



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA  
MESTRADO



**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA  
SALIVAR E SUA CORRELAÇÃO COM  
PARÂMETROS SÉRICOS E PERIODONTAIS EM  
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO  
SISTÊMICO**



**SÃO LUÍS  
2018**

**LESLIE ALVES DA SILVA**

**Avaliação da concentração de leptina salivar e sua correlação com parâmetros séricos e periodontais em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Bruno Braga Benatti

**SÃO LUÍS**

**2018**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Silva, Leslie Alves da.

Avaliação da concentração de leptina salivar e sua correlação com parâmetros séricos e periodontais em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico / Leslie Alves da Silva. - 2018.

59 f.

Orientador(a): Bruno Braga Benatti.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

1. Doenças Periodontais. 2. Leptina. 3. Lúpus Eritematoso Sistêmico. 4. Saliva. I. Benatti, Bruno Braga. II. Título.

**LESLIE ALVES DA SILVA**

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA SALIVAR E SUA  
CORRELAÇÃO COM PARÂMETROS SÉRICOS E PERIODONTAIS EM  
PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO**

A Comissão julgadora da Defesa da Dissertação de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 04/12/2018, considerou a candidata.

( ) APROVADA

( ) REPROVADA

1) Examinador: Prof. Dra. Luciana Salles Branco de Almeida

---

2) Examinador: Prof. Dr. Diêgo de Carvalho Souza

---

3) Presidente (Orientador): Prof. Dr. Bruno Braga Benatti

---

*“Os rios não bebem sua própria água; as árvores não comem seus próprios frutos. O sol não brilha para si mesmo; e as flores não espalham sua fragrância para si. Viver para os outros é uma regra da natureza. (...) A vida é boa quando você está feliz; mas a vida é muito melhor quando os outros estão felizes por sua causa”*

*Papa Francisco*

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por ter me dado o dom da vida, por aqueles que eu posso chamar de família, por todas as pessoas que colocou em meu caminho, por sempre me conduzir conforme a sua vontade e me dar a oportunidade de evoluir a cada dia.

Aos meus pais, **Lia Ferreira Alves e Afonso Henrique C. da Silva**, por serem a minha base, meu exemplo de ética, dignidade, humildade, dedicação, de superação e por me darem todo incentivo, suporte e liberdade para traçar meu caminho e fazer as minhas escolhas. Minha eterna gratidão por tê-los em minha vida e serem além de pais, os meus melhores amigos.

À minha irmã, **Lorena Alves da Silva**, que em sua escuta cuidadosa e atenta, tentou compreender todas as minhas angústias, dúvidas e frustrações, e me mostrou além do que consigo enxergar, que foi uma grande fonte de incentivo para meu desenvolvimento, não só profissional, mas pessoal, por ser a minha fonte inesgotável de amor.

Ao meu namorado, **Lucas Borges**, por compreender minhas ausências, por ser um companheiro excepcional em todas as horas, por toda confiança que deposita em mim e principalmente por me incentivar, apoiar e fazer com que eu queira sempre ser uma pessoa melhor.

Ao **Prof. Dr. Bruno Braga Benatti**, por me orientar na minha formação e por me permitir trabalhar em áreas novas e desafiadoras, que acrescentaram muito não só no meu conhecimento, como na experiência de vida. Agradeço por toda disponibilidade, orientação e revisões críticas que foram importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues**, que participou de todas as etapas de elaboração deste trabalho, e que com seu conhecimento nos permitiu ir além do que buscávamos. Agradeço por toda disponibilidade, por todo tempo e orientação voltados à pesquisa, e sou grata pelo exemplo de desprendimento, solicitude, doação e dedicação.

À **Prof. Dra. Cecília Ribeiro**, pela forma de conduzir o Programa de Pós-graduação de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão e ser exemplo na arte da construção do saber. Agradeço ainda por me orientar, desafiar, estimular, aconselhar e ser uma inspiração para meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

À **Consuelo Marques** por toda sua dedicação ao trabalho, que sem seu envolvimento e participação, o desenvolvimento deste trabalho não seria possível. Agradeço também por toda disponibilidade e atenção.

À **Mayra Moura**, pela participação e colaboração.

À **Monique Mouchrek**, pelos ensinamentos, aconselhamentos e por me permitir ter uma experiência diferente, desafiadora e ainda ser um exemplo de dedicação, paciência e amor ao próximo.

Aos meus colegas de pós-graduação: **Cláudia Chaves, Isabelle Prado, Luiza Neiliane Rodrigues, Lorena Ladeira, Susilena Arouche, Izabel Oliveira, Antonio Carlos,**

**Luanna Nery, Luísa Fialho, Samira Vasconcelos, Joseany Laurentino, Natália Carvalho, Jeanne Paiva e Dantas Braga**, por partilharem do objetivo comum de crescimento profissional e por terem sido grande suporte nesta trajetória, por terem permitido ser uma jornada leve, ainda que desafiadora, pelo acolhimento e pelas críticas construtivas buscando o desenvolvimento do melhor de cada um. A todos, minha eterna gratidão.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudo.

À **Universidade Federal do Maranhão**, atualmente na figura da Excelentíssima Reitora Nair Portela Silva Coutinho, por minha formação e amparo profissional.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão (PPGO)**, na pessoa da coordenadora Prof. Dra. Cecília Cláudia Costa Ribeiro, pela solicitude e competência.

A **todos os professores** do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão que se doam para um enriquecimento e desenvolvimento da nossa instituição.

A **todos os professores do Curso de Odontologia** da UFMA que contribuíram para minha formação e por todos que foram e são inspiração para a profissional que desejo ser.

A **equipe da secretaria da PPGO**, em especial a **Mayara**, por todo cuidado e disponibilidade durante estes dois anos, que foi fundamental para facilitar nosso contato e comunicação.

E por fim, a toda equipe da conservadora e segurança, que cuidam do nosso acesso e manutenção do nosso prédio, fundamental para o desenvolvimento de nossos trabalhos. Em especial a dona **Meire**, por toda disponibilidade, receptividade e sorriso no rosto.

## RESUMO

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença crônica autoimune, de etiologia ainda desconhecida, mas de grande poder destrutivo, podendo envolver órgãos de forma isolada ou simultânea, em decorrência da hiperatividade imunológica do organismo. A leptina é uma citocina pró-inflamatória, produzida principalmente pelo tecido adiposo, de grande importância na perpetuação da alça de inflamação crônica da doença autoimune, já que estimula a proliferação de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que por sua vez aumentam a síntese de leptina. No Capítulo I, realizou-se um estudo transversal no qual foram selecionados 67 pacientes, sendo 38 pacientes com LES e 29 pacientes sem LES. O objetivo do estudo foi investigar os níveis salivares de leptina e correlacioná-los com os parâmetros séricos e periodontais de pacientes com LES. A saliva foi coletada pelo método de saliva total estimulada e a análise da concentração da leptina salivar foi feita através do Luminex MAGPIX<sup>®</sup>. O teste T de Student foi utilizado na análise comparativa da concentração de leptina salivar entre os pacientes com LES e sem LES. O coeficiente de Spearman (Rs) foi calculado para estimar a correlação entre a leptina salivar e os parâmetros séricos e periodontais. No modelo teórico proposto para estudo da alteração do nível de leptina salivar em decorrência do LES, a doença periodontal foi testada como variável mediadora. O modelo foi testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais. O nível de significância adotado foi de 5%. Verificou-se que pacientes com LES apresentaram níveis estatisticamente mais reduzidos de leptina salivar que pacientes sem LES (P=0.002) e que a redução do nível de leptina salivar em pacientes com LES se sobrepõe a presença de doença periodontal (Estimativa = -0,289; P = 0,023). Os dados mostraram que a concentração salivar de leptina apresentou correlação com o triglicérides (Rs -0.534; P=0.003), creatinina (Rs -0.331; P=0.048), clearance de creatinina (Rs -0.445; P=0.025), leucócito (Rs -0.331; P=0.041) e colesterol (Rs 0.434; P=0.016) e não apresentou correlação com os parâmetros periodontais (P>0.05). Tais resultados apontam a leptina como um promissor marcador salivar, de baixo custo e facilidade de obtenção em pacientes com LES, além da possibilidade de poder correlacionar seus níveis com importantes parâmetros séricos de pacientes com a doença autoimune.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico, Leptina, Saliva, Doenças Periodontais



## ABSTRACT

Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease, of unknown etiology, with a great destructive power, that may involve isolated or multiple organs, due to the body's immune hyperactivity. Leptin is a proinflammatory cytokine, produced mainly by the adipose tissue, of great importance in the perpetuation of chronic inflammation of autoimmune diseases, since it stimulates the production of proinflammatory cytokines such as Interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), which in turn increase leptin synthesis. In chapter I, a cross-sectional study in which 67 patients were selected, being 38 patients with LES and 29 systemically healthy patients. The aim of this study was to investigate the salivary levels of leptin and correlate them with serum and periodontal parameters of patients with SLE. Saliva was collected by the total stimulated saliva method and salivary leptin concentration analysis was performed using Luminex MAGPIX<sup>®</sup>. Student's t-test was used in the comparative analysis of leptin salivary concentration between SLE patients and systemically healthy individuals. The Spearman coefficient (Rs) was calculated to estimate the correlation between salivary leptin and serum and periodontal parameters. In the theoretical model proposed for the study of leptin salivary changes due to SLE, periodontal disease was tested as a mediator variable. The model was tested using Structural Equation Modeling. The level of significance was 5%. It was found that patients with SLE had statistically lower levels of salivary leptin than systemically healthy patients ( $P = 0.002$ ) and that the reduction of the level of salivary leptin in SLE patients overlaps with the presence of periodontal disease. ( $0.298, P = 0.023$ ). The data showed that salivary leptin concentration correlated with triglycerides (Rs  $-0.534, P = 0.003$ ), creatinine (Rs  $-0.331, P = 0.048$ ), creatinine clearance (Rs  $-0.445, P = 0.025$ ), leukocytes ( $-0.331, P = 0.041$ ) and cholesterol (Rs  $0.434, P = 0.016$ ) and showed no correlation with periodontal parameters ( $P > 0.05$ ). These results point to leptin as a promising salivary marker, low cost and easy to obtain in patients with SLE, besides the possibility of being able to correlate its levels with important serum parameters of patients with the autoimmune disease.

Key-words: Lupus Erythematosus, Systemic; Leptin; Saliva; Periodontal Diseases.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	9
2. CAPÍTULO I.....	14
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
<b>Desenho do estudo e seleção da amostra .....</b>	<b>17</b>
<b>Avaliação clínica e parâmetros séricos .....</b>	<b>17</b>
<b>Avaliação periodontal .....</b>	<b>17</b>
<b>Coleta de saliva e análise da leptina salivar .....</b>	<b>18</b>
<b>Modelo Teórico.....</b>	<b>18</b>
<b>Análise estatística .....</b>	<b>19</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>25</b>
<b>TABELAS E FIGURAS .....</b>	<b>30</b>
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	37
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>
<b>APÊNDICE 1- Termo de Compromisso Livre e Esclarecido.....</b>	<b>43</b>
<b>APÊNDICE 2- Ficha de Coleta de Dados .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO 1 – Parecer do Comitê Ético em Pesquisa.....</b>	<b>47</b>
<b>ANEXO 2 – Normas do Periódico The Journal of Rheumatology .....</b>	<b>50</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica autoimune, caracterizada pela produção de células de defesa que agem contra antígenos nucleares e citoplasmáticos do próprio organismo, capaz de afetar diferentes órgãos, podendo levar ao comprometimento sistêmico de forma isolada ou generalizada (FORTUNA e BRENNAN, 2013; WANG et al., 2017). A etiopatogenia da doença permanece ainda desconhecida, sendo sugerido uma associação de efeitos genéticos, hormonais e ambientais (FORTUNA e BRENNAN, 2013).

O LES parece afetar toda a população, com diferentes idades, sexo e raças. Contudo há uma prevalência maior entre mulheres, negras e com predileção entre a terceira e sexta década de vida, sendo que o lúpus é diagnosticado mais precocemente em mulheres negras (FELDMAN et al., 2013; FORTUNA e BRENNAN, 2013; PONS-ESTEL et al., 2010). Discrepâncias nas taxas epidemiológicas do LES podem ser oriundas de diferentes causas, que incluem principalmente fatores genéticos e hormonais (LIM et al., 2014), e ainda a dificuldade de diagnóstico pela ausência de uma metodologia universal entre os diversos estudos (FORTUNA e BRENNAN, 2013).

O LES é uma doença extremamente heterogênea do ponto de vista clínico, pois caracteriza-se por períodos alternados de remissão e exacerbação, podendo apresentar sinais e sintomas que afetam diferentes órgãos e em alguns casos apenas algumas características estão presentes na apresentação da doença, podendo se assemelhar a outras doenças autoimunes, infecciosas ou hematológicas (BERTSIAS et al., 2013), o que pode dificultar o diagnóstico da doença.

As manifestações da doença são expressas em todo organismo, sendo perceptível clinicamente ao envolver a pele e a mucosa bucal. Os sintomas mais comuns são: febre, fadiga, perda de peso no estágio inicial da doença, *rash* malar, *rash* discóide, fotossensibilidade, úlceras orais, artrite, pleurisia, alopecia, anemia hemolítica, pericardite, doença renal e doença neurológica (LI et al., 2017; PETRI et al., 2012).

Em 1982, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) propôs critérios para estabelecer um diagnóstico definitivo de LES (TAN et al., 1982) e em 1997 estes critérios foram reavaliados (HOCHBERG, 1997), contudo não validados. De acordo com os critérios ACR (HOCHBERG, 1997; TAN et al., 1982), uma pessoa para satisfazer o diagnóstico de LES deve apresentar 4 dos 11 critérios estabelecidos, podendo se apresentar de forma seguida ou simultaneamente, durante o período de observação.

Em 2012, foram propostos novos critérios pela SLICC (*The Systemic Lupus International Collaborating Clinics*), no qual no processo de validação foi obtido maior sensibilidade, mas menor especificidade em comparação aos métodos ACR. De acordo com o método, para a classificação do LES, o paciente deve satisfazer pelo menos 4 critérios, incluindo pelo menos um critério clínico e um critério imunológico ou o paciente deve ter nefrite lúpica comprovada por biópsia (PETRI et al., 2012). Apesar da diferença de diagnóstico entre os métodos ACR e SLICC, os critérios clínicos e imunológicos são considerados obrigatórios para estabelecer um diagnóstico definitivo de LES (FORTUNA e BRENNAN, 2013).

<b>Critério ACR para LES</b>	<b>Critério SLICC para LES</b>
<b>Critério Clínico</b>	<b>Critério Clínico</b>
Rash malar	Lúpus cutâneo agudo ou subagudo
Fotossensibilidade	
Rash Discóide	Lúpus cutâneo crônico
Úlcera oral	Úlcera oral/nasal
	Alopecia não cicatrizante
Artrite	Doença articular
Serosite	Serosite
Disfunção renal	Renal
Distúrbio neurológico	Neurológico
Disfunção hematológica	Anemia hemolítica
	Leucopenia
	Trombocitopenia
<b>Critério Imunológico</b>	<b>Critério Imunológico</b>
Anticorpo antinuclear (ANA)	Anticorpo Antinuclear (ANA)
Disordem Imunológica	Anti-cadeia-dupla DNA
	Anti-Sm
	Anticorpo Anti-fosfolípídeo
	Baixo Complemento
	Teste de Coombs Direto

**Figura 1.** Diferença entre os critérios clínicos e imunológicos proposto pelo Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e *The Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC). Adaptado de Fortuna & Brennan, 2013.

O sistema imunológico tem a função de coordenar as respostas contra microrganismos patogênicos, ao mesmo tempo que regula as respostas contra as próprias células do organismo e aos microrganismos comensais (SAKAGUCHI et al., 2008). Quando ocorrem falhas neste mecanismo de resposta imunológica, aumenta a propensão

para inflamações crônicas e para a resposta autoimune. A resposta autoimune é caracterizada pela disfunção do sistema imunológico adquirido (adaptativo), sendo expressa quando o sistema imunológico está hiperativo, podendo atingir diversas células, órgãos e sistemas saudáveis do organismo (RICHARD-EAGLIN e SMALLHEER, 2018).

O mecanismo patológico do LES é complexo, estando a lesão tecidual associada tanto a fatores genéticos, hormonais, ambientais, assim como associada a produção de células da imunidade inata (células dendríticas autorreativas), imunidade adaptativa (células T CD4 e células B) e citocinas inflamatórias (JOO et al., 2012; SUN et al., 2012). Além disso, estudos também vem apontando a associação das adipocinas na resposta inflamatória da doença (CHOUGULE et al., 2018; WANG et al., 2017).

As adipocinas são mediadores endócrinos secretados predominantemente pelo tecido adiposo (LEE e SONG, 2018). Exercem função importante no metabolismo da glicose e da gordura, na homeostase vascular, em respostas imunes e processos inflamatórios (VLAICU et al., 2016). De acordo com a forma de ação sobre a inflamação, essas adipocinas podem ser classificadas em dois tipos: as que agem principalmente como efeitos pró-inflamatórios, como leptina e resistina; e outras que exercem predominantemente efeitos anti-inflamatórios, como adiponectina (DIAZ-RIZO et al., 2017; HUTCHESON et al., 2015; ZHU et al., 2017).

A leptina, apesar de ser proveniente principalmente do tecido adiposo está envolvida em inúmeras funções fisiológicas que extrapolam sua função no metabolismo de gordura corporal, como por exemplo, na angiogênese, fertilidade, metabolismo ósseo, na resposta inflamatória e imune (CHEN e YANG, 2015; LI et al., 2016). A leptina exerce efeito pró-inflamatório ao aumentar a atividade de fagocitose dos macrófagos e ainda, por estimular a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, como Interleucina-1 (IL-1), Interleucina – 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) (LI et al., 2017).

Dentre as adipocinas, a leptina tem sido relatada como fator importante para a patogênese do LES, devido sua função na perpetuação da cadeia inflamatória na doença (DIAZ-RIZO et al., 2017; FUJITA et al., 2014). Estudos têm demonstrado uma importante relação entre o nível de leptina e o LES, tendo sido observado que os níveis de leptina no sangue de pacientes com LES se encontram elevados quando comparado a pacientes saudáveis (LEE e SONG, 2018; WISŁOWSKA et al., 2008).

Além da alteração do nível de leptina pela presença ou ausência do LES, quando avaliado o nível de leptina sérica entre os pacientes com a doença, há uma relação positiva

entre a atividade da doença e o nível do marcador (WANG et al., 2017). No estudo desenvolvido por Lourenço et. al. (2016) foi demonstrado que não apenas há uma relação entre a presença de LES e o aumento da leptina sérica, como também que o bloqueio da leptina promove a redução da progressão da doença (LOURENÇO et al., 2016).

Como tratado anteriormente, o LES acomete diferentes órgãos e pode levar ao comprometimento generalizado do sistema. Dentre as manifestações do lúpus, a nefrite lúpica é uma das manifestações mais importantes, pois é responsável por grande parte da morbidade e mortalidade da doença (ELMOUGY et al., 2015; HANLY et al., 2015). Para avaliação e acompanhamento da taxa de filtração glomerular e dos danos renais, os marcadores avaliados são a creatinina sérica e a creatinina urinária (HUTCHESON et al., 2015).

A leptina não é excretada pelo rim, mas sim ligada pela megalina nos túbulos renais e metabolizada, desta forma muitas vezes é indetectável na urina de pacientes (HUTCHESON et al., 2015). Sendo a leptina metabolizada principalmente pelas células renais, o acometimento renal pode resultar em diminuição da depuração da leptina e consequentemente o aumento do nível sérico da mesma, tanto em pacientes com LES, como em pacientes saudáveis (DIAZ-RIZO et al., 2017; HUTCHESON et al., 2015; LIM et al., 2015).

Apesar do sangue ainda ser o método mais utilizado para avaliar biomarcadores sistêmicos, a saliva vem emergindo como um fluido de potencial diagnóstico de doenças bucais e sistêmicas (PURWAR et al., 2015a; STRECKFUS; BIGLER, 2002). A saliva é produzida por glândulas salivares maiores e ainda por glândulas salivares menores (MAHESWARI et al., 2018). Assim como o sangue, ela é um fluido complexo contendo uma variedade de enzimas, proteínas, hormônios, anticorpos e constituintes antimicrobianos, muito destes provenientes do sangue, que entram na saliva pela transmissão celular, refletindo, portanto, o estado sistêmico do corpo (LEE e WONG, 2009).

Além disso, também tem sido demonstrado relação da leptina circulante e a expressão da doença periodontal (KARTHIKEYAN; PRADEEP, 2007a; ZIMMERMANN et al., 2013), tendo sido observado um aumento do nível de leptina sérica em pacientes com doença periodontal (DP) (ZHU et al., 2017). A DP é uma doença comum a cavidade bucal, caracterizada pela interação entre bactérias e o sistema imune do hospedeiro, resultando em um processo inflamatório, que por sua vez pode levar a lesões irreversíveis no tecido de suporte periodontal e posterior perda dentária (AL-

MUTAIRI et al., 2015; CORRÊA et al., 2017). Além disso, a DP tem sido associada a doenças sistêmicas como diabetes, doença renal, artrite reumatoide e até mesmo com o LES (CORRÊA et al., 2017; FABRI et al., 2014; FANG et al., 2015; SAITO et al., 2017).

A saliva quando comparada ao sangue, pode ser coletada de maneira fácil e não invasiva, com ou sem estimulação, e coletada em tubo de ensaio, com facilidade de armazenamento e manipulação. Além disso, possui como vantagem o baixo custo e ainda a proteção do clínico por apresentar risco significativamente menor de contrair doenças (GOHEL, JONES e WEHLER, 2018).

Anteriormente, a validade da análise de biomarcadores na saliva era questionada por se apresentarem em menor concentração quando comparada ao sangue, contudo as novas técnicas e tecnologias desenvolvidas tem permitido maior sensibilidade dos testes, não sendo a baixa concentração de marcadores um fator de limitação do uso de saliva (LEE e WONG, 2009). Estudos tem demonstrado que a saliva é eficaz para o diagnóstico de doenças não só da cavidade bucal como também de doenças sistêmicas, incluindo doenças autoimunes, endócrinas, câncer, doença renal, doença cardiovascular e psiquiátrica (CHATZOPOULOS et al., 2018; DOĞAN et al., 2016; MAHESWARI et al., 2018; STANESCU et al., 2018; STRECKFUS e BIGLER, 2002; VON BÜLTZINGSLÖWEN et al., 2007).

Compreendendo-se o papel da leptina em doenças inflamatórias e sua importância na patogênese do Lúpus Eritematoso Sistêmico e alterações sistemicamente associadas, assim como com a doença periodontal, no capítulo I será apresentado um estudo transversal, cujo objetivo foi testar a hipótese de que o nível de leptina salivar está alterado em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico, independente da presença de doença periodontal, buscando, através do uso da saliva, facilitar o diagnóstico e acompanhamento da doença.

Além de avaliar o nível de leptina salivar em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico foi ainda objetivo do estudo correlacionar o nível da leptina salivar a parâmetros séricos: colesterol, triglicérides, glicemia, creatinina, clearance de creatinina, uréia, transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), leucócito, hemoglobina e plaquetas dos pacientes; e periodontais: profundidade de sondagem, nível clínico de inserção e índice de sangramento gengival dos pacientes com a doença autoimune.

## 2. CAPÍTULO I

### **Avaliação da concentração de leptina salivar e sua correlação com parâmetros séricos e periodontais em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico**

Artigo formatado conforme normas do periódico *The Journal of Rheumatology*.

Leslie A. da Silva\*; Consuelo P. C. Marques\*.; Mayra M. Franco\*; Vandilson P. Rodrigues\*; Bruno B. Benatti\*

**Palavras-chave:** Lúpus Eritematoso Sistêmico, Leptina, Saliva, Doenças Periodontais

\* School of Dentistry, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil.

**Fonte de apoio:** Este artigo foi parcialmente suportado pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), através dos processos n° 01594/12 e n° 00670/214.

**Conflitos de Interesse:** Os autores declaram não apresentar nenhum conflito de interesse.

Leslie Alves da Silva, MSc, Federal University of Maranhão.

Consuelo Penha Castro Marques, MSc, PhD, Adjunct Professor, Federal University of Maranhão.

Mayra Moura Franco, MSc, PhD, Federal University of Maranhão.

Vandilson Pereira Rodrigues, MSc, PhD, Adjunct Professor, Federal University of Maranhão.

Bruno Braga Benatti, MSc, PhD, Associate Professor, Federal University of Maranhão.

**Correspondence:** B. B. Benatti, Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Avenida dos Portugueses, s/n, Campus Universitário do Bacanga, CEP: 65.085-580, São Luís, MA, Brazil. Fax: +55 98 33018572. E-mail: bbbenatti@gmail.com

**A short running head:** Leptin in patients with SLE

### RESUMO

O objetivo do estudo foi investigar os níveis salivares de leptina e correlacioná-los com os parâmetros séricos de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Realizou-se um estudo transversal com uma amostra de 38 pacientes com LES e 29 sem LES. Os dados referentes aos parâmetros séricos, como hemograma e lipidograma, foram coletados dos exames laboratoriais do paciente anexados na ficha médica do paciente com LES. Os parâmetros periodontais avaliados foram: profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e índices de sangramento gengival. A saliva foi coletada pelo método de saliva total estimulada e a análise da concentração da leptina salivar foi feita através do Luminex MAGPIX®. O teste T de Student foi utilizado na análise comparativa da



concentração de leptina salivar entre os grupos com LES e sem LES. O coeficiente de Spearman (Rs) foi calculado para estimar a correlação entre a leptina salivar e os parâmetros séricos e periodontais. No modelo teórico proposto para estudo da alteração do nível de leptina salivar em decorrência do LES, a doença periodontal foi testada como variável mediadora. O modelo foi testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais. O nível de significância adotado foi de 5%. Observou-se que o grupo com LES apresentou nível de leptina salivar mais baixo que o grupo controle e que o LES apresentou efeito inverso e independente na leptina salivar (Estimativa = -0,289; P = 0,023). Os dados mostraram que a concentração salivar de leptina apresentou correlação negativa com o triglicérides, creatinina, clearance de creatinina, leucócito e positiva com o colesterol e, não apresentou correlação com os parâmetros periodontais. Os achados sugerem que a presença de LES pode alterar o nível salivar de leptina, apontando-se a leptina como um promissor marcador salivar, de baixo custo e facilidade de obtenção em pacientes com LES.

Palavras-chave: Lúpus Eritematoso Sistêmico, Leptina, Saliva, Doenças Periodontais

## **INTRODUÇÃO**

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença crônica autoimune caracterizada pela disfunção do sistema de defesa do organismo, no qual os anticorpos são produzidos de forma desequilibrada agindo contra os próprios órgãos do indivíduo (1). Embora as causas da doença ainda não sejam claras, há consenso de que a doença é decorrente tanto de fatores genéticos, quanto ambientais, juntamente com a atividade de alguns hormônios que podem desempenhar papel fundamental para a expressão da doença (2,3).

Já a Doença Periodontal (DP) é uma doença relacionada a interação entre as bactérias e as respostas imunes do hospedeiro. Resultando em um processo inflamatório, que por sua vez pode levar a lesões irreversíveis no tecido de suporte periodontal e posterior perda dentária (4,5).

As manifestações clínicas do LES são variadas, podendo envolver qualquer órgão, de forma isolada ou simultaneamente, em qualquer período da doença (3). Por ser uma doença multissistêmica e com apresentação clínica variável, o diagnóstico de LES pode ser complexo, principalmente na avaliação inicial, devido a dificuldade de avaliar de forma rápida e precisa a inflamação associada ao LES (6,7).

A leptina é uma adipocitocina, secretada em maior quantidade pelo tecido adiposo e em menor quantidade pela placenta (8), células T (9), osteoblastos (10) e epitélio gástrico (11). É considerada como uma citocina pró-inflamatória, pois desempenha um papel fundamental na modulação das respostas imunes e no desenvolvimento e manutenção da inflamação (12,13). Além disso, possui estrutura homóloga à cadeia longa de citocinas, como Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interleucina 6 (IL-6) (14).

Há evidências do aumento significativo do nível sérico de leptina em pacientes com LES quando comparados a pacientes sem LES (1,2,15) e ainda, que o bloqueio da leptina promove a redução da progressão da doença (2). Assim como também tem sido demonstrado o aumento da leptina circulante em pacientes com DP, estando a leptina está associada com o aumento do TNF- $\alpha$  induzido pelo lipopolissacarídeo de *Prevotella intermedia* (12,16).

A leptina desempenha um papel importante na regulação das respostas neuroendócrinas e imunes dos pacientes com LES, pois afeta tanto a imunidade inata como a imunidade adaptativa (15,17,18) e ainda está relacionada a outras complicações associadas a expressão da doença, como comprometimento renal e cardíaco (19–21).

Tendo em vista que a saliva é um fluido biológico facilmente acessível e contém uma série de biomoléculas, a saliva emergiu como um fluido potencial para o diagnóstico e avaliação tanto de doenças bucais, como doença periodontal e tumores de glândulas salivares (14,22); quanto sistêmicas, como obesidade, síndrome metabólica, doença renal, e até mesmo com o LES (23–26). Contudo, mesmo diante da evidência da importância da leptina para a doença autoimune, ainda não há estudos que avaliem sua concentração na saliva de pacientes com o LES.

Diante do exposto, este estudo se justifica pela necessidade da identificação de parâmetros do nível de leptina salivar em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico, com o objetivo de facilitar o diagnóstico e a avaliação da atividade inflamatória da doença. Desta forma, este estudo se propõe a avaliar o nível de leptina salivar em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, e correlacioná-lo com parâmetros séricos e periodontais de pacientes com a doença autoimune.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Desenho do estudo e seleção da amostra**

Trata-se de um estudo transversal, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade federal do Maranhão, sob o parecer 460.888, no qual foram selecionados 67 participantes sendo destes, 38 indivíduos com LES e 29 sem LES.

Todos os pacientes foram selecionados em São Luís do Maranhão, cidade do Nordeste do Brasil, no Hospital Universitário Presidente Dutra, referência no tratamento de pacientes com LES. Os pacientes selecionados apresentavam idades entre 18 e 60 anos. Foram excluídos da amostra indivíduos fumantes ou ex-fumantes em um período inferior a 10 anos, usuários de aparelho ortodôntico, participantes que realizaram tratamento periodontal nos 6 meses anteriores a pesquisa, aqueles que tinham doenças infecciosas clinicamente evidentes, presença de nódulos e/ou edema na região de glândulas salivares (avaliado através do exame visual e palpação digital), gestantes, lactantes e participantes que tenham feito uso de antibióticos nos 6 meses anteriores a pesquisa. Entre os pacientes sem LES foram excluídos pacientes com doenças sistêmicas crônicas como diabetes, hipertensão e até mesmo pacientes com grau I ou mais de obesidade, Índice de Massa Corpórea (IMC)  $\geq 25$ , de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS)(27).

### **Avaliação clínica e parâmetros séricos**

A avaliação e o registro da história médica, assim como a relação dos medicamentos utilizados pelos pacientes foram realizados através de questionário individual e também através da coleta de dados presentes no prontuário de cada paciente. Os valores dos marcadores séricos foram extraídos do exame laboratorial do paciente anexado à ficha médica, tais como: triglicérides (TG), colesterol, glicemia, creatinina, clearance creatinina, uréia, transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), leucócito, hemoglobina e plaquetas.

### **Avaliação periodontal**

O exame periodontal foi realizado por examinadores, previamente treinados, sob luz artificial, utilizando espelho clínico e uma sonda milimetrada Williams (Trinity, São Paulo, Brasil) para aferição das medidas de profundidade de sondagem (PD), Nível de Inserção Clínica (CAL), Índice de Sangramento Gengival (BOP) e Índice de Placa Visível (VPI). A concordância intra-examinador e interexaminador foi aferida pelo Kappa, no qual obteve-se, Kappa=0,84, para PD e Kappa=0,81, para CAL. O exame periodontal foi

realizado em todos os dentes presentes, através da aferição em 06 sítios (disto-vestibular, centro-vestibular, méso-vestibular, disto-lingual, centro-lingual e méso-lingual) (28). Foram registrados os seguintes parâmetros: PD, distância (em mm) da margem gengival ao ponto mais apical do fundo do sulco ou da bolsa; CAL, distância (em mm) da junção cimento-esmalte até o fundo do sulco gengival ou da bolsa; VPI registrado para cada indivíduo como o percentual de superfícies dentárias com biofilme visível; e BOP. O BOP e VPI, avaliaram a presença ou ausência de inflamação ou placa em padrão binomial (dicotômico), da seguinte forma: sangramento de margem gengival e placa visível – escore 1 e ausência de sangramento e sem placa visível - escore 0 (29). Foram considerados para diagnóstico de periodontite crônica os pacientes que apresentarem  $CAL \geq 6$  mm em 2 dentes e 1 ou mais sítios com  $PD \geq 5$ mm.(30).

### **Coleta de saliva e análise da leptina salivar**

As amostras de saliva foram obtidas através do método de coleta de saliva estimulada pela mastigação de um pedaço de látex de 2cm, amarrado a um pedaço de 25cm de fio dental para evitar deglutição acidental (31). Foi realizada a adição de coquetel inibidor de protease (SIGMA-ALDRICH, EUA) às salivas coletadas, sendo em seguida armazenadas à temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. A concentração de leptina na saliva foi mensurada através do analisador automático MAGPIX® System (Merck Millipore, EUA), utilizando o kit HBNMAG-51K, Milliplex MAP (Millipore, Massachusetts, EUA) seguindo as instruções do fabricante e com avaliação em duplicata das amostras.

### **Modelo Teórico**

Um modelo teórico foi construído para explorar o potencial efeito da presença ou ausência do LES, assim como o efeito da doença periodontal sobre as alterações na concentração de leptina salivar, assim como têm sido relatado no sangue (12,32).

No modelo teórico, a variável resposta foi o nível de leptina salivar (LEPTIN), e as variáveis explicativas foram idade (AGE), lúpus eritematoso sistêmico (LES) e a variável latente condição periodontal (PERIO), formada pelas variáveis: média da profundidade de sondagem (pd), média do nível de inserção clínica (cal) e índice de sangramento gengival (bop) (Figura 1).

Variáveis latentes são variáveis não observáveis, construídas a partir de indicadores que devem medir o mesmo constructo, reduzindo assim, o erro de medição

de variáveis que são difíceis de definir ou diagnosticar (33). Como a doença periodontal é uma doença bucal de diagnóstico complexo por levar em consideração a associação de diferentes parâmetros para o diagnóstico da doença, como profundidade de sondagem, nível de inserção clínico e índice de sangramento gengival (34,35), neste estudo foi construído a variável latente PERIO a partir da média dos parâmetros avaliados, sendo consideradas como variáveis contínuas.

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS versão 18.0 (IBM, Chicago, IL, USA). Inicialmente foi realizada a estatística descritiva utilizando medidas de frequência, tendência central e dispersão. O teste de Lilliefors foi utilizado para aferir a normalidade da distribuição das variáveis numéricas. O teste T de Student foi utilizado na análise comparativa da concentração de leptina salivar entre os grupos com LES e sem LES. O teste Mann-Whitney foi utilizado para comparar a média de leptina salivar entre os grupos de medicamentos. Além disso, o coeficiente de Spearman foi calculado para estimar a correlação entre a leptina salivar e os parâmetros séricos e periodontais.

Para o ajuste do modelo, foi empregada modelagem de equações estruturais que investigou a associação entre LES, doença periodontal e leptina. A modelagem de equações estruturais é um método estatístico que estima simultaneamente uma série de equações de regressão múltipla, avaliando efeitos diretos, indiretos e totais de variáveis sobre um desfecho com a inclusão de variáveis latentes não diretamente observadas (33).

Na análise da estimativa padronizada para construção da variável latente, considerou-se carga fatorial superior a 0.30 com  $p < 0.05$  como indicativa de alta correlação entre a variável indicadora e o construto (33).

Os recursos do software Mplus versão 7.0 (Muthén & Muthén, Los Angeles, CA, EUA) foram utilizados para a análise da equação estrutural. Os valores das estimativas padronizadas foram mensurados de forma ajustada para determinar os efeitos no modelo. Para determinar bom ajuste do modelo, os seguintes índices foram considerados: um p-valor maior que 0.05 para o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ); TLI (Tucker Lewis Index) e CFI (Comparative Fit Index) maior que 0.95, o RMSEA (Root Mean Square Error of Approximation) menor que 0.05, e SRMR (Standardized Root Mean Square Residual) menor que 0.05. O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%.

## RESULTADOS

Um total de 38 pacientes com LES do sexo feminino (Grupo LES), com média de idade de  $39,6 \pm 10,5$  anos, e 29 sem LES, 20 mulheres e 9 homens, com média de idade de  $46,3 \pm 11,8$  anos foram incluídos neste estudo. O IMC dos pacientes do grupo de pacientes com LES foi 63,2% menor que 25, e 36,8% maior ou igual a 25, não sendo, contudo, correlacionado ao nível de leptina salivar ( $P = 0.385$ ).

Na Figura 2 é possível observar que os pacientes com LES apresentaram nível de leptina salivar mais baixo que pacientes sem LES ( $P < 0.05$ ). Foi realizada também a análise de correlação entre os níveis salivares de leptina com a concentração dos marcadores séricos coletados a partir do hemograma dos pacientes com LES e também com os parâmetros periodontais avaliados (Tabela 1). Os dados mostraram que a concentração salivar de Leptina apresentou correlação inversamente proporcional com o triglicérides ( $R_s -0.534$ ;  $P=0.003$ ), creatinina ( $R_s -0.331$ ;  $P=0.048$ ), clearance de creatinina ( $R_s -0.445$ ;  $P=0.025$ ) e leucócito ( $R_s -0.331$ ;  $P=0.041$ ), além de uma correlação positiva com o colesterol ( $R_s 0.434$ ;  $P=0.016$ ). As variáveis periodontais não apresentaram correlação significativa com o nível de leptina salivar ( $P>0.05$ ).

A Tabela 2 apresenta as médias de nível de leptina entre os grupos de pacientes com LES por tipo de medicamento utilizado. Observou-se que não houve diferenças no nível de leptina entre os pacientes que utilizavam ou não os medicamentos analisados neste estudo.

A Figura 3 e Tabela 3 apresentaram os resultados da análise de equação estrutural. Notou-se que cada indicador da variável latente doença periodontal apresentou carga fatorial superior a 0.3 e  $P<0.001$ . Observou-se que a variável idade apresentou efeito inverso no LES e direto na condição periodontal. O LES apresentou efeito inverso na condição periodontal. Sobre efeitos diretos na leptina salivar, principal objetivo desta análise, observou-se que apenas o LES apresentou efeito inverso e independente na leptina salivar (Estimativa =  $-0.289$ ;  $P = 0.023$ ).

O modelo apresentou índices de ajuste satisfatórios exemplificados RMSEA de 0.004 ( $< 0.05$  indica um bom ajuste); CFI de 0.938 ( $> 0.90$  indica um bom ajuste), SRMR de 0.036 ( $< 0.05$  indica um bom ajuste) e apenas o TLI de 0.84, ligeiramente fora do padrão recomendado ( $> 0.90$  indica um bom ajuste) (Tabela 4).

## DISCUSSÃO

A leptina tem sido relatada como importante biomarcador relacionado ao aumento do efeito autoimune do LES (2). Nossos resultados mostraram uma diminuição significativa no nível de leptina salivar em indivíduos com LES em comparação a indivíduos sem LES e ainda que o LES foi capaz de reduzir o nível de leptina salivar independente da presença de fatores locais, como a doença periodontal (DP).

A leptina é uma adipocitocina, secretada em maior quantidade pelo tecido adiposo. Sendo assim, há uma relação direta entre a gordura corporal e o nível de leptina circulante independente da presença de outras doenças inflamatórias (36,37). Apesar da importância do tecido adiposo na expressão de leptina circulante, no nosso estudo, o IMC não teve correlação com o nível de leptina salivar nos pacientes com LES, o que corrobora com estudos que identificaram a alteração da leptina em pacientes com LES, independente de outros fatores como idade, sexo e IMC (1,21,38).

Recentemente, a leptina foi classificada como uma citocina por apresentar semelhanças estruturais com a cadeia longa da família de citocinas helicoidais, que inclui IL-6, IL-11 e TNF- $\alpha$  (39,40). As interações entre leptina e citocinas são bidirecionais e ambas se estimulam. A leptina estimula o sistema imunológico, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias e a fagocitose por macrófagos. Enquanto que as citocinas pró-inflamatórias aumentam a síntese e a liberação de leptina, o que, por sua vez, ajuda a perpetuar a alça da inflamação crônica (40,41).

Sabe-se da ampla escala de medicamentos utilizados pelos pacientes com LES, e uso excessivo de glicocorticoides para ação anti-inflamatória e imunossupressora em pacientes com LES tem diversos efeitos colaterais, incluindo o aumento de peso, retenção de líquido e ainda ação direta sobre a leptina circulante (17,37). Contudo, no nosso estudo não foi observado a correlação dos medicamentos avaliados com o nível da leptina salivar.

O LES é uma doença crônica autoimune, de etiopatogenia ainda desconhecida (42), enquanto que a DP é uma doença multifatorial comum a cavidade bucal, relacionada a interação entre as bactérias e as respostas imunes do hospedeiro (4,5). Apesar de apresentarem etiologias diferentes, as duas doenças estão intimamente correlacionadas com a resposta imunológica e inflamatória do hospedeiro, apresentando níveis alterados de citocinas, o que pode justificar o caráter destrutivo das duas doenças (43–45).

Estudos têm demonstrado aumento significativo do nível de leptina no sangue de pacientes com LES em relação a pacientes sem LES, principalmente naqueles com moderada a alta atividade da doença (1,2,15). Assim como em pacientes com LES, a literatura mostra um aumento significativo da leptina sérica em pacientes com DP (12,14). Tem sido demonstrado que o controle do nível de leptina é capaz de controlar o caráter destrutivo das duas doenças (2,12,41).

No nosso estudo, observou-se que o nível de leptina salivar se encontrou reduzida nos pacientes lúpicos quando comparado aos pacientes com saúde sistêmica, e ainda uma relação negativa, estatisticamente significante, entre a doença autoimune e o nível de leptina salivar, apresentado no Modelo de Equações Estruturais (MEE). Na análise de correlação, os parâmetros periodontias não foram correlacionados com a leptina salivar, assim como no MEE a doença periodontal não foi relacionada ao marcador salivar avaliado. Tais resultados indicam que o LES é capaz de alterar o nível de leptina salivar, se sobrepondo a fatores locais que possam contribuir para a alteração da leptina em nível salivar.

Nosso estudo se contrapõe a literatura ao mostrar que não há uma diferença estatisticamente significava entre o nível de leptina salivar em indivíduos com ou sem doença periodontal. Na revisão sistemática e meta-análise desenvolvida por Zhu et. al. (2017), foi demonstrado o aumento significativo da leptina sérica em pacientes com doença periodontal, contudo após terapia periodontal, não foi observada a redução da leptina no sangue (12), o que pode sugerir que podem haver fatores sistêmicos capazes de alterar o nível de leptina que se sobrepõem a doença bucal.

O motivo para a redução do nível de leptina salivar neste grupo autoimune, quando se observa o aumento na leptina sérica, ainda não foi elucidado. No estudo desenvolvido por Johnson RB (2001) foi especulado que, durante a inflamação, a concentração de leptina salivar é diminuída como resultado da expansão da rede vascular causada pelo fator de crescimento endotelial vascular, podendo aumentar a taxa líquida de remoção de leptina dos tecidos gengivais e elevando os níveis de leptina sérica(46).

Outra justificativa pode ser baseada no fato da leptina se apresentar de forma diferente em diferentes partes do corpo, como demonstrado por Schapher et. al. (2009), que indicou que a leptina é secretada nas glândulas salivares como oligômeros (unidades finitas de monômeros unidas em cadeias), não sendo observado a quebra destas ligações em diferentes condições de desnaturação (22), enquanto que secretada como dímero no



trato gastrointestinal (47), apresentando portanto maior número de moléculas no resto do corpo quando comparado a boca.

Apesar do resultado significativo e demonstrado em duas formas diferentes de análise estatística, nosso estudo vai de encontro ao estudo de Stanescu et. al. (2018), que tinha por objetivo avaliar o potencial de marcadores salivares com relevância para a inflamação associada ao LES, incluindo a leptina, e que não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a leptina salivar dos pacientes do grupo caso e controle, ainda que o nível de leptina salivar tenha sido menor nos pacientes com LES (6). A diferença entre os resultados pode ser justificada pela amostra da população, já que o estudo referenciado avaliou 24 pacientes com LES e apenas 5 participantes do grupo controle, enquanto que nosso estudo comparou 38 participantes com LES e 29 sem LES e ainda o MEE nos permitiu avaliar os efeitos diretos e indiretos das variáveis sobre o desfecho.

Além da redução do nível de leptina em pacientes com LES, os dados do nosso estudo mostraram que a concentração salivar de leptina apresentou correlação negativa com creatinina, clearance de creatinina e leucócito. A creatinina e a clearance creatinina são taxas que se encontram frequentemente alteradas em pacientes com LES (19,48) e são utilizados para avaliar o dano renal, no qual o comprometimento do órgão é responsável pelo aumento de morbidade e mortalidade da doença (37,21).

Assim como doença renal, os pacientes com LES também tem maior suscetibilidade de desenvolver doenças cardíacas. O colesterol é um importante indicador de risco para a aterosclerose e, pacientes com LES tem a doença acelerada (21). A leptina tem sido associada com o aumento tanto do risco de desenvolvimento da aterosclerose, como com o aumento do colesterol (21,38,50), o que está de acordo com nosso estudo, em que foi observado uma correlação positiva significativa entre o colesterol e a leptina.

Já em relação ao nível de triglicérides, nosso estudo demonstrou uma correlação negativa entre a leptina salivar e o marcador sérico, o que vai de encontro a estudos que avaliam a correlação da leptina sérica e o TG na doença cardíaca (21,51). Contudo, outros estudos mostram que o aumento de leptina é capaz de reduzir a formação de TG em tecidos específicos como no pâncreas, fígado e músculo esquelético (52,53).

Por se tratar de um estudo transversal, nosso estudo teve a limitação dos dados terem sido coletados em um mesmo momento não podendo ser avaliado o grau de atividade do LES e ainda, por terem sido excluídos do grupo de pacientes sem LES todos os indivíduos que possuíam qualquer alteração sistêmica que pudesse comprometer a

comparação entre os grupos, o que colaborou para uma redução da amostra no grupo de pacientes com saúde sistêmica.

Como pontos fortes deste estudo, destaca-se a seleção aleatorizada da amostra que proveio do hospital de referência no tratamento de pessoas com LES do estado do Maranhão, eliminando possível viés na seleção dos participantes. Além disso, a utilização da MEE nos possibilitou em uma única análise, avaliar diferentes caminhos explicativos para a associação entre o LES e o nível da leptina salivar.

Assim, conclui-se que o LES é capaz de reduzir o nível de leptina salivar independente da expressão da doença periodontal. Além disso, nosso estudo contribui para o conhecimento ao mostrar que a leptina se apresenta como um promissor marcador da doença autoimune e de alterações séricas associadas ao LES.

## CONCLUSÃO

O nível de leptina salivar está reduzido em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico em relação a pacientes sistemicamente saudáveis, e esta redução não está associada à presença de doença periodontal. Além disso, com base nos resultados apresentados, aponta-se a leptina como um promissor marcador salivar, de baixo custo e facilidade de obtenção em pacientes com LES, além da possibilidade de correlação de seus níveis com importantes parâmetros séricos de pacientes com a doença.

**Agradecimento:** A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo bolsa fornecida durante o desenvolvimento (número do processo: 1669771).

## REFERÊNCIAS

1. Wang X, Qiao Y, Yang L, Song S, Han Y, Tian Y, et al. Leptin levels in patients with systemic lupus erythematosus inversely correlate with regulatory T cell frequency. *Lupus* 2017;26:1401-6.
2. Kyttaris VC, Krishnan S, Tsokos GC. Systems biology in systemic lupus erythematosus: Integrating genes, biology and immune function. *Autoimmunity* 2006;39:705-9.
3. Lourenço E V, Liu A, Matarese G, La Cava A. Leptin promotes systemic lupus erythematosus by increasing autoantibody production and inhibiting immune regulation. *Proc Natl Acad Sci* 2016;113:10637-42.
4. Al-Mutairi K, Al-Zahrani M, Bahlas S, Kayal R, Zawawi K. Periodontal findings in systemic lupus erythematosus patients and healthy controls. *Saudi Med J* 2015;36:463-8.
5. Corrêa MG, Sacchetti SB, Ribeiro FV, Pimentel SP, Casarin RCV, Cirano fabiano R, et al. Periodontitis increases rheumatic factor serum levels and citrullinated proteins in gingival tissues and alter cytokine balance in arthritic rats. *PLoS One* 2017;3:1-15.
6. Stanescu I-I, Calenic B, Dima A, Gugoasa LA, Balanescu E, van Staden R-IS, et al. Salivary biomarkers of inflammation in systemic lupus erythematosus. *Ann Anat* 2018;219:89-93.
7. Boodhoo KD, Liu S, Zuo X. Impact of sex disparities on the clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus. *Medicine* 2016;95.
8. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997;3:1029-33.
9. Sanna V, Di Giacomo A, La Cava A, Lechler RI, Fontana S, Zappacosta S, et al. Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses. *J Clin Invest* 2003;111:241-50.
10. Reseland JE, Gordeladze JO. Role of leptin in bone growth: central player or

- peripheral supporter? FEBS Lett 2002;528:40-2.
11. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau J-P, Bortoluzzi M-N, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998;394:790-3.
  12. Procaccini C, Jirillo E, Matarese G. Leptin as an immunomodulator. *Mol Aspects Med* 2012;33:35-45.
  13. Zhu J, Guo B, Gan X, Zhang L, He Y, Liu B, et al. Association of circulating leptin and adiponectin with periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health* 2017;17:1-14.
  14. Purwar P, Khan MA, Mahdi AA, Pandey S, Singh B, Dixit J, et al. Salivary and serum leptin concentrations in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2015;86:588-94.
  15. Lee YH, Song GG. Association between circulating leptin levels and systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Lupus* 2018;27:428-35.
  16. Zimmermann GS, Bastos MF, Gonçalves TED, Chambrone L, Duarte PM. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2013;84:624-33.
  17. Li H-M, Zhang T-P, Leng R-X, Li X-P, Li X-M, Liu H-R, et al. Emerging role of adipokines in systemic lupus erythematosus. *Immunol Res* 2016;64:820-30.
  18. Diaz-Rizo V, Bonilla-Lara D, Gonzalez-Lopez L, Sanchez-Mosco D, Fajardo-Robledo NS, Perez-Guerrero EE, et al. Serum levels of adiponectin and leptin as biomarkers of proteinuria in lupus nephritis. Gualillo O, editor. *PLoS One* 2017;12:e0184056.
  19. Fujita Y, Fujii T, Mimori T, Sato T, Nakamura T, Iwao H, et al. Deficient leptin signaling ameliorates systemic lupus erythematosus lesions in MRL/Mp-Fas lpr mice. *J Immunol* 2014;192:979-84.
  20. Lim CC, Teo BW, Shyong Tai E, Lim SC, Chan CM, Sethi S, et al. Elevated serum leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio is associated with chronic kidney disease in Asian adults. *PLoS One* 2015;10:e0122009.
  21. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho H, Oeser A, Raggi P, et al. Adipocytokines in

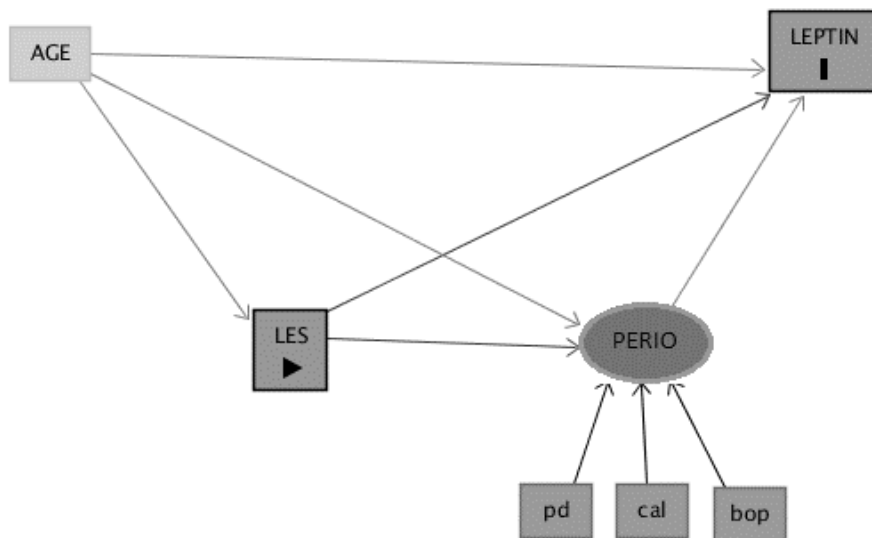
- systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus* 2009;18:3651-9.
22. Schapher M, Wendler O, Gröschl M, Schäfer R, Iro H, Zenk J. Salivary leptin as a candidate diagnostic marker in salivary gland tumors. *Clin Chem* 2009;55:914-22.
  23. Doğan GE, Toraman A, Şebin SÖ, Doğan Ç, Güngör A, Aksoy H, et al. Salivary IL-6 and IL-10 levels in subjects with obesity and gingivitis. *Am J Dent* 2016;29:261-5.
  24. Thanakun S, Watanabe H, Thaweboon S, Izumi Y. Comparison of salivary and plasma adiponectin and leptin in patients with metabolic syndrome. *Diabetol Metab Syndr* 2014;6:19.
  25. Frodge BD, Ebersole JL, Kryscio RJ, Thomas M V, Miller CS. Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. *J Periodontol* 2008;79:1913-9.
  26. Marques CPC, Victor EC, Franco MM, Fernandes JMC, Maor Y, de Andrade MS, et al. Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. *Cytokine* 2016;85:165-70.
  27. WHO. WHO | Overweight and obesity. World Health Organization (WHO) 2017.
  28. Susin C, Kingman A, Albandar JM. Effect of partial recording protocols on estimates of prevalence of periodontal disease. *J Periodontol* 2005;76:262-7.
  29. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975;25:229-35.
  30. Machtet EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of “Established Periodontitis.” *J Periodontol* 1992;63:206-14.
  31. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann NY Acad Sci* 1993;694:72-7.
  32. Lee YH, Song GG. Association between circulating leptin levels and systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Lupus* 2017;096120331772558.
  33. Kline RB. Principles and practice of structural equation modeling. Guilford

Publications 2015.

34. Khorsand A, Bayani M, Yaghobee S, Torabi S, Kharrazifard MJ, Mohammadnejhad F. Evaluation of salivary leptin levels in healthy subjects and patients with advanced periodontitis. *J Dent* 2016;1-9.
35. Ismail FB, Ismail G, Dumitriu AS, Baston C, Berbecar V, Jurubita R, et al. Clinical study identification of subgingival periodontal pathogens and association with the severity of periodontitis in patients with chronic kidney diseases: a cross-sectional study. *Biomed Res Int* 2015;2015.
36. Hou Y, Wang X, Zhang C-X, Wei Y-D, Jiang L-L, Zhu X-Y, et al. Risk factors of periodontal disease in maintenance hemodialysis patients. *Medicine* 2017;96:e7892.
37. Oeser A, Chung CP, Asanuma Y, Avalos I, Stein CM. Obesity is an independent contributor to functional capacity and inflammation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005;52:3651-9.
38. McMahon M, Skaggs BJ, Sahakian L, Grossman J, FitzGerald J, Ragavendra N, et al. High plasma leptin levels confer increased risk of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus, and are associated with inflammatory oxidised lipids. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1619-24.
39. Purwar P, Khan MA, Gupta A, Mahdi AA, Pandey S, Singh B, et al. The effects of periodontal therapy on serum and salivary leptin levels in chronic periodontitis patients with normal body mass index. *Acta Odontol Scand* 2015;73:633-41.
40. Paz-Filho G, Mastronardi C, Franco CB, Wang KB, Wong M-L, Licinio J. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2012;56:597-607.
41. Karthikeyan B V, Pradeep AR. Leptin levels in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *J Periodontal Res* 2007;42:300-4.
42. Fortuna G, Brennan MT. Systemic lupus erythematosus. *Epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. Dent Clin North Am* 2013;57:631-55.
43. Albuquerque CM, Cortinhas AJ, Morinha FJ, Leitão JC, Viegas CA, Bastos EM.

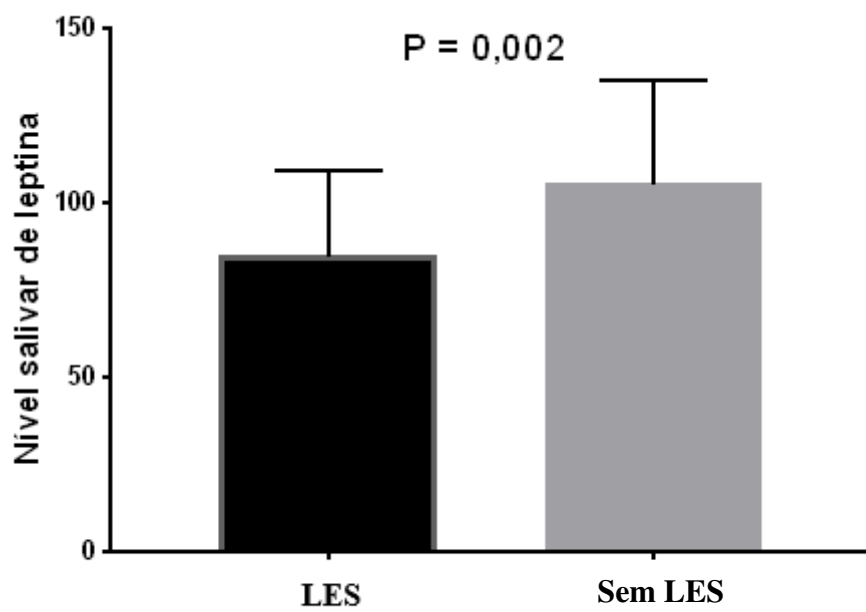
- Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012;39:9319-29.
44. Duarte PM, Bastos MF, Fermiano D, Rabelo CC, Perez-Chaparro PJ, Figueiredo LC, et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. *J Periodontol* 2015;50:18-27.
  45. Marques CPC, Maor Y, de Andrade MS, Rodrigues VP, Benatti BB. Possible evidence of systemic lupus erythematosus and periodontal disease association mediated by Toll-like receptors 2 and 4. *Clin Exp Immunol* 2016;183:187-92.
  46. Johnson RB, Serio FG. Leptin within healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol* 2001;72:1254-7.
  47. Cammisotto PG, Bukowiecki LJ, Deshaies Y, Bendayan M. Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes. *Biochem Cell Biol* 2006;84:207-14.
  48. Sharifian M, Shohadaee S, Esfandiar N, Mohkam M, Dalirani R, Akhavan Sepahi MA. Serum and urine leptin concentrations in children before and after treatment of urinary tract infection. *Iran J Kidney Dis* 2015;9:374-8.
  49. Lanata CM, Nititham J, Taylor KE, Chung SA, Torgerson DG, Seldin MF, et al. Genetic contributions to lupus nephritis in a multi-ethnic cohort of systemic lupus erythematosus patients. Zhou X, editor. *PLoS One* 2018;13:e0199003.
  50. Beltowski J. Leptin and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006;189:47-60.
  51. Vadacca M, Margiotta D, Rigon A, Cacciapaglia F, Coppolino G, Amoroso A, et al. Adipokines and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *J Rheumatol* 2009;36:295-7.
  52. Banks WA, Coon AB, Robinson SM, Moinuddin A, Shultz JM, Nakaoke R, et al. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes* 2004;53:1253-60.
  53. Vilà L, Roglans N, Baena M, Barroso E, Alegret M, Merlos M, et al. Metabolic alterations and increased liver mTOR expression precede the development of autoimmune disease in a murine model of lupus erythematosus. *PLoS One* 2012;7:e51118.

## TABELAS E FIGURAS



**Figura 1.** Modelo teórico do estudo (desfecho: alteração da LEPTIN). LEPTIN, leptina salivar; AGE, Idade; LES, Lúpus Eritematoso Sistêmico. PERIO, doença periodontal (variável latente); pd (média da profundidade de sondagem), cal (média de nível de inserção clínica) e bop (índice de sangramento gengival).





**Figura 2.** Análise comparativa do nível salivar de leptina entre pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e sem LES.

**Tabela 1.** Correlação entre os níveis salivares de leptina com a concentração dos parâmetros séricos e periodontais em pacientes com LES.

Variáveis	Leptina	
	Rs	<i>p-value</i>
<b>Parâmetros séricos</b>		
Colesterol Total	0,434	<b>0,016*</b>
Triglicérides	-0,534	<b>0,003*</b>
Glicemia	-0,298	0,122
Creatinina	-0,331	<b>0,048*</b>
Clearance de creatinina	-0,445	<b>0,025*</b>
Ureia	-0,324	0,065
TGO	0,167	0,322
TGP	0,002	0,989
Leucócito	-0,331	<b>0,041*</b>
Hemoglobina	-0,047	0,789
Plaqueta	-0,223	0,176
<b>Parâmetros periodontais</b>		
BOP	0,121	0,465
PD	0,069	0,680
CAL	0,009	0,950

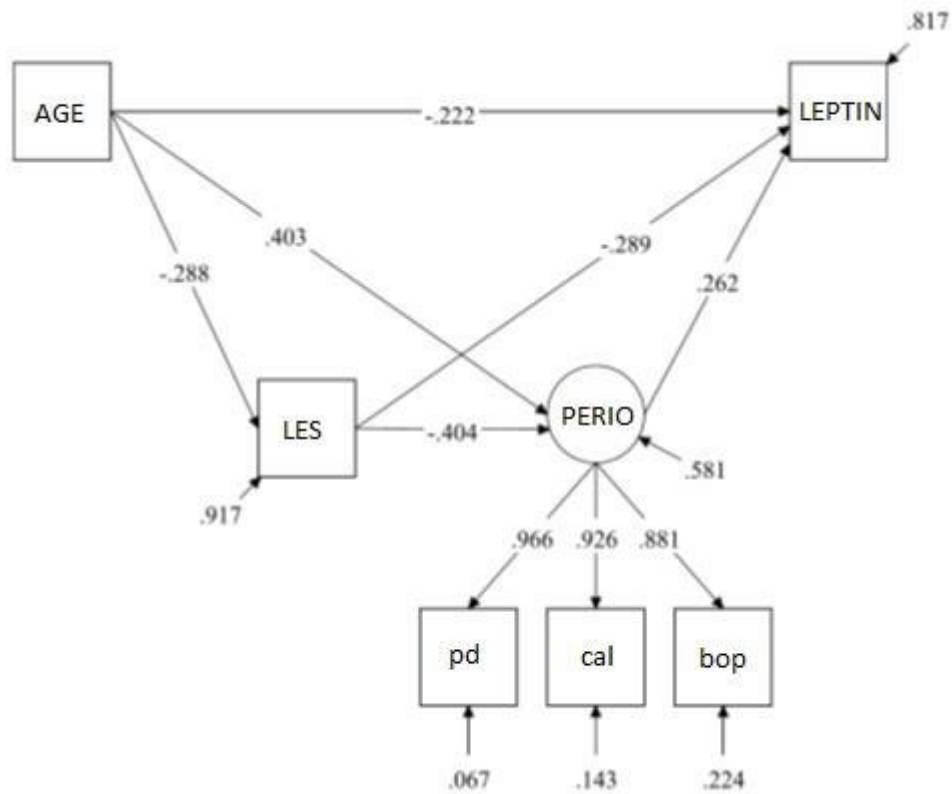
Rs, coeficiente de correlação de Spearman; TGO, transaminase glutâmico oxalacética; TGP, transaminase glutâmico pirúvica; BOP, índice de sangramento gengival; PD, profundidade de sondagem; CAL, nível de inserção clínica.

\* Correlação estatisticamente significante.

**Tabela 2.** Análise comparativa dos níveis de leptina salivar e uso de fármacos em pacientes com LES.

Variáveis	n (%)	Leptina	
		Média ± dp	p-valor
<b>Ácido Fólico</b>			
Não	32 (84,2)	87,3±24,8	0,078
Sim	6 (15,8)	70,7±17,8	
<b>Azatioprina</b>			
Não	21 (55,3)	90,5±24,9	0,101
Sim	17 (44,7)	77,5±22,3	
<b>Pulsoterapia</b>			
Não	33 (86,8)	86,4±23,9	0,377
Sim	5 (13,2)	73,5±27,3	
<b>Prednisolona</b>			
Não	8 (21,1)	95,4±17,4	0,098
Sim	30 (78,9)	81,8±25,4	
<b>Reuquinol</b>			
Não	19 (50,0)	85,2±26,5	0,897
Sim	19 (50,0)	84,2±22,6	
<b>Hidroclotiazida</b>			
Não	33 (86,8)	86,5±25,6	0,261
Sim	5 (13,2)	72,9±7,7	
<b>Losartana</b>			
Não	28 (73,7)	87,1±22,7	0,384
Sim	10 (26,3)	78,1±28,7	
<b>Omeprazol</b>			
Não	31 (81,6)	81,7±23,4	0,165
Sim	7 (18,4)	97,9±26,1	
<b>Hidroxicloroquina</b>			
Não	29 (76,3)	85,8±22,7	0,675
Sim	9 (23,7)	81,1±30,3	

n – frequência absoluta; (%) frequência relativa; dp – desvio padrão



**Figura 3.** Modelo teórico do estudo testado por meio da Modelagem de Equações Estruturais (desfecho: alteração da LEPTIN). LEPTIN, leptina salivar; AGE, Idade; LES, Lúpus Eritematoso Sistêmico. PERIO, doença periodontal (variável latente); pd (média da profundidade de sondagem), cal (média do nível de inserção clínica) e bop (índice de sangramento gengival).

**Tabela 3.** Carga fatorial das relações no modelo teórico proposto.

	<b>Estimativa padronizada</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>P valor</b>
Latente condição periodontal (perio)			
Profundidade de sondagem (pd)	0,966	0,018	<0,001*
Nível de inserção clínico (cal)	0,926	0,024	<0,001*
Índice de sangramento gengival (bop)	0,881	0,031	<0,001*
Efeito sobre LES (les)			
Idade (age)	-0,288	0,112	0,010*
Efeito sobre condição periodontal (perio)			
Idade (age)	0,403	0,098	<0,001*
LES (les)	-0,404	0,096	<0,001*
Efeito sobre leptina salivar (leptin)			
Condição periodontal (perio)	0,262	0,148	0,077
Idade (age)	-0,222	0,129	0,085
LES (les)	-0,289	0,127	0,023*

\*Efeito estatisticamente significativo (P valor < 0,05). Medidas de ajuste do modelo

**Tabela 4.** Índices de ajuste do modelo utilizado no estudo.

<b>Índices</b>	<b>Modelo</b>
$\chi^2$	21,882
Grau de liberdade	6
Valor de p	0,001
RMSE	
IC90%	0.114- 0.291
Valor de p	0,004
CFI	0,938
TLI	0,846
WRMR	0,036

CFI: índice de ajustamento comparativo; IC90%: intervalo de 90% de confiança; RMSE: raiz do erro quadrático médio de aproximação; TLI: índice Tucker-Lewis; SRMR: raiz do resíduo quadrático médio ponderado.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença crônica autoimune que apesar de rara, vem sendo observado um aumento na prevalência de casos. Tal aumento pode ser justificado pela maior sensibilidade de testes e melhoramento dos critérios de diagnóstico da doença, em que se deve levar em consideração critérios clínicos e imunológicos.

Sendo o LES uma doença caracterizada pela desregulação do sistema de defesa do organismo, é de suma importância a avaliação dos marcadores inflamatórios e imunológicos presentes na doença. Diante disso, a leptina se apresenta como uma citocina pró-inflamatória importante para a perpetuação da doença, sendo seu alto nível no sangue correlacionado com o aumento do papel destrutivo da doença e maior atividade da mesma.

Tendo a saliva emergido como um potencial fluido de diagnóstico, com vantagens que vão além do baixo custo e facilidade de coleta, no capítulo I analisou-se os níveis salivares de leptina em pacientes com LES e correlacionou-se sua concentração com os parâmetros séricos dos pacientes com a doença e ainda com parâmetros da doença periodontal. Os resultados do nosso estudo mostraram uma redução da concentração de leptina salivar em pacientes com LES independente da presença de doença periodontal e ainda foi demonstrado uma correlação positiva significativa com o nível de colesterol e negativa com triglicérides, creatinina, clearance creatinina e leucócitos.

Estes achados demonstram a capacidade de alteração do nível de leptina salivar pela presença do LES e ainda sua importância na avaliação de parâmetros séricos comuns a doença autoimune. Sendo indicado, inclusive, correlação com importantes marcadores da função renal, doença comum aos pacientes com LES, responsável pela elevação do índice de morbidade e mortalidade da doença e ainda marcadores de risco de doença cardíaca.

## REFERÊNCIAS

- AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **International Dental Journal**, v. 25, n. 4, p. 229–35, dez. 1975.
- AL-MUTAIRI, K. et al. Periodontal findings in systemic lupus erythematosus patients and healthy controls. **Saudi Medical Journal**, v. 36, n. 4, p. 463–468, 2015.
- ALBUQUERQUE, C. M. et al. Association of the IL-10 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. **Molecular Biology Reports**, v. 39, p. 9319–9329, 2012.
- BADO, A. et al. The stomach is a source of leptin. **Nature**, v. 394, n. 6695, p. 790–793, 20 ago. 1998.
- BANKS, W. A. et al. Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. **Diabetes**, v. 53, n. 5, p. 1253–1260, 2004.
- BELTOWSKI, J. Leptin and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 189, n. 1, p. 47–60, 2006.
- BERTSIAS, G. K. et al. Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: has the time come? **Nature Reviews Rheumatology**, v. 9, n. 11, p. 687–694, 2013.
- BOODHOO, K. D.; LIU, S.; ZUO, X. Impact of sex disparities on the clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus. **Medicine**, v. 95, n. 29, 2016.
- CAMMISOTTO, P. G. et al. Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 84, n. 2, p. 207–214, abr. 2006.
- CHATZOPOULOS, G. et al. Interleukin-6 and interleukin-10 gene polymorphisms and the risk of further periodontal disease progression. **Brazilian Oral Research**, v. 32, n. e11, p. 1–11, 2018.
- CHEN, X. X.; YANG, T. Roles of leptin in bone metabolism and bone diseases. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 33, n. 5, p. 474–485, 18 set. 2015.
- CHOUGULE, D. et al. Adipokine interactions promote the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. **Cytokine**, v. 111, n. August, p. 20–27, 2018.
- CHUNG, C. P. et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. **Lupus**, v. 18, n. 11, p. 3651–3659, 2009.
- CORRÊA, M. G. et al. Periodontitis increases rheumatic factor serum levels and citrullinated proteins in gingival tissues and alter cytokine balance in arthritic rats. **PloS One**, v. 3, n. 12, p. 1–15, 2017.
- DIAZ-RIZO, V. et al. Serum levels of adiponectin and leptin as biomarkers of proteinuria in lupus nephritis. **PloS One**, v. 12, n. 9, p. e0184056, 12 set. 2017.
- DOĞAN, G. E. et al. Salivary IL-6 and IL-10 levels in subjects with obesity and gingivitis. **American Journal of Dentistry**, v. 29, n. 5, p. 261–265, out. 2016.
- DUARTE, P. M. et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **Journal of Periodontal Research**, v. 50, n. 1, p. 18–27, fev. 2015.
- ELMOUGY, A. et al. Lupus nephritis in Egyptian children: a 16-year experience. **Journal of Nephrology**, v. 28, n. 5, p. 557–562, 2015.



FABBRI, C. et al. Periodontitis treatment improves systemic lupus erythematosus response to immunosuppressive therapy. **Clinical Rheumatology**, v. 33, n. 4, p. 505–509, 11 abr. 2014.

FANG, F. et al. The clinical response and systemic effects of non-surgical periodontal therapy in end-stage renal disease patients: A 6-month randomized controlled clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 42, n. 6, p. 537–546, 2015.

FELDMAN, C. H. et al. Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with medicaid coverage, 2000-2004. **Arthritis & Rheumatism**, v. 65, n. 3, p. 753–763, mar. 2013.

FORTUNA, G.; BRENNAN, M. T. Systemic lupus erythematosus. Epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. **Dental Clinics of North America**, v. 57, n. 4, p. 631–655, 2013.

FRODGE, B. D. et al. Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 10, p. 1913–9, 2008.

FUJITA, Y. et al. Deficient leptin signaling ameliorates systemic lupus erythematosus lesions in MRL/Mp-Fas lpr mice. **The Journal of Immunology**, v. 192, n. 3, p. 979–984, 2014.

GOHEL, V.; JONES, J. A.; WEHLER, C. J. Salivary biomarkers and cardiovascular disease: a systematic review. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 56, n. 9, p. 1432–1442, 2018.

HANLY, J. G. et al. The frequency and outcome of lupus nephritis: results from an international inception cohort study. **Rheumatology**, v. 55, n. 2, p. 252–262, 2015.

HOCHBERG, M. C. Updating the american college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 40, n. 9, p. 1725, set. 1997.

HOU, Y. et al. Risk factors of periodontal disease in maintenance hemodialysis patients. **Medicine**, v. 96, n. 35, p. e7892, set. 2017.

HUTCHESON, J. et al. Resistin as a potential marker of renal disease in lupus nephritis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 179, n. 3, p. 435–443, 2015.

ISMAIL, F. B. et al. Clinical study identification of subgingival periodontal pathogens and association with the severity of periodontitis in patients with chronic kidney diseases: a cross-sectional study. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

JOHNSON, R. B.; SERIO, F. G. Leptin within healthy and diseased human gingiva. **Journal of Periodontology**, v. 72, n. 9, p. 1254–1257, 1 set. 2001.

JOO, H. et al. Serum from patients with SLE instructs monocytes to promote IgG and IgA plasmablast differentiation. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 209, n. 7, p. 1335–1348, 2012.

KARTHIKEYAN, B. V.; PRADEEP, A. R. Gingival crevicular fluid and serum leptin: Their relationship to periodontal health and disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 34, n. 6, p. 467–472, 2007a.

KARTHIKEYAN, B. V.; PRADEEP, A. R. Leptin levels in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. **Journal of Periodontal Research**, v. 42, p. 300–304, 2007b.

KHORSAND, A. et al. Evaluation of salivary leptin levels in healthy subjects and patients with advanced periodontitis. **Journal of Dentistry**, p. 1–9, 2016.

- KLIN, R. B. **Principles and practice of structural equation modeling**. [s.l.] Guilford Publications, 2015.
- KYTTARIS, V. C.; KRISHNAN, S.; TSOKOS, G. C. Systems biology in systemic lupus erythematosus: Integrating genes, biology and immune function. **Autoimmunity**, v. 39, n. 8, p. 705–709, 7 jan. 2006.
- LANATA, C. M. et al. Genetic contributions to lupus nephritis in a multi-ethnic cohort of systemic lupus erythematosus patients. **PloS One**, v. 13, n. 6, p. e0199003, 28 jun. 2018.
- LEE, Y. H.; SONG, G. G. Association between circulating leptin levels and systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. **Lupus**, p. 096120331772558, 10 ago. 2017.
- LEE, Y. H.; SONG, G. G. Association between circulating leptin levels and systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. **Lupus**, v. 27, n. 3, p. 428–435, 2018.
- LEE, Y. H.; WONG, D. T. Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. **American Journal of Dentistry**, v. 22, n. 4, p. 241–248, 2009.
- LI, H.-M. et al. Emerging role of adipokines in systemic lupus erythematosus. **Immunologic Research**, v. 64, n. 4, p. 820–830, 2016.
- LI, H.-M. et al. Association of leptin and leptin receptor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in a chinese population. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 9, p. 1732–1741, 2017.
- LIM, C. C. et al. Elevated serum leptin, adiponectin and leptin to adiponectin ratio is associated with chronic kidney disease in Asian adults. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0122009, 2015.
- LIM, S. S. et al. The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002-2004: the Georgia lupus registry HHS Public Access. **Arthritis & Rheumatology**, v. 66, n. 2, p. 357–368, 2014.
- LOURENÇO, E. V et al. Leptin promotes systemic lupus erythematosus by increasing autoantibody production and inhibiting immune regulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 38, p. 10637–10642, 2016.
- MACHTET, E. E. et al. Clinical criteria for the definition of “Established Periodontitis”. **Journal of Periodontology**, v. 63, n. 3, p. 206–214, 20 mar. 1992.
- MAHESWARI, T. N. U. et al. Salivary micro RNA as a potential biomarker in oral potentially malignant disorders: a systematic review. **Tzu Chi Medical Journal**, v. 30, n. 2, p. 55–60, 2018.
- MARQUES, C. P. C. et al. Salivary levels of inflammatory cytokines and their association to periodontal disease in systemic lupus erythematosus patients. A case-control study. **Cytokine**, v. 85, p. 165–170, 2016a.
- MARQUES, C. P. C. et al. Possible evidence of systemic lupus erythematosus and periodontal disease association mediated by Toll-like receptors 2 and 4. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 183, n. 2, p. 187–192, fev. 2016b.
- MASUZAKI, H. et al. Nonadipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. **Nature Medicine**, v. 3, n. 9, p. 1029–1033, 1 set. 1997.
- MCMAHON, M. et al. High plasma leptin levels confer increased risk of atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus, and are associated with inflammatory oxidised lipids. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 70, n. 9, p. 1619–1624, 2011.

- NAVAZESH, M. Methods for collecting saliva. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 694, p. 72–77, 20 set. 1993.
- OESER, A. et al. Obesity is an independent contributor to functional capacity and inflammation in systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 52, n. 11, p. 3651–3659, 2005.
- PAZ-FILHO, G. et al. Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 56, n. 9, p. 597–607, dez. 2012.
- PETRI, M. et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 64, n. 8, p. 2677–2686, 2012.
- PONS-ESTEL, G. J. et al. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 39, n. 4, p. 257–268, fev. 2010.
- PROCACCINI, C.; JIRILLO, E.; MATARESE, G. Leptin as an immunomodulator. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 33, n. 1, p. 35–45, 1 fev. 2012.
- PURWAR, P. et al. Salivary and serum leptin concentrations in patients with chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 86, n. 4, p. 588–594, 2015a.
- PURWAR, P. et al. The effects of periodontal therapy on serum and salivary leptin levels in chronic periodontitis patients with normal body mass index. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 73, n. 8, p. 633–641, 2015b.
- RESELAND, J. E.; GORDELADZE, J. O. Role of leptin in bone growth: central player or peripheral supporter? **FEBS Letters**, v. 528, n. 1–3, p. 40–42, 25 set. 2002.
- RICHARD-EAGLIN, A.; SMALLHEER, B. A. Immunosuppressive/autoimmune Disorders. **Nursing Clinics of North America**, v. 53, n. 3, p. 319–334, 2018.
- SAITO, M. et al. Association between dental visits for periodontal treatment and type 2 diabetes mellitus in an elderly Japanese cohort. **Journal of Clinical Periodontology**, p. 1–7, 22 set. 2017.
- SAKAGUCHI, S. et al. Review regulatory T cells and immune tolerance. **Cell**, v. 133, n. 5, p. 775–787, 2008.
- SANNA, V. et al. Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 2, p. 241–250, 15 jan. 2003.
- SCHAPHER, M. et al. Salivary leptin as a candidate diagnostic marker in salivary gland tumors. **Clinical Chemistry**, v. 55, n. 5, p. 914–922, 2009.
- SHARIFIAN, M. et al. Serum and urine leptin concentrations in children before and after treatment of urinary tract infection. **Iranian Journal of Kidney Diseases**, v. 9, n. 5, p. 374–378, 2015.
- STANESCU, I.-I. et al. Salivary biomarkers of inflammation in systemic lupus erythematosus. **Annals of Anatomy**, v. 219, p. 89–93, 2018.
- STRECKFUS, C.; BIGLER, L. Saliva as a diagnostic fluid. **Oral Diseases**, v. 8, n. 2, p. 69–76, 2002.
- SUN, Z. et al. Serum IL-10 from systemic lupus erythematosus patients suppresses the

differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. **Journal of Biomedical Research**, v. 26, n. 6, p. 456–466, 2012.

SUSIN, C.; KINGMAN, A.; ALBANDAR, J. M. Effect of partial recording protocols on estimates of prevalence of periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v. 76, n. 2, p. 262–267, fev. 2005.

TAN, E. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. **Arthritis and Rheumatism**, v. 25, n. 11, p. 1271–1277, nov. 1982.

THANAKUN, S. et al. Comparison of salivary and plasma adiponectin and leptin in patients with metabolic syndrome. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 6, n. 1, p. 19, 2014.

VADACCA, M. et al. Adipokines and systemic lupus erythematosus: relationship with metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **The Journal of Rheumatology**, v. 36, n. 2, p. 295–297, 2009.

VILÀ, L. et al. Metabolic alterations and increased liver mTOR expression precede the development of autoimmune disease in a murine model of lupus erythematosus. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. e51118, 2012.

VLAICU, S. I. et al. The role of complement system in adipose tissue-related inflammation. **Immunologic Research**, v. 64, n. 3, p. 653–664, 2016.

VON BÜLTZINGSLÖWEN, I. et al. Salivary dysfunction associated with systemic diseases: systematic review and clinical management recommendations. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 103, p. S57-e1, 2007.

WANG, X. et al. Leptin levels in patients with systemic lupus erythematosus inversely correlate with regulatory T cell frequency. **Lupus**, v. 26, n. 13, p. 1401–1406, 14 nov. 2017.

WHO. **WHO | Overweight and obesity**. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/overweight\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight_text/en/)>. Acesso em: 14 ago. 2018.

WISŁOWSKA, M. et al. Serum leptin in systemic lupus erythematosus. **Rheumatology International**, v. 28, n. 5, p. 467–473, 2008.

ZHU, J. et al. Association of circulating leptin and adiponectin with periodontitis: a systematic review and meta-analysis. **BMC Oral Health**, v. 17, n. 104, p. 1–14, 2017.

ZIMMERMANN, G. S. et al. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. **Journal Periodontology**, v. 84, n. 5, p. 624–633, 2013.

## **APÊNDICE 1- Termo de Compromisso Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a) da pesquisa sobre:

“EXPRESSÃO DE TOLL LIKE 2 E 4 EM PACIENTES COM LUPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO E DOENÇA PERIODONTAL”

Caso você concorde em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador(a) ou penalização e sem prejuízo ao seu cuidado.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e endereço do pesquisador(a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação antes e durante a pesquisa.

Justificativa da pesquisa: Devido à grande prevalência (ocorrência) de doença periodontal (inflamação da gengiva) em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), pode haver associação entre a condição da gengiva e o agravamento do LES. Portanto o conhecimento e controle das doenças bucais nessa população podem auxiliar durante o tratamento da doença LES.

Objetivo da pesquisa: Avaliar se há relação entre a presença dos receptores imunológicos Toll Like 2 e 4 e o grau da inflamação na gengiva e o agravamento do LES.

Procedimentos: O Sr. (Sra.) responderá a um questionário, será examinado por um cirurgião-dentista para verificar as condições de sua gengiva e será coletada amostra de sua saliva.

Seleção da amostra: Para a realização desse trabalho serão sorteados 60 pacientes que estão sob tratamento do LES no setor de Reumatologia do Hospital Presidente Dutra (HUUFMA) e 60 pacientes atendidos nas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão.

Desconfortos, riscos possíveis: Os riscos, no que diz respeito ao exame clínico serão inerentes ao manuseio incorreto do instrumental que pode levar a traumas teciduais indevidos (iatrogenia), para minimizar estes riscos será utilizado profissional habilitado para realização do exame periodontal e utilização de equipamentos de proteção (óculos de proteção) para o paciente e luva, gorro, óculos e jaleco para o profissional. Caso ocorra qualquer dano em decorrência do manuseio incorreto do instrumental, o paciente será imediatamente atendido por profissional capacitado para reparação, onde serão tomadas as medidas imediatas e mediatas que se fizerem necessárias, com tratamento completo da lesão causada e oferta dos medicamentos necessários para o tratamento. Em relação à coleta de saliva para realização do teste Elisa, não se observa riscos inerentes ao procedimento. Informamos, portanto que assumiremos de forma integral a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos.

Benefícios: Todos os pacientes com doença periodontal serão tratados através de procedimentos de raspagem corono-radicular supragengival e subgengival. A doença periodontal embora tenha tratamento, ainda não pode ser curada em definitivo, dessa

forma após o tratamento, retornos periódicos ao longo da vida, ainda precisam ser feitos, com visitas ao dentista pelo menos de 6 em 6 meses. O tratamento da fase atual da doença será realizado, mas não nos responsabilizamos pelo tratamento de novos surtos, dessa forma será realizada a orientação em higiene bucal para minimizar a ocorrência de novos episódios da doença, sobre os quais não teremos responsabilidade de tratamento. Espera-se que os resultados da pesquisa possam contribuir para um maior conhecimento sobre os mecanismos imunes relacionados às duas doenças, desencadeados pelos TLRs, dessa forma, permitirá o desenvolvimento do tratamento de ambas as doenças, com medidas curativas e preventivas baseadas na resposta autoimune.

Plano de divulgação dos resultados e garantia do sigilo: Conhecendo as normas que regulamentam os aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 196/96-CNS) e em respeito aos voluntários desta pesquisa, todo e qualquer resultado, favorável ou não, só será tornado público após a aceitação do voluntário. Caso isto ocorra, os resultados serão utilizados na elaboração de trabalhos científicos, jornadas e congressos e publicações em revistas e periódicos odontológicos, sendo garantido o sigilo que assegura a privacidade do paciente, quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

São Luís, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ 2014

Ciente e de acordo: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Consuelo Penha Castro Marques

Doutoranda em Odontologia –PPGO-UFMA

\_\_\_\_\_  
Bruno Braga Benatti

Prof. Dr. - PPGO-UFMA (orientador)

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Bruno Braga Benatti Endereço: Departamento de Odontologia II – Campus do Bacanga - São Luís -MA Telefone: (98) 2109-8575

Comitê de Ética em Pesquisa – Hospital Universitário UFMA (HUUFMA) Prof. João Inácio Lima de Souza – Coordenador Rua Barão de Itapary, 227 – Centro Telefone: 21091250

**APÊNDICE 2- Ficha de Coleta de Dados**

Nome: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Grupo: \_\_\_\_\_ Numero: \_\_\_\_\_

Endereco: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_ Escolaridade: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Etilismo: ( ) sim ( ) não ( ) ex-fumante \_\_\_\_ anos

Fumante: ( ) sim ( ) não ( ) exfumante \_\_\_\_ anos

Renda: \_\_\_\_\_ SM

TEMPO de diagnostico da DP/ último tratamento: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

TEMPO de diagnostico do LES/ último tratamento: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Outros casos na família de doença periodontal: \_\_\_\_\_

Outros casos na família de LES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Co-morbidades: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Medicamentos em uso: \_\_\_\_\_

Limitações funcionais: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Kg Altura: \_\_\_\_\_

Doença Renal anterior: ( ) sim ( ) não

Diabetes: ( ) sim ( ) não Tipo: \_\_\_\_\_

Transplante renal: ( ) sim ( ) não Tempo: \_\_\_\_ anos \_\_\_\_ meses

Hipertensão: ( ) sim ( ) não

Cardiopatia: ( ) sim ( ) não

Glomerulonefrites: ( ) sim ( ) não

Lúpus ( ) sim ( ) não Tipo: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Tempo em que realiza o tratamento: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

SLEDAI: \_\_\_\_\_  
—

Dados Laboratoriais:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Pulsoterapia: ( ) sim ( ) não Dose: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Higiene oral: Escovação ( ) ao dia Após refeições: ( ) sim ( ) não Fio dental ( ) ao dia Após refeições: ( ) sim ( ) não Antisséptico oral ( ) ao dia Após refeições: ( ) sim ( ) não



## ANEXO 1 – Parecer do Comitê Ético em Pesquisa



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EXPRESSÃO DE TOLL LIKE 2 E 4 EM PACIENTES COM LUPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E DOENÇA PERIODONTAL.

**Pesquisador:** Bruno Braga Benatti

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 22437713.6.0000.5086

**Instituição Proponente:** Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

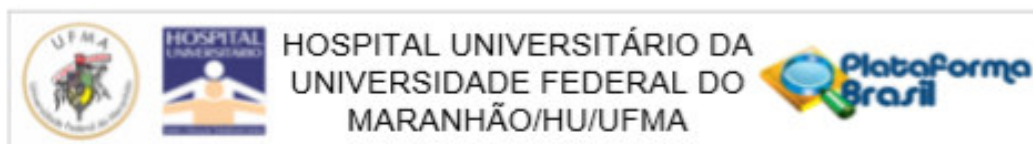
#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 460.888

**Data da Relatoria:** 29/11/2013

#### Apresentação do Projeto:

A doença periodontal é uma doença infecciosa, que desencadeia processos de desequilíbrio imunológico, com liberação de mediadores inflamatórios. O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), por sua vez, é uma doença rara inflamatória crônica, auto-imune de etiologia desconhecida, que afeta diversos órgãos e sistemas do corpo, caracterizada por uma hiperatividade imunológica. Assim como as doenças periodontais, o LES apresenta uma resposta inflamatória exacerbada, que pode estar ligada às alterações teciduais que se observam em ambas as doenças. Compreende-se que os componentes do sistema imune são importantes para o desenvolvimento de respostas efetivas frente a antígenos bacterianos, e dentre eles os receptores Toll Like parecem ter importante papel no reconhecimento de antígenos em ambas as doenças, principalmente os Toll Like 2 e 4, cuja ação pode ser responsável por esta associação. Assim, o presente estudo tem como objetivo Avaliar a expressão dos receptores Toll Like 2 e 4 na saliva de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e doença periodontal. É um estudo analítico observacional quantitativo, tipo caso-controle. Será utilizada infra-estrutura já disponível para atendimento odontológico de pacientes, do Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFMA, para os pacientes sem LES; e para os pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico, será utilizada a infra-estrutura dos consultórios, clínicas e hospitais que atendem os pacientes com LES, da rede pública e privada de saúde, em São



Continuação do Parecer: 460.888

Luís do Maranhão. A amostra será pareada com variáveis independentes. Serão incluídos no estudo pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico atendidos e pacientes sem Lúpus Eritematoso sistêmico. Serão incluídos pacientes que tenham no mínimo 18 anos de idade; de ambos os sexos e que tenham pelo menos 19 dentes. Serão excluídos da amostra, pacientes menores de 18 anos; fumantes; que estejam participando de alguma outra pesquisa experimental que envolva medicamentos; que tenham malignidade; doenças infecciosas clinicamente evidentes; hospitalização ou cirurgia há pelo menos 3 meses; que tenham menos de 19 dentes; gestantes; lactantes ou que estejam em uso de antibióticos nos últimos 6 meses. A coleta de dados será composta das seguintes etapas: entrevista e coleta de dados médicos; coleta de saliva; avaliação da condição periodontal e análise laboratorial da saliva através de ensaio imunoenzimático (ELISA). Os dados serão submetidos às análises estatísticas, quando observada normalidade, utilizaremos Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, em caso de anormalidade da amostra será utilizado o Teste de Kruskal-Wallis, seguido do Teste Dunn. Serão consideradas diferenças estatisticamente significativas para p-valor 0,05. Financiamento próprio.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

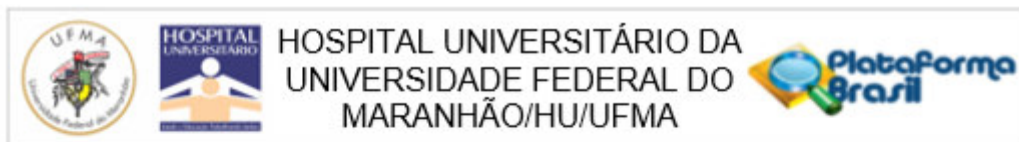
Avaliar a expressão dos receptores Toll Like 2 e 4 na saliva de pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e doença periodontal.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O pesquisador informa os seguintes riscos: Os riscos para os grupos, no que diz respeito ao exame clínico serão inerentes ao manuseio incorreto do instrumental que pode levar a traumas teciduais indevidos (iatrogenia). Em relação à coleta de saliva para realização do teste Elisa, não se observa riscos inerentes ao procedimento. Quanto aos benefícios, o pesquisador informa que os resultados da pesquisa irá contribuir para um maior conhecimento sobre os mecanismos imunes relacionados às duas doenças, desencadeados pelos TLRs, dessa forma, permitirá o desenvolvimento do tratamento de ambas as doenças, com medidas curativas e preventivas baseadas na resposta autoimune, inclusive poderá fundamentar a pesquisa de vacinas para a doença periodontal.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O pesquisa apresenta uma grande relevância pois o crescimento do número de doentes autoimunes no país e embora muitas pesquisas relatem associação entre doença periodontal e aumento dos níveis dos receptores Toll Like 2 e 4, bem como aumento destes receptores também no LES, nenhum estudo foi realizado para analisar a expressão destes receptores imunológicos em



Continuação do Parecer: 460.888

pacientes com LES e DP. Dessa forma avaliar a associação entre a expressão dos TRLS 2 e 4 em pacientes com LES e DP, na cidade de São Luís/Ma, irá contribuir para se identificar marcadores biológicos para acompanhamento destas doenças.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O protocolo cumpre com as exigências da Resolução CNS/MS nº 466/12 em relação aos "Termos de apresentação obrigatória": folha de rosto projeto de pesquisa, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), orçamento e currículo do pesquisador responsável e demais pesquisadores.

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O pesquisador atendeu a todas as pendências apresentadas no PARECER Nº 446.957 de 01/11/2013.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O PROJETO atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, sendo considerado APROVADO.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente no final da coleta de dados e ao término do estudo.

SAO LUIS, 19 de Novembro de 2013

---

**Assinador por:**  
**Dorlene Maria Cardoso de Aquino**  
 (Coordenador)

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
 Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
 UF: MA Município: SAO LUIS  
 Telefone: (98)2109-1250 Fax: (98)2109-1223 E-mail: cep@huufma.br

## **ANEXO 2 – Normas do Periódico The Journal of Rheumatology**

### **THE JOURNAL OF RHEUMATOLOGY**

The Journal of Rheumatology is a monthly, peer review serial founded in 1974 and edited by Earl D. Silverman. The Journal publishes original clinical research articles, metaanalyses, systematic reviews, editorials, historical vignettes, case reports, medical educational papers, and letters. Topics include rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, osteoarthritis, and other rheumatic and musculoskeletal diseases. The Journal of Rheumatology is owned by the Canadian Rheumatology Association, a non-profit organization and the national professional association for Canadian rheumatologists.

#### **ONLINE MANUSCRIPT SUBMISSION**

Manuscripts and all other editorial communications addressed to the Editor of The Journal of Rheumatology should be submitted through our online submission system, available at the ScholarOne Manuscripts website. To submit a new manuscript, log in to mc.manuscriptcentral.com/jrheum with an existing account. If you are submitting for the first time, create a new account. Follow all online instructions. At the end of a successful submission, a confirmation screen with the manuscript number will appear and you will receive an e-mail acknowledging that the manuscript has been received. If you do not receive an e-mail acknowledgment, please check your submission and/or contact our technical support staff at manuscripts@jrheum.com. Manuscripts that do not meet the main format requirements outlined in The Journal of Rheumatology's Guide for Authors will be returned to the authors for revisions prior to review by the Editor.

#### **SUBMISSION GUIDELINES**

Original, previously unpublished full-length articles, brief communications, editorials, reviews, hypotheses, images in rheumatology, correspondence, letters, and case reports/letters will be accepted for publication following successful review and on condition that they are submitted solely to this journal. Subject matter may relate to the broad field of rheumatology, rehabilitation medicine, immunology, infectious diseases, orthopedic subjects, or medical education pertaining to the rheumatic diseases. Manuscripts containing original material are accepted for consideration with the understanding that neither the article nor any part of its essential substance, tables, or figures has been or will be published or submitted for publication elsewhere before appearing in The Journal. This restriction does not apply to abstracts or press reports published in connection with scientific meetings. Authors are responsible for submitting any permission necessary from the original copyright holder for previously published text, tables, or figures included in the manuscript.

#### **Authorship**

All persons designated as authors should qualify for authorship. Every author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for the content. Authorship credit should be based on authors fulfilling all 3 criteria:

- substantial contribution to conception and design, execution, or analysis and interpretation of data;
- drafting the article or revising it critically; and
- reading and approval of the final version.

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone do not, in themselves, constitute authorship. All non-authors who have made substantial contributions (i.e., one or more of the above 3 author criteria) to the study or to manuscript preparation must be listed in the Acknowledgment or included under sponsorship information.

For studies involving a large multicenter group, the group name may be included in the list of authors, but only those members who qualify for authorship and are willing to accept responsibility for the manuscript should be named as authors. The names and cities of non-author collaborators should be listed in an appendix. The National Library of Medicine (NLM) indexes the names of collaborators listed in the appendix.

NOTE: To ensure the authenticity of authorship, authors should link their ScholarOne Manuscripts with their ORCID iD.

### **Conflict of Interest**

Authors of research articles, editorials, and reviews must disclose at the time of submission any relationships that could be viewed as potential conflicts of interest, for example, any financial interest in a company (or its competitor) that manufactures a product discussed in the article. Only those financial relationships that pose a potential conflict of interest and are  $\geq$  \$10,000 per entity for the previous 12 months must be disclosed. Such relationships may include employment, consultancies, speaker's fees, honoraria, stock ownership/options, expert testimony, patent or license-related income, and royalties. Such information will not influence the editorial decision.

For more detailed information on the definition and types of conflicts of interest, visit the World Association of Medical Editors (WAME) Conflict of Interest policy. For questions about these issues, contact the Manuscripts Department.

The Journal of Rheumatology discourages submission of more than one article dealing with related aspects of the same study. If authors are aware of any published paper or other manuscript in preparation or submitted elsewhere or to The Journal related to the manuscript under consideration (e.g., another manuscript resulting from the same study), a copy of the related paper should be uploaded as a supplementary file with the paper submitted for publication.

For articles reporting clinical trials, registration in an appropriate public registry before the start of patient enrollment is required. Authors of articles reporting registered trials should include the trial registration number in the abstract and the Materials and Methods section of their manuscript. The registration number will be published in articles accepted for publication.

### **Ethics**

Authors are required to provide their institution's ethics board approval number. Manuscripts involving human subjects must comply with the Declaration of Helsinki or with the research ethics standards of the country of origin. Manuscripts involving animal subjects must include a statement that the study was conducted in full compliance with the local, national, or institutional ethics boards/bodies.

If ethics was not required or was waived, authors are to provide the document(s) explicitly stating this from their respective Institutional Review Boards.

For text that uses patient-level data, authors must include a statement indicating they have obtained the patient's written informed consent to publish the material, and the patient consent statement must be kept on file by the authors. Patient consent is also needed for visual material that cannot be completely de-identified, such as photographs of the subject's face.

The Journal reserves the right to reject papers if the ethical aspects are in doubt according to the opinion of the Editorial Committee.

### **Publishing Misconduct**

Articles are considered only for exclusive publication in The Journal with the understanding that they have not been published elsewhere (in part or in full, in other words or in the same words in letter or article form, or otherwise), are not at the time of submission under consideration by another journal or other publication, and will not be submitted elsewhere unless rejected by The Journal of Rheumatology.

If an author violates this requirement or engages in other similar misconduct, the Editor may, in addition to rejecting the manuscript, impose a moratorium on the acceptance of new manuscripts from the author. If the misconduct is deemed sufficiently serious, the Editor may refer the matter to the author's academic institution or hospital and/or the appropriate disciplinary body.

### **Peer Review**

Process Authors are encouraged to suggest the names of 3 or 4 persons who might be considered suitable reviewers of their work. To aid in the review process, include the statistical worksheet (not for publication), if applicable.

### **TYPES OF SUBMISSIONS**

All submissions must include a declaration regarding funding and conflict of interest.

#### ***Full-length Manuscripts***

Original, unpublished investigative reports regarding clinical, laboratory, and translational aspects of rheumatology. Includes systematic reviews and metaanalyses.

- Abstract: maximum of 250 words (Objective, Methods, Results, and Conclusion)
- Word count: maximum of 3500, from Introduction through Discussion
- Tables and figures: maximum of 6, combined
- References: maximum of 50 for full-length articles/70 for systematic reviews and metaanalyses

#### ***Brief Communications***

Short investigative reports, formatted in the same manner as full-length manuscripts.

- Abstract: maximum of 100 words (Objective, Methods, Results, and Conclusion)
- Word count: maximum of 1500, from Introduction through Discussion
- Tables and figures: maximum of 3, combined
- References: maximum of 20

#### ***Reviews***

Review articles on rheumatologic aspects of clinical practice, clinical therapeutics, current concepts, drug therapy, and mechanisms of disease.

- Abstract: maximum of 150 words, unstructured
- Word count: maximum of 3000
- Tables and figures: maximum of 4, combined
- References: maximum of 50

#### ***Editorials***

Solicited by the editors, but unsolicited material is also considered. Editorials on rheumatologic aspects of clinical practice, clinical therapeutics, current concepts, drug therapy, and mechanisms of disease are welcome. Editorials are accompanied by author photographs (maximum of 3).

- Abstract: not required
- Word count: maximum of 1500
- Tables and figures: maximum of 2, combined

- References: maximum of 20

### ***Images in Rheumatology***

Abbreviated case descriptions of abstract length that feature exceptional visual illustrations.

- Abstract: not required
- Word count: maximum of 250
- Authors: maximum of 3
- Figures: maximum of 2
- References: maximum of 5

### ***Letters Abbreviated***

Investigative reports organized as brief communications, but with no subdivision for an Abstract, Methods, or Results.

- Abstract: not required
- Word count: maximum of 800
- Authors: maximum of 3
- Tables and figures: maximum of 2, combined
- References: maximum of 10

### ***Case Reports***

Abbreviated descriptions of exceptional clinical findings and clinical course, in the form of a letter to the editor. Single cases or series of cases are considered.

- Abstract: not required
- Words: maximum of 800
- Authors: maximum of 3
- Tables and figures: maximum of 2, combined
- References: maximum of 10

### **Correspondence**

A brief commentary on a previously published letter to the editor.

- Abstract: not required
- Words: maximum of 800 • Tables and figures: maximum of 2, combined • References: maximum of 10

### **Supplements**

The Journal welcomes the opportunity to publish proceedings of significant symposia, providing the material represents original work not previously published. Symposium organizers are urged to contact the Managing Editor well in advance of the symposium date with a draft program. Faculty, subject matter, and editorial content are all subject to the approval of the editorial committee. Papers submitted to be published on the proceedings must conform to the style for supplements, which is available on request, before they will be considered for publication.

### **PREPARATION OF MANUSCRIPTS**

Cover Letter Manuscripts should be accompanied by a cover letter indicating that the final manuscript has been seen and approved by all the authors, that they have obtained the required ethical approvals, that they have given necessary attention to ensure the integrity of the work, and that they agree to bear the applicable publication charges if their manuscript is accepted for publication (see Page Charges and Color Charges). The cover letter should note the type of manuscript submitted (e.g., full-length article, brief communication, etc.).

### **Format and Organization**

Manuscripts should be concise and typed double spaced with liberal margins. Organize manuscripts to include the following sections:

- Title Page
- Abstract\*
- Introduction
- Materials and Methods\*\*
- Results
- Discussion
- Acknowledgment
- References
- Figure Legends
- Tables and Figures
- Appendix and Data Supplements

\*Abstracts are not required for Letters, Case Reports, Editorials, or Images in Rheumatology.

\*\*The Materials and Methods section, if applicable, must include the ethics approval number, statement of patient consent, and clinical trial registration number. For Letters, Case Reports, and Images in Rheumatology, please include this information in the Title Page.

The manuscript, accompanying tables, and figures should be prepared for online submission and review using conventional software. Number each page, including tables and figure legends, in sequence. Manuscripts, tables, figures, data supplements, and appendix should be submitted as separate files.

Indicate the main sections of the manuscript by side headings. Arabic numerals should be used throughout the manuscript but spelled out at the beginning of sentences.

### **Details of Format and Organization**

Title Page Title page should be prepared in the following order:

- Full title of manuscript, which should be concise but informative (up to 20 words).
- Complete given names and surnames of all authors, with applicable ORCID iD (for example, <https://orcid.org/0000-0002-9841-3799>).
- Key Indexing Terms (maximum of 6; must be MeSH terms)
- Name of department(s) and institution(s) to which the work should be attributed.
- The source(s) of support in the form of grants or industrial support.
- Conflict of interest.



- Initials, surnames, appointments, and highest academic degrees of all authors.
- Name and address of author responsible for correspondence.
- A short running head (maximum of 4 words).

### **Abstract**

Full-length manuscripts (250 words) and brief communication articles (100 words) must include a structured abstract in the title page section of the manuscript document, briefly describing Objective, Methods, Results, and Conclusion. Review article summaries (150 words) should be provided in unstructured paragraph format.

### **Acknowledgment**

Acknowledgment, if applicable, should be added after the Discussion of the paper and before the references. It should not acknowledge grant or industrial support for fellowship awards, all of which should appear on the title page.

### **References**

Authors are responsible for the accuracy of references, which must be verified against original sources in the manuscript and on the page proof. Number references consecutively in the order in which they are mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals (in parentheses). For references cited only in tables or figure legends, number references consecutively in the order in which they appear in the text.

### **Use abbreviations for titles of medical journals that conform to those in Medline.**

**For EndNote users.** Download The Journal's style from EndNote ([endnote.com/downloads/style/journal-rheumatology](http://endnote.com/downloads/style/journal-rheumatology)). If you require further assistance, contact EndNote technical support.  
**Abstracts.** Avoid using abstracts as references whenever possible; "unpublished observations" and "personal communication" may not be used as references, although references to written, not verbal, communications may be inserted (in parentheses) in the text.

### **Examples of correct forms of references are given below:**

**Standard Journal Article.** (List all authors, but when 7 or more, list 6 and add "et al".) Soter NA, Wasserman SI, Austen KF. Cold urticaria: release into the circulation of histamine and eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis during cold challenge. *N Engl J Med* 1976;294:687-90.

**The Journal of Rheumatology Supplement.** Dawkins RL, Garlepp MJ, McDonald BL, Williamson J, Zilko PJ, Carrano J. Myasthenia gravis and D-penicillamine. *J Rheumatol Suppl* 1981 Feb;8:169-72. Abstract. Fischman SA, Joiner KA. Binding of the 3rd component of complement C3 by toxoplasma gondi [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

**Agency Publication.** National Center for Health Statistics. Acute conditions: incidence and associated disability. United States, July 1968-June 1969. Rockville: National Center for Health Statistics; 1972; DHEW publication no. (HSM)72-1036. (Vital and health statistics; series 10, no. 69).

**Article in a Foreign Language.** Rijkenberg AM, van Sprundel M, Stassijns G. [Collaboration between occupational physicians and other specialists including insurance physicians]. [Article in German] *Versicherungsmedizin* 2013;65:140-5.

**Chapter in Book.** Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: WB Saunders; 1974:457-72.

**Corporate Author.** The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Recommended method for the determination of gamma-glutamyl-transferase in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1976;36:119-25.

**Corporate Book Author.** American Medical Association Department of Drugs. *AMA Drug Evaluations*. 3rd ed. Littleton: Publishing Sciences Group; 1977.

**Dissertation or Thesis.** Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen [dissertation]. Berkeley: University of California; 1965, 156 p.

**E-publication.** Kojima M, Kojima T, Suzuki S, Takahashi N, Funahashi K, Asai S, et al. Patient-reported outcomes as assessment tools and predictors of long-term prognosis: a 7-year follow-up study of patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* 2015 Nov 6 (E-pub ahead of print).

**Editorial.** Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

**In Press (manuscripts accepted, but not yet published).** Deodhar A, Reveille JD, Harrison DD, Kim L, Lo KH, Leu JHm et al. Safety and efficacy of golimumab administered intravenously in adults with ankylosing spondylitis: results through week 28 of the GO-ALIVE study. *J Rheumatol* 2017 Dec 15 [in press].

**Letter to the Editor.** Gardner GC, Lawrence MK. Polyarteritis nodosa confined to calf muscles [letter]. Pedrol E, Garcia F, Casademont J [reply]. *J Rheumatol* 1993;20:908-9.

**Magazine Article.** Roueche B. *Annals of medicine: the Santa Claus culture*. *The New Yorker* 1971 Sep 4:66-81.

**Newspaper Article.** Shaffer RA. Advances in chemistry are starting to unlock mysteries of the brain: discoveries could help cure alcoholism and insomnia, explain mental illness. How the messengers work. *Wall Street Journal* 1977 Aug 13; sect. A: 1 (col.1), 10 (col.1).

**Personal Book Author(s).** Osler AG. *Complement: mechanisms and functions*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall; 1976.

**Published Proceedings Paper.** DuPont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, editors. *Proceedings of the Third Annual Meeting of the International Society for Experimental Hematology*, 1973, Oct 29-31; Houston: International Society for Experimental Hematology; 1974:44-6.

**Supplements in Other Journals.** Kimura A, Kitamura H, Date Y, Numano F. Comprehensive analysis of HLA genes in Takayasu arteritis in Japan. *Int J Cardiol Suppl* 1996;54 Suppl 1:61-9.

**Website.** Cancer-Pain. Quality of life issues. [Internet. Accessed September 23, 2014.] Available from: [www.cancer-pain.org/understanding/quality.html](http://www.cancer-pain.org/understanding/quality.html)

## Figures and Tables

### Figures

General requirements.

Figures must be supplied in high resolution in order to maintain the quality in both print and online publications. They must be numbered in the sequence that they are mentioned in the text.

1. Figure labels should be - sized in proportion to the figure - in upper case - complete for all data presented in the figures

2. Figure legends should be in the manuscript only (after References). All figure legends must be consistent with the manuscript contents. Include all abbreviations of terms found in each figure, as well as their definitions.

3. Black and white versus color - Figures are printed in black in white unless color is necessary for proper interpretation (at the Editor's discretion) - Authors must bear the costs of color printing (\$750/page) - Black and white TIFF files must be saved as grayscale - Color figures must be saved as CMYK (not RGB)

4. Previously published figures must be referenced properly in the figure legend and include written copyright holder permission for reprint upon submission.

If you need further assistance, the publications office at your institution may be able to assist with preparation of artwork intended for publication.

**Line art (charts, diagrams, etc.).** Avoid the use of solid and shaded backgrounds, and fill effects. To aid in clear interpretation of figures, ensure that patterns are clearly distinguished from each other. Our preferred file format for line art is TIFF at 1200 pixels/inch at 42 picas/7 in/17 cm. If you are unable to supply a TIFF file, you may submit the original file (Word, Excel, or PowerPoint) or a PDF (if the figure was created using statistical software).

**Half-tone figures (photographs, micrographs, etc.).** Please supply the following: 1. For peer review only: Low resolution figures (minimum 72 pixels/inch). We accept low resolution figures in .jpg, .gif, .tif, and .eps formats. 2. For publication: High-resolution figures are required upon acceptance. Our preferred file format for half-tone figures is TIFF (minimum 300 pixels/inch at 42 picas/7 in/17 cm).

**References.** References that are cited only in figures and figure legends should follow the numbering of references based on the sequence that appears in the text.

**Uploading figures.** All figures should be uploaded as separate files to our online submission system on ScholarOne. In order to ensure that files will be uploaded, please flatten your TIFF files and compress them (save each file as LZW under Image Compression in Photoshop). For files that are greater than 350 Mb, you may upload them to our FTP site (username and password will be given at time of submission).

## Tables

**General requirements.** Prepare each table in a separate Word file, double spaced, with a brief title. Number tables consecutively, according to the sequence they appear in the text, and supply a brief legend for each. Previously published tables must be referenced properly in the table legend and include written copyright holder permission for reprint upon submission.

**Table data.** All table data should be cell based and fully editable. Avoid the use of special formatting within tables, such as tabs, returns (Enter key), and shading. Ensure that all data include units of measurement and a description of how the data is expressed [e.g., n (%), mean (SD)].

**Table legends.** Include explanations of any symbols in the table (\*, #, etc.), as well as definitions of all abbreviations found in the table.

**References.** References that are cited only in tables should follow the numbering of references based on the sequence that the table appears in the text.

**Uploading tables.** All tables should be uploaded as separate files to our online submission system on ScholarOne.

**Data Supplements.** Original and substantial research material exceeding one printed page that would otherwise be presented in an appendix may be included in the submission as a data supplement. Intended for onlineonly publication, data supplements contain supplementary information not essential to the understanding of the conclusions of the paper, such as more detailed methods, extended datasets/analysis, or additional figures. Supplementary tables and figures should be noted in the manuscript in numerical order. A flat fee of \$150 to process online-only data supplements will apply.

## POST-ACCEPTANCE

**Assignment of Copyright.** The contact author of each manuscript will receive an Assignment of Copyright form at time of acceptance. The form must be signed by each author of the manuscript and returned to The Journal as soon as possible. Please be advised that failure to return the form in a timely manner will cause delay in publication.

**Copyediting.** All submitted material is subject to editing, in accordance with Journal style and editorial judgment. The Journal strives to maintain consistency in style among articles and among issues. Some sources for style decisions are Scientific Style and Format: The Council of Science Editors Manual for Authors, Editors, and Publishers; the Merriam-Webster Dictionary; and The Journal's own style guides, compiled and updated during 45 years of scientific publishing.

**Proofreading.** The contact authors are provided with page proofs and are asked to proofread them for typesetting errors and to answer editorial queries. This is the authors' only opportunity to review the proof. Proofs must be returned within 48 hours. The Journal makes every effort to ensure accuracy in the final proof corrections. Changes for the following are accepted:

- Names, professional degrees, and institutions
- Changes necessary for scientific accuracy

Additional charges will apply for excessive discretionary changes in the proof stage.

**Author E-prints.** The corresponding author may distribute up to 20 copies of the published article for personal/professional non-commercial use. Larger quantities (minimum 100 copies) may be distributed for a fee. For details, contact [reprints@jrheum.com](mailto:reprints@jrheum.com).

**Paper Reprints.** High-quality offprints may be purchased at a reduced rate if ordered before issue publication (minimum 100 copies). The page charge statement that accompanies the proofs includes an order form showing the costs of reprints.

**Self-Archiving.** Policy Authors of original research articles may deposit the peer-reviewed accepted version of the manuscript to a non-profit institutional and/or nonprofit centrally organized repository (including PubMed Central), but must stipulate that public access to the manuscript be delayed until 12 months after first online publication in The Journal of Rheumatology. For publicly funded research where the funder mandates earlier public access, the manuscript may be made available 6 months after first publication.

The Journal authorizes deposit, in institutional and/or centrally organized repositories, of the accepted manuscript as prepared by the authors before publisher copyediting and proof correction. The final published version of the article as it appears in The Journal of Rheumatology after copyediting and proof correction may not be deposited.

When depositing their pre-copyedited accepted manuscripts to a repository, authors should include the following credit line:

- “This is a pre-copyediting, author-produced PDF of an article accepted for publication in The Journal of Rheumatology following peer review. The definitive publisher-authenticated version [insert complete citation information here] is available online at: xxxx [insert URL for fully published article in The Journal of Rheumatology website].”

This helps to ensure the article is correctly cited and will guarantee that the fully published and definitive version is readily available to those accessing the article from public repositories.

**Public Access Mandate.** The Journal submits the accepted version of National Institutes of Health (NIH)-funded articles (before publisher copyediting and proof correction) to PubMed Central upon final acceptance. Authors will receive a notification following submission of the files to the NIH Manuscript Submission system to approve the upload. We also submit European-funded research mandated to Europe PubMed Central. For Canadian-funded research (Canadian Institutes of Health Research), please submit directly to PubMed Canada. See our Self-Archiving

Policy for The Journal's terms of submission. First Release Papers are published online ahead of print 2–4 weeks after final proof correction. First Release articles appear online on the 1st and the 15th of every month, except on the first of January.

**Print Publication.** The typical time from acceptance to print publication is approximately 3–6 months.

**Video and Audio Abstracts.** All authors who publish in The Journal of Rheumatology can submit a video or audio abstract with their articles in the form of interviews, conversations, slides, or technique demonstrations. To find out more about how to create one, see our Guide for Video and Audio Abstracts.

#### PRODUCTION CHARGES

**Full Release Publication Option** For those authors of original research articles who require immediate public access, The Journal of Rheumatology offers the option of Full Release publication. With this option, the article is available to non-subscribers from the time of first publication on The Journal's website. Full Release articles will be identified on our table of contents. An article published under the Full Release option is subject to a publication charge of \$4000. Regarding deposit requirement, authors may also deposit the peer-reviewed accepted version of the manuscript to a non-profit institutional and/or non-profit centrally organized repository (including PubMed Central). See Self-Archiving Policy above.

**Page Charges\*** Authors will be charged \$75 per publication page in The Journal of Rheumatology. Instructions for payment will be sent to authors along with the page proofs. The cover letter accompanying submission should indicate the authors agree to bear the cost of applicable publication charges if the manuscript is accepted. There is no charge for solicited articles or for correspondence commenting on published articles. The Journal offers waivers and discounts to authors based in developing countries. Requests must be sent to the Managing Editor at the time of submission.

**Color Charges\*** Where color printing is necessary for proper interpretation of figures, there will be a charge of \$750 per published page with color figures.

**Online-only Data Supplement Charges\*** A flat fee of \$150 to process online-only data supplements will apply. Detailed instructions are available under Data Supplements.

\*Please note that charges differ for Supplements (proceedings of significant symposia). Please contact the Managing Editor for more information.

**MEETING ANNOUNCEMENTS** Notices of conferences, seminars, and other events in rheumatology, autoimmunology, and related fields should be sent to The Journal for approval 3 months before publication.

**CONTACT INFORMATION** The Journal of Rheumatology, 365 Bloor Street East, Suite 901, Toronto, ON M4W 3L4, Canada. Tel.: 416-967-5155. Fax: 416-967-7556. E-mail: jrheum@jrheum.com. Website: www.jrheum.org