

Use of experimental periodontitis induction in mice for clinical studies: methods and results

Emprego da indução de periodontite experimental em camundongos para estudos clínicos: métodos e resultados

ABSTRACT | Introduction: *Studies have sought to use methods for inducing experimental periodontitis in mice to analyze the inflammatory process and alternative therapeutic factors. Objectives:* *To carry out an integrative literature review on the methods and results of research carried out in mice in order to induce an inflammatory process of periodontitis. Methods:* *Use qualitative methodology and definition of the guiding question: What are the main methods and results in the induction of experimental periodontitis in mice? The MeSH terms: "Periodontitis" and "Mice" were used to search for scientific articles in the PubMed database. 4,192 full-length works were found; of these, 16 articles were duplicated in the search strategies, thus totaling 7 selected articles. Results:* *The inflammatory process of periodontitis in mice can occur more effectively with the use of ligation than with gavage, as there is a response by the immune cells to the attack of the aggressor agent, and the ligation is an agent that will be constantly and commonplace in the installed region than by gavage. Among the methodologies for inducing periodontitis, those with application of the bacterial pathogen directly to the gingival tissue were observed; application of LPS from *P. gingivalis*; placing a ligature with silk thread soaked with *P. gingivalis*; and placing a ligature with silk thread without bacteria soaking. Conclusion:* *In this animal model for the study of periodontitis, some physiological changes were observed, such as immunological disorders and changes in heart rate. Therefore, the results of this review answered the guiding question established in the methodology.*

Keywords | *Mice; Periodontitis; Porphyromonas; Ligature.*

RESUMO | Introdução: Estudos têm buscado a utilização de métodos para indução da periodontite experimental em camundongos para análise do processo inflamatório e fatores terapêuticos alternativos. **Objetivos:** Realizar uma revisão de literatura integrativa sobre os métodos e resultados de pesquisas realizadas em camundongos a fim de induzir um processo inflamatório de periodontite. **Métodos:** Utilizar metodologia qualitativa e definição da pergunta norteadora: Quais os principais métodos e resultados na indução de periodontite experimental em camundongos? Os *MeSH terms*: "Periodontitis" e "Mice" foram usados para a busca dos artigos científicos na base de dados *PubMed*. Foram encontrados 4.192 trabalhos na íntegra; destes, 16 artigos encontravam-se duplicados nas estratégias de busca, totalizando, assim, 7 artigos selecionados. **Resultados:** O processo inflamatório da periodontite em camundongos pode ocorrer com mais eficácia com a utilização da ligadura do que pela gavagem, visto que ocorre uma resposta pelas células imunológicas para o ataque do agente agressor, sendo a ligadura um agente que estará de maneira constante e corriqueira na região instalada do que pela gavagem. Entre as metodologias para indução da periodontite, foram observadas àquelas com aplicação do patógeno bacteriano diretamente no tecido gengival; aplicação de LPS provenientes de *P. gingivalis*; colocação de ligadura com fio de seda embebido por *P. gingivalis*; e colocação de ligadura com fio de seda sem embebição por bactérias. **Conclusão:** Nesse modelo animal para estudo da periodontite observaram-se algumas alterações fisiológicas, como distúrbios imunológicos e alterações na frequência cardíaca. Portanto, os resultados dessa revisão responderam à pergunta norteadora estabelecida na metodologia.

Palavras-chave | Camundongos; Periodontite; *Porphyromonas*; Ligadura.

¹Universidade Estadual da Paraíba. Araruna/PB, Brasil.

²Universidade de São Paulo. São Paulo/SP, Brasil.

INTRODUÇÃO |

A priori, os animais são utilizados em pesquisas desde antes do Renascimento. Cientistas conhecidos, como René Descartes, consideravam os animais como máquinas biológicas e, portanto, não sentiam dor por não possuírem alma¹. Sendo assim, os animais estavam fora da percepção moral humana e se estabeleceram práticas bastante comuns naquela época que hoje não são mais aceitas, como a vivissecção².

Por volta do século XVIII, graças a Jeremy Bentham, houve a introdução de ideologias sobre os princípios morais e legislações para os cuidados no uso de animais em pesquisa¹. Não obstante, entre os animais mais utilizados, estão os roedores. Ratos e camundongos foram as primeiras espécies a serem utilizadas na pesquisa laboratorial¹⁻².

Os roedores são bastante utilizados para pesquisas científicas com ênfase nos tecidos periodontais pela incrível semelhança que esses animais possuem nas regiões dos molares³. Dessa forma, os camundongos e ratos são os modelos ideais para a análise da perda óssea alveolar e processo inflamatório da doença periodontal⁴.

Este artigo, portanto, tem como objetivo realizar uma revisão de literatura integrativa sobre os métodos e resultados de pesquisas realizadas em camundongos a fim de induzir um processo inflamatório de periodontite, com resolução da pergunta norteadora e definição do melhor método que promova um reduzido desconforto/dano ao animal.

MÉTODOS |

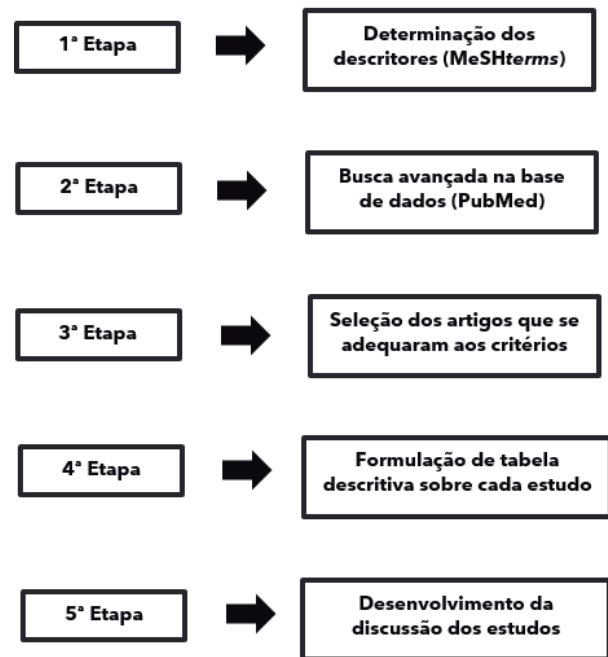
Esta revisão de literatura integrativa se apóia numa metodologia qualitativa baseada nos trabalhos de Rother⁵, Souza, Silva & Carvalho⁶ e em Pereira *et al.*⁷, e no desenvolvimento da pergunta de pesquisa: Quais os principais métodos e resultados da indução de periodontite experimental em camundongos?

Para isto, foi utilizada a base de dados eletrônica *PubMed* (U. S. National Library of Medicine (NLM)) para pesquisar e identificar estudos que respondessem à pergunta norteadora.

Foram utilizadas duas palavras-chave para a composição da chave de pesquisa, sendo os seguintes *MeSHterms*: “Periodontitis” e “Mice”. Em seguida, os pesquisadores

selecionaram os trabalhos com análise no título e resumo, com base nos critérios de elegibilidade. Foi estabelecido o desenvolvimento de 5 etapas (Figura 1) para a busca pelos artigos e desenvolvimento desta revisão integrativa.

Figura 1 – Etapas metodológicas para a seleção dos artigos e desenvolvimento da revisão



Fonte: Os autores, 2021.

Os critérios de elegibilidade foram: artigos publicados na íntegra gratuitamente; artigos que se adequem à temática; pesquisas em animais. Em seguida, artigos que preencheram os critérios de elegibilidade foram identificados e incluídos na revisão. Os trabalhos que preencheram todos os critérios de seleção foram incluídos no estudo, os que não preencheram os critérios e/ou não se mostraram relevantes foram excluídos.

RESULTADOS |

Com a busca avançada através da utilização do *MeSHterm* já mencionado, foram selecionados apenas os artigos que entraram nos critérios de inclusão. Os resultados por análise foram representados na Tabela 1.

A partir da estratégia relatada, foram encontrados 4.192 (quatro mil e cento e noventa e dois) trabalhos na íntegra;

destes, 16 (dezesseis) encontravam-se duplicados nas estratégias de busca, totalizando, assim, 7 (sete) selecionados.

Para isso, estabeleceu-se a construção do Quadro 1 para as pesquisas clínicas que utilizaram metodologias de

indução da periodontite experimental em camundongos e seus resultados para melhor compreensão da influência de tal método. Sendo assim, no Quadro 1 detalhou-se o objetivo da pesquisa, o método de indução de periodontite experimental utilizado e os resultados de cada estudo.

Tabela 1 - Seleção dos artigos por análise empregada e estabelecimento dos critérios de inclusão

Artigos	Íntegra	Duplicados	Artigos selecionados
	4.192	16	7

Fonte: Os autores, 2021.

Quadro 1 – Métodos e resultados detalhados

Autor/Ano	Objetivo	Método de indução	Resultados
Blasco-Baque <i>et al.</i> ⁸ .	Identificar um mecanismo causal responsável para o aumento da resistência à insulina e hiperglicemia após periodontite em camundongos alimentados com um dieta rica em gordura.	1 mL de uma mistura de 109 unidades formadoras de colônia (UFC) de cada patógeno periodontal, como <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>P. gingivalis</i>) em 2% de carboximetilcelulose aplicada na superfície de molares inferiores, quatro vezes por semana, durante 1 mês.	Os patógenos periodontais <i>P. gingivalis</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> e <i>Prevotella intermedia</i> promovem a doença periodontal, distúrbios imunológicos cervicais e sistêmicos, juntamente com disbiose da microbiota periodontal.
Li <i>et al.</i> ⁹ .	Investigar os efeitos do psoraleno e da angelicina no crescimento de <i>P. gingivalis</i> e periodontite induzida por lipopolissacarídeo (LPS) derivado de <i>P. gingivalis</i> e, posteriormente, avaliar seus efeitos na osteogênese em camundongos.	Aplicação de LPS provenientes de <i>P. gingivalis</i> . O sulco gengival palatino do molar dos camundongos no grupo controle foi injetado com 6 µl de solução salina três vezes por semana sob anestesia por 4 semanas, enquanto os camundongos no LPS e na angelicina foram injetados com 6 µl de LPS (10 mg / ml, InvivoGen, San Diego, CA, EUA). Além disso, os ratos do grupo da angelicina foram injetados com 5 µl de angelicina (20 mg / ml) 30 min antes.	Psoraleno e a angelicina tiveram efeitos dependentes da dose benéficos em relação à inibição do planctônico <i>P. gingivalis</i> e biofilmes de <i>P. gingivalis</i> .
Ting <i>et al.</i> ¹⁰	Explorar o efeito da periodontite no peso visceral e coeficiente de animais modelo sob obesidade.	Colocação de ligadura com fio de seda contendo <i>P. gingivalis</i> .	A periodontite pode afetar a morfologia geral dos órgãos internos (especialmente o baço) de animais modelo obesos.
Chi <i>et al.</i> ¹¹ .	Avaliar o papel de periodontite crônica no processo de desenvolvimento de acidente vascular cerebral isquêmico em camundongos.	Injeção de LPS. 20 µg de LPS diluídos em PBS foram injetados bilateralmente nos tecidos gengivais palatinos entre o primeiro maxilar e segundos molares três vezes por semana durante 1 mês. Os camundongos de controle receberam injeções de PBS da mesma maneira.	A periodontite causou perda óssea alveolar; a distância do CEJ ao ABC foi de 0,24 ± 0,01 mm no grupo periodontite + acidente vascular cerebral, obviamente maior do que o do grupo de controle, que foi 0,14 ± 0,01 mm (P <0,001).
Korah <i>et al.</i> ¹² .	Avaliar o efeito da mutação nula de Mx2 durante a periodontite experimental em camundongos.	Camundongos de 12 semanas foram anestesiados intraperitonealmente com uma mistura de cetamina (80 mg / kg) e xilazina (10 mg / kg). Fios de seda preta trançada 6-0 esterilizada foram embebidos em cepa <i>P. gingivalis</i> cultivada em uma câmara anaeróbica por 1 dia e foram colocados no local palatino cervical do primeiro molar superior do lado direito.	A via Mx2 influenciou a resposta do tecido periodontal à periodontite experimental e pareceu ser um fator protetor contra a osteonecrose do osso alveolar.

*continua.

*continuação.

Maekawa <i>et al.</i> ¹³ .	Identificar os genes expressos diferencialmente relevantes (DEGs) e esclarecer o mecanismo subjacente à rápida perda óssea alveolar usando ligadura induzida periodontite em camundongos.	Uma ligadura de seda foi amarrada ao redor do segundo molar superior esquerdo nos camundongos	As moléculas relacionadas com a resposta imune inata podem estar associadas com a destruição do tecido periodontal na periodontite induzida por ligadura.
Ribeiro <i>et al.</i> ¹⁴ .	Examinar a hemodinâmica [pressão arterial (PA), variabilidade PA (APV), frequência cardíaca (HR) e variabilidade da frequência cardíaca (HRV)], função cardíaca (ecocardiograficamente) e inflamação no miocárdio em camundongos Balb / c submetidos à periodontite, por meio da ligadura do primeiro molar esquerdo.	Sob cetamina (100 mg / kg) e xilazina (10 mg / kg), anestesia intraperitoneal, Camundongos Balb / c foram submetidos à ligadura do primeiro molar inferior esquerdo com sutura de seda estéril 4-0 para indução por periodontite.	A periodontite causou disfunção cardíaca, aumento das citocinas cardíacas e hiperatividade simpática, em linha com estudos epidemiológicos que indicam um aumento do risco de eventos cardiovasculares na clínica.

Fonte: Os autores, 2021.

DISCUSSÃO |

No Brasil, aprovou-se em 2008 a Lei 11.794, também conhecida como Lei Arouca, que normatiza os procedimentos para uso científico de animais¹⁵. Com a publicação da lei, foram criadas comissões de ética para uso de animais (CEUA) em cada instituição de pesquisa, assim como o CONCEA, que passou a ser responsável por todas as discussões referentes à criação e ao uso de animais em laboratórios científicos. Ainda que a Lei Arouca tenha passado treze longos anos em tramitação, pode-se afirmar que nenhuma outra lei brasileira tratou com tal exclusividade o tema da experimentação animal¹⁶.

Os camundongos participam da seguinte taxonomia: Classe – *Mamífera*; Ordem – *Rodentia*; Família – *Muridae*; Gênero – *Mus*; e Espécie – *musculus*. Estes animais possuem origem no continente asiático, mas se difundiu por todo o planeta. O suíço albino (*Swiss*) é o ancestral de todas as linhagens². O uso de camundongos em pesquisas possui vantagem por serem animais pequenos, muito prolíferos e serem de fácil domesticação e manutenção⁴.

São animais de hábitos noturnos. Além disso, suas atividades mais incidentes são a exploração do ambiente, acasalamento, procura de alimentos, repouso, auto-higienização e contato físico. Possuem audição apurada e alta sensibilidade a ultrassons (comunicação). Além disso,

ruídos de pico ou súbito causam estresse, podendo levar ao canibalismo dos filhotes pelas suas mães⁴.

Para o desenvolvimento de pesquisas na análise da doença periodontal em animais é importante que as características anatômicas dos dentes do animal utilizados sejam as mais similares possíveis com a dos seres humanos, ou seja, dentes que apresentem três partes distintas: coroa, colo e raiz¹⁷⁻¹⁸. Desta forma, seleciona-se a região anatômica do primeiro molar de roedores que é semelhante à observada em humanos, podendo este elemento dentário ser utilizado em estudos¹⁹.

A doença periodontal, também conhecida como periodontite, é um processo inflamatório ocasionado pelo acúmulo de biofilme próximo à junção amelocementária, manifestando-se clinicamente com sangramento gengival e sem perda de inserção óssea²⁰. A má higiene é o principal motivo para o acúmulo de biofilme e desenvolvimento da gengivite e, se não for tratado, pode se desenvolver a estágios de maior severidade, como a periodontite²¹.

O estudo de meta-análise de Janakiram *et al.*²⁰ destaca evidências científicas relevantes entre a doença periodontal e as doenças cardiovasculares, associadas também com diabetes e síndromes metabólicas. As doenças cardiovasculares, como a aterosclerose, apresentaram como fatores de risco o aumento do colesterol (*low density*

lipoprotein – LDL) e do fator de necrose tumoral em indivíduos com periodontite²¹.

Outrossim, a utilização de animais em pesquisa é bastante cogitada por semelhanças genéticas ou até mesmo bioquímicas entre o corpo humano e os animais. Fazendo referência à utilização de camundongos e o princípio dos 3 R's (*Refinement; Reduction e Replacement*), o uso de camundongos para esta pesquisa é de extrema importância pelas semelhanças anatômicas presentes no 1º Molar animal e humano, estimulando a importância de análise da periodontite induzida por ligadura²⁻⁴.

Para a contenção tomaremos como base Lapchik *et al.*⁴, em que se deve pegar pela base da cauda; levar para o local de contenção; colocar em uma superfície em que o camundongo se agarre; pressioná-lo sobre o dorso e segurar firmemente a pele desta região; e fixar a cauda entre os dedos e a palma das mãos.

Como estes animais são enquadrados no grupo S.P.F., possuem uma microbiota controlada, isentos de organismos patogênicos, sendo necessárias barreiras sanitárias rigorosas, pois são sensíveis às infecções⁸. Na pesquisa de Blasco-Baque *et al.*⁸, os autores identificaram um mecanismo causal responsável para o aumento da resistência à insulina e hiperglicemia após a indução de periodontite em camundongos. Para tal indução, os pesquisadores aplicaram 1mL de uma mistura de 109 UFC de *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia* em 2% de carboximetilcelulose aplicada na superfície de molares inferiores, quatro vezes por semana, durante um mês. Sendo assim, os autores conseguiram promover a doença periodontal, como também acabaram ocasionando distúrbios imunológicos cervicais e sistêmicos, juntamente com uma disbiose da microbiota periodontal.

Os métodos de indução utilizados pelos autores nas pesquisas analisadas foram enquadrados no Quadro 2.

Quadro 2 – Métodos de indução analisados

Métodos	Autores
Aplicação do patógeno diretamente ao tecido gengival	Blasco-Baque <i>et al.</i> ⁸
Aplicação de LPS provenientes de <i>P. gingivalis</i>	Li <i>et al.</i> ⁹ e Chi <i>et al.</i> ¹¹
Colocação de ligadura com fio de seda embebido por <i>P. gingivalis</i>	Ting <i>et al.</i> ¹⁰ e Korah <i>et al.</i> ¹²
Colocação de ligadura com fio de seda sem embebição por bactérias	Maekawa <i>et al.</i> ¹³ e Ribeiro <i>et al.</i> ¹⁴

Fonte: Os autores, 2021.

Na pesquisa de Li *et al.*⁹, houve a indução de periodontite nos camundongos com aplicação de LPS provenientes de *P. gingivalis* para investigar os efeitos do psoraleno e da angelicina no desenvolvimento da periodontite e seus efeitos na osteogênese. Em sua metodologia, os autores injetaram no sulco gengival palatino do molar dos camundongos 6 µl de LPS (10 mg / ml, InvivoGen, San Diego, CA, EUA), em que a psoraleno e a angelicina tiveram efeitos benéficos em relação à inibição do biofilme de *P. gingivalis*, principal indutor da periodontite.

Ting *et al.*¹⁰ avaliaram os efeitos da indução da periodontite no peso visceral e no coeficiente de animais em condição de obesidade, com colocação de ligadura com fio de seda contendo *P. gingivalis*, afetando a morfologia geral dos órgãos internos dos camundongos. Além desse estudo, Ribeiro *et al.*¹⁴ examinaram a hemodinâmica, função cardíaca e inflamação do miocárdio em camundongos, sob cetamina e xilazina com colocação de ligadura no primeiro molar inferior esquerdo com sutura de seda estéril 4-0 para indução por periodontite, observando disfunção cardíaca, aumento das citocinas cardíacas e hiperatividade simpática.

No estudo de Chi *et al.*¹¹, os pesquisadores avaliaram o papel da periodontite crônica no desenvolvimento do acidente vascular cerebral isquêmico em camundongos com injeção de LPS. No método, 20 µg de LPs diluídos em PBS foram injetados bilateralmente nos tecidos gengivais palatinos três vezes por semana durante 1 mês. No resultado da pesquisa, a periodontite causou perda óssea alveolar maior no grupo de periodontite + acidente vascular cerebral do que no grupo controle.

Maekawa *et al.*¹³ identificaram que as moléculas relacionadas com a resposta imune inata podem estar associadas com a destruição do tecido periodontal na periodontite induzida por ligaduras. A colocação da ligadura de seda foi ao redor do segundo molar superior esquerdo nos camundongos.

Os autores Korah *et al.*¹² avaliaram o efeito da mutação nula de *Msx2* durante a periodontite experimental em camundongos através da colocação de fios de seda preta trançada 6-0 esterelizada embebidos com cepa *P. gingivalis* por 1 dia e colocação no primeiro molar superior do lado direito. Sendo assim, a via *Msx2* influenciou a resposta do tecido periodontal à periodontite experimental e pode ser um fator protetor contra a osteonecrose do osso alveolar.

CONCLUSÃO |

A indução de periodontite experimental em camundongos é um método científico importante para a análise e desenvolvimento de novas pesquisas na área da Periodontia em seres humanos. Tal metodologia é necessária para a avaliação de alterações fisiopatológicas de métodos alternativos terapêuticos, como óleos essenciais, no combate a diversos processos patológicos.

Para indução da periodontite, foi observada as seguintes metodologias: Aplicação do patógeno diretamente ao tecido gengival; aplicação de LPS provenientes de *P. gingivalis*; colocação de ligadura com fio de seda embebido por *P. gingivalis*; e colocação de ligadura com fio de seda sem embebição por bactérias. Além disso, houve a apresentação de algumas alterações fisiológicas como distúrbios imunológicos e alterações na frequência cardíaca com a indução de periodontite crônica.

Por fim, os resultados da revisão realizada neste artigo responderam à pergunta norteadora estabelecida na metodologia. Almeja-se o desenvolvimento de pesquisas com relação a possíveis novos processos terapêuticos alternativos para a doença periodontal, como por exemplo, a utilização de óleos essenciais no tratamento de tal processo inflamatório.

REFERÊNCIAS |

1. Guimarães C et al. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. R. Bras. Bioci. 2017; 15(2): 83-89.
2. Sousa RAL et al. Aspectos éticos em animais de laboratório e os principais modelos utilizados em ensaios científicos. RESBCAL. 2013; 2(2): 147- 154.
3. Rêgo J et al. Ética e bem-estar em animais de laboratório. RESBCAL. 2019; 7(1): 69-76.
4. Lapchik V et al. Cuidados e manejo de animais de laboratório. 2ª Ed. Atheneu. 2017.
5. Rother ET. Revisão sistemática X revisão narrativa. Acta Paulista de Enfermagem. 2007; 20(2):v.
6. Souza MT, Silva MD, Carvalho R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. Einstein. 2010; 8(1): 102-106.
7. Pereira AS et al. Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFMS. 2018.
8. Blasco-Baque V et al. Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* drives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response. Gut. 2017; 66(5): 872–885.
9. Li X et al. New Application of Psoralen and Angelicin on Periodontitis With Anti-bacterial, Anti-inflammatory, and Osteogenesis Effects. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2018; 8: 178.
10. Ting Y et al. Impacts of periodontitis on visceral organ weight and weight percentage in obese mice. West China Journal of Stomatology. 2018; 36(5), 514–520.
11. Chi L et al. Increased cortical infarction and neuroinflammation in ischemic stroke mice with experimental periodontitis. Neuroreport. 2019; 30(6): 428–433.
12. Korah L et al. Experimental periodontitis in *Msx2* mutant mice induces alveolar bone necrosis. Journal of Periodontology. 2020; 91(5), 693–704.
13. Maekawa S et al. RNA sequencing for ligature induced periodontitis in mice revealed important role of S100A8 and S100A9 for periodontal destruction. Scientific Reports. 2019; 9(1), 14663.
14. Ribeiro AB et al. Cardiovascular and Autonomic Dysfunction in Murine Ligature-Induced Periodontitis. Scientific Reports. 2020; 10(1): 6891.

15. Brasil. Presidência da República. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. [Internet]. Diário Oficial da União. 2008.
16. Franco AL et al. Pesquisas em animais: uma reflexão bioética. *Acta Bioethica*. 2014; 20(2): 247-253.
17. Dangelo JG, Fattini CA. Anatomia humana sistêmica e segmentar. São Paulo: Atheneu. 2007; 708p.
18. Kardong KV. Vertebrados: anatomia comparada, função e evolução. São Paulo: Rocca. 2010; 913p.
19. Pereira S et al. An alternative, easy and reproducible method of stabilization and ligature-induced periodontitis in mouse. *Methods X*. 2018; 6: 2156-2165.
20. Janakiram C et al. Effectiveness of herbal oral care products in reducing dental plaque & gingivitis – a systematic review and meta-analysis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020; 20: 43.
21. Rathee M, Jain P. Gingivitis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2020.

Correspondência para/Reprint request to:

Matheus Harllen Gonçalves Veríssimo

Rua Prefeito Francisco Rangel, 45,

Jardim Farias, Ingá/PB, Brasil

CEP: 58380-000

E-mail: matheusharllen@gmail.com

Recebido em: 21/07/2021

Aceito em: 11/11/2021