34-54, 2010.

WEGNER, N.; WAIT, R.; SROKA, A.; EICK, S., et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatology**, v. 62, n. 9, p. 2662-2672, 2010.

WILSON, A. W.; MEDHURST, S. J.; DIXON, C. I.; BONTOFT, N. C.; WINYARD, L. A., et al. An animal model of chronic inflammatory pain: Pharmacological and temporal differentiation from acute models. **European Journal of Pain**, v. 10, n. 6, p. 537-549, 2006.

YU, Y. C.; KOO, S. T.; KIM, C. H.; LYU, Y.; GRADY, J. J.; CHUNG, J. M. Two variables that can be used as pain indices in experimental animal models of arthritis. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 115, n. 1, p. 107-113, 2002.

ZOU, S. Five Balances in the Management of Rheumatoid Arthritis. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 5, n. 09, p. 10, 2017.

ANEXO 1



Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

Autorização

O Protocolo nº 19-19 intitulado “Efeitos do exercício em meio aquático em ratos submetidos a modelo de artrite reumatoide e doença periodontal- Análises funcionais e morfológicas.”, sob a responsabilidade de **Gladson Ricardo Flor Bertolini** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE *Ad referendum* no dia 25/07/2019. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	25/07/2019 a 20/05/2021
Espécie/linhagem/raça	Ratos da linhagem Wistar
N. de animais	80
Peso/Idade	250 – 350 g 3 meses
Sexo	Macho
Origem	Biotério Central da UNIOESTE, campus de Cascavel

Cascavel, 25/07/2019

Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
Coordenadora do CEUA
Portaria nº 3126/2018-GRE

ANEXO 2

ACTA ODONTOLOGICA SCANDINAVICA

Instructions for authors

1.1.1 About the Journal

Acta Odontologica Scandinavica is an international, peer-reviewed journal publishing high-quality, original research. Please see the journal's [Aims & Scope](#) for information about its focus and peer-review policy.

Please note that this journal only publishes manuscripts in English.

Acta Odontologica Scandinavica accepts original articles.

1.1.2 Open Access

You have the option to publish open access in this journal via our Open Select publishing program. Publishing open access means that your article will be free to access online immediately on publication, increasing the visibility, readership and impact of your research. Articles published Open Select with Taylor & Francis typically receive 32% more citations* and over 6 times as many downloads** compared to those that are not published Open Select.

Your research funder or your institution may require you to publish your article open access. Visit our [Author Services](#) website to find out more about open access policies and how you can comply with these.

You will be asked to pay an article publishing charge (APC) to make your article open access and this cost can often be covered by your institution or funder. Use our [APC finder](#) to view the APC for this journal.

Please visit our [Author Services website](#) or contact openaccess@tandf.co.uk if you would like more information about our Open Select Program.

*Citations received up to Jan 31st 2020 for articles published in 2015-2019 in journals listed in Web of Science®.

**Usage in 2017-2019 for articles published in 2015-2019.

1.1.3 Peer Review

Taylor & Francis is committed to peer-review integrity and upholding the highest standards of review. Once your paper has been assessed for suitability by the editor, it will then be single blind peer reviewed by independent, anonymous

expert referees. Find out more about [what to expect during peer review](#) and read our guidance on [publishing ethics](#).

1.1.4 Preparing Your Paper

All authors submitting to medicine, biomedicine, health sciences, allied and public health journals should conform to the [Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals](#), prepared by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE).

Structure

Your paper should be compiled in the following order: title page; abstract; keywords; main text introduction, materials and methods, results, discussion; acknowledgments; declaration of interest statement; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figures; figure captions (as a list).

Word Limits

Please include a word count for your paper. There are no word limits for papers in this journal.

Style Guidelines

Please refer to these [quick style guidelines](#) when preparing your paper, rather than any published articles or a sample copy.

Please use American spelling style consistently throughout your manuscript.

Please use single quotation marks, except where 'a quotation is "within" a quotation'. Please note that long quotations should be indented without quotation marks.

- Quick Style Guidelines

1.1 How should I format my manuscript?

This guide contains general advice, but some journals will have specific layout and formatting requirements. **Before you submit your article, please make sure you've checked the instructions for authors for your chosen journal, so you are aware of everything that is needed.** You can find the instructions for authors on the journal's homepage on [Taylor and Francis Online](#).

If your article is accepted for publication, the manuscript will be further formatted and typeset in the correct style for the journal.

1.1.1 Font

Use Times New Roman font in size 12 with double-line spacing.

1.1.2 Margins

Margins should be at least 2.5cm (1 inch).

1.1.3 Title

Use bold for your article title, with an initial capital letter for any proper nouns.

1.1.4 Abstract

Indicate the abstract paragraph with a heading or by reducing the font size. The instructions for authors for each journal will give specific guidelines on what's required here, including whether it should be a structured abstract or graphical abstract, and any word limits.

1.1.5 Keywords

Keywords help readers find your article, so are vital for discoverability. If the journal instructions for authors don't give a set number of keywords to provide, aim for five or six.

[Learn more about choosing suitable keywords to make your article and you more discoverable.](#)

1.1.6 Headings

Please follow this guide to show the level of the section headings in your article:

1. First-level headings (e.g. Introduction, Conclusion) should be in bold, with an initial capital letter for any proper nouns.
2. Second-level headings should be in bold italics, with an initial capital letter for any proper nouns.
3. Third-level headings should be in italics, with an initial capital letter for any proper nouns.
4. Fourth-level headings should be in bold italics, at the beginning of a paragraph. The text follows immediately after a full stop (full point) or other punctuation mark.
5. Fifth-level headings should be in italics, at the beginning of a paragraph. The text follows immediately after a full stop (full point) or other punctuation mark.

1.1.7 Tables and figures

Show clearly in the article text where the tables and figures should appear, for example, by writing [*Table 1 near here*].

Check the instructions for authors to see how you should supply tables and figures, whether at the end of the text or in separate files, and follow any guidance given on the submission system.

[Find more detailed advice on including tables in your article.](#)

It's very important that you have been given permission to use any tables or figures you are reproducing from another source before you submit.

Here's our [advice on obtaining permission for third party material](#) and our [guide to submission of electronic artwork](#).

1.1.8 Data availability statement

If you're submitting a [data availability statement](#) for your article, please include it within the text of your manuscript, before your 'References' section. So that readers can easily find it, please give it the heading 'Data availability statement'.

1.1.9 Spelling and punctuation

Each journal will have a preferred method for spelling and punctuation. You'll find this in the instructions for authors, available on the journal's homepage on [Taylor and Francis Online](#). Make sure you apply the spelling and punctuation style consistently throughout your article.

1.1.10 Special characters

If you are preparing your manuscript in Microsoft Word and your article contains special characters, accents, or diacritics, we recommend you follow these steps:

- European accents (Greek, Hebrew, or Cyrillic letters, or phonetic symbols): choose Times New Roman font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window and insert the character you require.
- Asian languages (such as Sanskrit, Korean, Chinese, or Japanese): choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window and insert the character you require.
- Transliterated Arabic: choose either Times New Roman or Arial Unicode (unless the instructions for authors specify a particular font). For ayns and hamzas, choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window. Type the Unicode hexes directly into the "Character code" box, using 02BF for ayn, and 02BE for hamza.

1.1.11 Running heads and received dates

These aren't required when submitting a manuscript for review. They will be added during the production process if your article is accepted for publication.

Formatting and Templates

Papers may be submitted in Word or LaTeX formats. Figures should be saved separately from the text. To assist you in preparing your paper, we provide formatting template(s).

Word templates are available for this journal. Please save the template to your hard drive, ready for use.

A LaTeX template is available for this journal. Please save the LaTeX template to your hard drive and open it, ready for use, by clicking on the icon in Windows Explorer.

If you are not able to use the template via the links (or if you have any other template queries) please contact us here.

References

Please use this reference guide when preparing your paper.

An EndNote output style is also available to assist you.

Taylor & Francis Editing Services

To help you improve your manuscript and prepare it for submission, Taylor & Francis provides a range of editing services. Choose from options such as English Language Editing, which will ensure that your article is free of spelling and grammar errors, Translation, and Artwork Preparation. For more information, including pricing, visit this website.

Checklist: What to Include

1. **Author details.** Please ensure everyone meeting the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) requirements for authorship is included as an author of your paper. All authors of a manuscript should include their full name and affiliation on the cover page of the manuscript. Where available, please also include ORCiDs and social media handles (Facebook, Twitter or LinkedIn). One author will need to be identified as the corresponding author, with their email address normally displayed in the article PDF (depending on the journal) and the online article. Authors' affiliations are the affiliations where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the

- peer-review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after your paper is accepted. [Read more on authorship.](#)
2. Should contain a structured abstract of 200 words. A structured abstract should cover (in the following order): Objective; Material and Methods; Results and Conclusions.
 3. **Graphical abstract** (optional). This is an image to give readers a clear idea of the content of your article. It should be a maximum width of 525 pixels. If your image is narrower than 525 pixels, please place it on a white background 525 pixels wide to ensure the dimensions are maintained. Save the graphical abstract as a .jpg, .png, or .gif. Please do not embed it in the manuscript file but save it as a separate file, labelled GraphicalAbstract1.
 4. You can opt to include a **video abstract** with your article. [Find out how these can help your work reach a wider audience, and what to think about when filming.](#)
 5. Between 3 and 5 **keywords**. Read [making your article more discoverable](#), including information on choosing a title and search engine optimization.
 6. **Funding details**. Please supply all details required by your funding and grant-awarding bodies as follows:
For single agency grants
 This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx].
For multiple agency grants
 This work was supported by the [Funding Agency #1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency #2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency #3] under Grant [number xxxx].
 7. **Disclosure statement**. This is to acknowledge any financial interest or benefit that has arisen from the direct applications of your research. [Further guidance on what is a conflict of interest and how to disclose it.](#)
 8. **Data availability statement**. If there is a data set associated with the paper, please provide information about where the data supporting the results or analyses presented in the paper can be found. Where applicable, this should include the hyperlink, DOI or other persistent identifier associated with the data set(s). [Templates](#) are also available to support authors.
 9. **Data deposition**. If you choose to share or make the data underlying the study open, please deposit your data in a [recognized data repository](#) prior to or at the time of submission. You will be asked to provide the DOI, pre-reserved DOI, or other persistent identifier for the data set.
 10. **Geolocation information**. Submitting a geolocation information section, as a separate paragraph before your acknowledgements, means we can index your paper's study area accurately in JournalMap's geographic

literature database and make your article more discoverable to others. [More information](#).

11. **Supplemental online material.** Supplemental material can be a video, dataset, fileset, sound file or anything which supports (and is pertinent to) your paper. We publish supplemental material online via Figshare. Find out more about [supplemental material and how to submit it with your article](#).
12. **Figures.** Figures should be high quality (1200 dpi for line art, 600 dpi for grayscale and 300 dpi for colour, at the correct size). Figures should be supplied in one of our preferred file formats: EPS, PS, JPEG, GIF, or Microsoft Word (DOC or DOCX). For information relating to other file types, please consult our [Submission of electronic artwork](#) document.
13. **Tables.** Tables should present new information rather than duplicating what is in the text. Readers should be able to interpret the table without reference to the text. Please supply editable files.
14. **Equations.** If you are submitting your manuscript as a Word document, please ensure that equations are editable. More information about [mathematical symbols and equations](#).
15. **Units.** Please use [SI units](#) (non-italicized).

1.1.12 Using Third-Party Material in your Paper

You must obtain the necessary permission to reuse third-party material in your article. The use of short extracts of text and some other types of material is usually permitted, on a limited basis, for the purposes of criticism and review without securing formal permission. If you wish to include any material in your paper for which you do not hold copyright, and which is not covered by this informal agreement, you will need to obtain written permission from the copyright owner prior to submission. More information on [requesting permission to reproduce work\(s\) under copyright](#).

1.1.13 Disclosure Statement

Please include a disclosure statement, using the subheading “Disclosure of interest.” If you have no interests to declare, please state this (suggested wording: *The authors report no conflict of interest*). For all NIH/Wellcome-funded papers, the grant number(s) must be included in the declaration of interest statement. [Read more on declaring conflicts of interest](#).

1.1.14 Clinical Trials Registry

In order to be published in a Taylor & Francis journal, all clinical trials must have been registered in a public repository at the beginning of the research process (prior to patient enrolment). Trial registration numbers should be included in the

abstract, with full details in the methods section. The registry should be publicly accessible (at no charge), open to all prospective registrants, and managed by a not-for-profit organization. For a list of registries that meet these requirements, please visit the [WHO International Clinical Trials Registry Platform \(ICTRP\)](#). The registration of all clinical trials facilitates the sharing of information among clinicians, researchers, and patients, enhances public confidence in research, and is in accordance with the [ICMJE guidelines](#).

1.1.15 Complying With Ethics of Experimentation

Please ensure that all research reported in submitted papers has been conducted in an ethical and responsible manner, and is in full compliance with all relevant codes of experimentation and legislation. All papers which report in vivo experiments or clinical trials on humans or animals must include a written statement in the Methods section. This should explain that all work was conducted with the formal approval of the local human subject or animal care committees (institutional and national), and that clinical trials have been registered as legislation requires. Authors who do not have formal ethics review committees should include a statement that their study follows the principles of the [Declaration of Helsinki](#).

Consent

All authors are required to follow the [ICMJE requirements](#) on privacy and informed consent from patients and study participants. Please confirm that any patient, service user, or participant (or that person's parent or legal guardian) in any research, experiment, or clinical trial described in your paper has given written consent to the inclusion of material pertaining to themselves, that they acknowledge that they cannot be identified via the paper; and that you have fully anonymized them. Where someone is deceased, please ensure you have written consent from the family or estate. Authors may use this [Patient Consent Form](#), which should be completed, saved, and sent to the journal if requested.

Health and Safety

Please confirm that all mandatory laboratory health and safety procedures have been complied with in the course of conducting any experimental work reported in your paper. Please ensure your paper contains all appropriate warnings on any hazards that may be involved in carrying out the experiments or procedures you have described, or that may be involved in instructions, materials, or formulae.

Please include all relevant safety precautions; and cite any accepted standard or code of practice. Authors working in animal science may find it useful to consult the [International Association of Veterinary Editors' Consensus Author Guidelines](#)

on Animal Ethics and Welfare and Guidelines for the Treatment of Animals in Behavioural Research and Teaching. When a product has not yet been approved by an appropriate regulatory body for the use described in your paper, please specify this, or that the product is still investigational.

1.1.16 Submitting Your Paper

This journal uses ScholarOne Manuscripts to manage the peer-review process. If you haven't submitted a paper to this journal before, you will need to create an account in ScholarOne. Please read the guidelines above and then submit your paper in the relevant Author Centre, where you will find user guides and a helpdesk.

If you are submitting in LaTeX, please convert the files to PDF beforehand (you will also need to upload your LaTeX source files with the PDF).

Please note that *Acta Odontologica Scandinavica* uses Crossref™ to screen papers for unoriginal material. By submitting your paper to *Acta Odontologica Scandinavica* you are agreeing to originality checks during the peer-review and production processes.

On acceptance, we recommend that you keep a copy of your Accepted Manuscript. Find out more about sharing your work.

1.1.17 Data Sharing Policy

This journal applies the Taylor & Francis Basic Data Sharing Policy. Authors are encouraged to share or make open the data supporting the results or analyses presented in their paper where this does not violate the protection of human subjects or other valid privacy or security concerns.

Authors are encouraged to deposit the dataset(s) in a recognized data repository that can mint a persistent digital identifier, preferably a digital object identifier (DOI) and recognizes a long-term preservation plan. If you are uncertain about where to deposit your data, please see this information regarding repositories.

Authors are further encouraged to cite any data sets referenced in the article and provide a Data Availability Statement.

At the point of submission, you will be asked if there is a data set associated with the paper. If you reply yes, you will be asked to provide the DOI, pre-registered DOI, hyperlink, or other persistent identifier associated with the data set(s). If you have selected to provide a pre-registered DOI, please be prepared to share the reviewer URL associated with your data deposit, upon request by reviewers.

Where one or multiple data sets are associated with a manuscript, these are not formally peer reviewed as a part of the journal submission process. It is the author's responsibility to ensure the soundness of data. Any errors in the data rest solely with the producers of the data set(s).

1.1.18 Publication Charges

Authors will be charged \$95 for each published page in excess of 4 typeset pages.

Colour figures will be reproduced in colour in your online article free of charge. If it is necessary for the figures to be reproduced in colour in the print version, a charge will apply.

Charges for colour figures in print are £300 per figure (\$400 US Dollars; \$500 Australian Dollars; €350). For more than 4 colour figures, figures 5 and above will be charged at £50 per figure (\$75 US Dollars; \$100 Australian Dollars; €65). Depending on your location, these charges may be subject to local taxes.

1.1.19 Copyright Options

Copyright allows you to protect your original material, and stop others from using your work without your permission. Taylor & Francis offers a number of different license and reuse options, including Creative Commons licenses when publishing open access. [Read more on publishing agreements.](#)

1.1.20 Complying with Funding Agencies

We will deposit all National Institutes of Health or Wellcome Trust-funded papers into PubMedCentral on behalf of authors, meeting the requirements of their respective open access policies. If this applies to you, please tell our production team when you receive your article proofs, so we can do this for you. Check funders' open access policy mandates [here](#). Find out more about [sharing your work](#).

1.1.21 My Authored Works

On publication, you will be able to view, download and check your article's metrics (downloads, citations and Altmetric data) via [My Authored Works](#) on Taylor & Francis Online. This is where you can access every article you have published with us, as well as your [free eprints link](#), so you can quickly and easily share your work with friends and colleagues.

We are committed to promoting and increasing the visibility of your article. Here are some tips and ideas on how you can work with us to [promote your research](#).

1.1.22 Article Reprints

You will be sent a link to order article reprints via your account in our production system. For enquiries about reprints, please contact the Taylor & Francis Author Services team at reprints@tandf.co.uk.

1.1.23 Queries

Should you have any queries, please visit our [Author Services website](#) or contact us [here](#).

Updated 20-04-2020