



**UNIVERSIDADE  
FERNANDO  
PESSOA**

# O POTENCIAL DOS BIOMARCADORES SALIVARES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE PATOLOGIAS ORAIS: REVISÃO INTEGRATIVA

[The potential of salivary biomarkers in early diagnosis of oral pathology: Integrative Review]

Dissertação de Mestrado

[Mestrado Integrado em Medicina Dentária]

Chiara Savio

Orientadora:

Doutora Líliana Alexandra Pascoal Teixeira

Junho 2025







# **O POTENCIAL DOS BIOMARCADORES SALIVARES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE PATOLOGIAS ORAIS: REVISÃO INTEGRATIVA**

[The potential of salivary biomarkers in early diagnosis of oral pathology: Integrative Review]

Dissertação de Mestrado

[Mestrado Integrado em Medicina Dentária]

Chiara Savio

Orientadora:

Doutora Líliliana Alexandra Pascoal Teixeira

Junho 2025



## AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente à Professora Liliana Teixeira pela sua orientação, disponibilidade e apoio ao longo de todo o percurso desta dissertação. Os seus conselhos e o seu acompanhamento foram essenciais para a concretização deste trabalho.

Agradeço a todas as pessoas que, de perto ou de longe, estiveram presentes neste percurso tão importante.

Aos meus amigos, Evelina, Sara, Stefano, Pietro, Pietrone, Valerio, Gabriele, Pasve e Tommaso, com vocês estes cinco anos passaram a voar. Obrigada por terem sido a minha segunda família.

Às minhas queridas colegas, Mimì, Giulia e Laura, agradeço-vos por terem suportado com delicadeza as minhas ansiedades e por tornarem os dias na universidade mais leves e agradáveis.

À Ilaria, a primeira verdadeira amiga que este percurso me deu. Foste a minha cúmplice em cada passo e, mesmo que agora já não possa bater à tua porta com a mesma facilidade, sei que a ligação que nos une não conhecerá distância.

Ao Giuseppe, obrigada pelo teu amor atento e dedicado, por teres apertado a minha mão e nunca a teres largado. Obrigada por teres conseguido arrancar-me um sorriso mesmo nos momentos mais complicados.

À minha família, obrigada por apoiarem cada um dos meus desejos e por me envolverem com um amor incondicional. Sei que, com vocês ao meu lado, nunca me sentirei sozinha, nem mesmo do outro lado do mundo.

E, por fim, agradeço ao Porto, a cidade que me acolheu, me fez crescer, me inspirou e que será para sempre a outra metade da minha casa.



## RESUMO

**Introdução:** A saliva é um fluido biológico que reflete o estado de saúde oral e sistêmico de um indivíduo. A recolha é um processo simples e rápido, que constitui uma alternativa eficaz e minimamente invasiva à tradicional análise sanguínea. Através dos testes salivares é possível detetar biomarcadores como enzimas, proteínas, hormonas, e categorizar o microbioma oral, permitindo a identificação precoce de várias patologias. A abordagem conhecida como “Salivómica”, devido à sua capacidade de analisar em profundidade as moléculas presentes na saliva, melhora sensivelmente as capacidades diagnósticas, possibilitando uma análise profunda das moléculas salivares. **Objetivo:** Realizar uma revisão integrativa da literatura demonstrativa da utilidade do uso da saliva como 1) teste diagnóstico para identificação precoce da cárie dentária, da doença periodontal e da Síndrome de Sjögren, 2) como instrumento para elaboração de um tratamento personalizado e preciso destas patologias orais 3) como instrumento de monitorização da progressão da doença e da resposta ao tratamento. **Metodologia:** Pretendeu-se responder à seguinte questão: “Existe atualmente evidência científica suficiente que fundamente a aplicabilidade dos testes salivares no diagnóstico precoce e monitorização das cáries dentárias, doença periodontal e síndrome de Sjögren, em comparação aos métodos diagnósticos convencionais considerando a sua sensibilidade e especificidade?”. Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados online *PubMed*, *Wiley* e *ScienceDirect*. A identificação e seleção dos artigos foram conduzidas utilizando critérios de inclusão e de exclusão previamente elaborados. São incluídos artigos com texto completo publicados entre o 2014 e o 2025, em inglês, italiano e português, que relatam estudos em humanos e que respondem à questão PICO. São excluídos os artigos sem uma versão completa publicados em idiomas diferentes dos indicados, fora do período temporal definido para a seleção e artigos não relacionados com o objetivo da revisão integrativa. **Resultados:** Os estudos analisados demonstraram que os biomarcadores salivares, como a albumina, os componentes do microbioma e eletrólitos salivares, apresentam uma associação significativa com a presença e gravidade da cárie dentária. Nas doenças periodontais, os biomarcadores salivares revelaram capacidade preditiva elevada para distinguir entre o estado de saúde, gengivite e periodontite. No caso da síndrome de Sjögren, o proteoma salivar demonstrou uma elevada sensibilidade diagnóstica. **Conclusão:** Os testes salivares mostram-se promissores no diagnóstico precoce de patologias orais, mas exigem validação adicional e padronização para aplicação clínica segura e eficaz.

**Palavras-chave:** “teste salivar”, “diagnóstico precoce”, “biomarcadores salivares”, “não invasividade”, “proteómica salivar”, “salivaómica”.



## ABSTRACT

**Introduction:** Saliva is a biological fluid that reflects an individual's oral and systemic health status. Its collection is a simple and quick process, constituting an effective and minimally invasive alternative to traditional blood sampling. Through salivary tests, it is possible to detect biomarkers such as enzymes, proteins, hormones, and to categorize the oral microbiome, allowing for the early identification of various pathologies. The approach known as “Salivaomics,” due to its ability to deeply analyse the molecules present in saliva, significantly enhances diagnostic capabilities, enabling an in-depth analysis of salivary molecules. **Objective:** To carry out an integrative literature review demonstrating the usefulness of saliva as: 1) a diagnostic test for early identification of dental caries, periodontal disease, and Sjögren’s syndrome; 2) a tool for developing personalized and precise treatment for oral pathologies; 3) an instrument for monitoring disease progression and treatment response. **Methodology:** This study aimed to answer the following question: “Is there currently sufficient scientific evidence to support the applicability of salivary tests in the early diagnosis and monitorization of dental caries, periodontal disease, and Sjögren’s syndrome, in comparison to conventional diagnostic methods, considering their sensitivity and specificity?” A bibliographic search was conducted in the online databases PubMed, Wiley, and ScienceDirect. Article identification and selection were conducted using previously established inclusion and exclusion criteria. Included were full-text articles published between 2014 and 2025, in English, Italian, and Portuguese, reporting studies in humans and addressing the PICO question. Excluded were articles without a full-text version, published in languages other than those specified, outside the defined time frame, or not related to the objective of the integrative review. **Results:** The analyzed studies demonstrated that salivary biomarkers, such as albumin, microbiome components, and salivary electrolytes, show a significant association with the presence and severity of dental caries. In periodontal diseases, salivary biomarkers revealed a high predictive capacity to distinguish between health, gingivitis, and periodontitis. In the case of Sjögren’s syndrome, the salivary proteome showed high diagnostic sensitivity. **Conclusion:** Salivary tests prove to be promising in the early diagnosis of oral pathologies but require further validation and standardization for safe and effective clinical application.

**Keywords:** “salivary test”, “early diagnosis”, “salivary biomarkers”, “non-invasiveness”, “salivary proteomics”, “salivaomics”.



# ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Composição e funções da saliva.....	1
1.2. Biomarcadores e a abordagem salivaómica .....	2
1.3. Metodologias de recolha salivar para fins diagnósticos .....	4
1.4. Técnicas para deteção de biomarcadores na saliva .....	6
1.5. A carie dentária e a saliva.....	8
1.6. A doença periodontal e a saliva.....	9
1.7. Síndrome de Sjögren .....	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1. Protocolo e registo do estudo.....	13
2.2. Critérios de eleição .....	13
2.3. Fontes de informação e pesquisa .....	14
2.4. Seleção dos estudos e recolha de dados.....	14
3. RESULTADOS .....	17
3.1 Tabelas dos resultados .....	24
4. DISCUSSÃO .....	33
4.1 Cárie dentária.....	33
4.2 Doença periodontal.....	36
4.3 Síndrome de Sjögren .....	37
5. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41



## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Fluxograma de PRISMA para identificação, seleção e inclusão de artigos.... 15



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Funções da saliva relacionadas com os seus diferentes componentes.....	2
Tabela 2 Utilização da metodologia PICO para determinação dos componentes da pesquisa e formulação da pergunta de investigação.....	13
Tabela 3 Definição dos critérios de inclusão e exclusão.....	14
Tabela 4 Biomarcadores salivares identificados para a cárie dentária.....	24
Tabela 5 Biomarcadores salivares identificados para a doença periodontal.....	27
Tabela 6 Biomarcadores salivares identificados para a Síndrome de Sjögren Primaria	30
Tabela 7 Funções dos principais biomarcadores encontrados nos estudos analisados...	31



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, SÍMBOLOS OU ACRÓNIMOS

<b>%</b>	Porcentagem
<b>μM</b>	Micromolar
<b>AM</b>	Adrenomedulina
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância (do inglês Analysis of Variance)
<b>AR</b>	Artrite reumatoide secundária
<b>AUROC</b>	Área sob a Curva Característica de Funcionamento do Receptor (do inglês Area under the Receiver Operating Characteristic Curve)
<b>Br<sup>-</sup></b>	Íon brometo
<b>C5 e C9</b>	Componentes do sistema do complemento
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Ião cálcio
<b>CDC-AAP</b>	Centros de Controlo e Prevenção de Doenças - Academia Americana de Periodontologia (do inglês Centers for Disease Control and Prevention - American Academy of Periodontology)
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Ião cloreto
<b>CP</b>	Ceruloplasmina
<b>CPOD</b>	Cariado, Perdido e Obturado (Dentes)
<b>DEFs</b>	Proteínas Diferencialmente Expressas
<b>DNA</b>	Acido desoxirribonucleico
<b>ECC</b>	Cárie precoce da infância (do inglês Early Childhood Caries)
<b>ELISA</b>	Ensaio de imunoabsorção enzimática (do inglês Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
<b>FCG</b>	Fluido Crevicular Gengival
<b>g/dl</b>	Gramas por decilitro
<b>HP</b>	Haptoglobina

<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês High-Performance Liquid Chromatography)
<b>ICW</b>	<i>In-Cell Western</i>
<b>IL-1</b>	Interleucina-1 beta
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>K<sup>+</sup></b>	Ião potássio
<b>LC-MS</b>	Cromatografia Líquida Espectrometria de Massas (do inglês Liquid ChromatographyMass Spectrometry)
<b>mg/L</b>	Miligramas por litro
<b>mg/ml</b>	Miligramas por mililitro
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	Ião magnésio
<b>MIP-1</b>	Proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa
<b>miRNA</b>	Micro ácido ribonucleico
<b>MMP-8</b>	Metaloproteínas de matriz-8
<b>Na<sup>+</sup></b>	Ião sódio
<b>ng/mL</b>	Nanogramas por mililitro
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Ião amônio
<b>NIH</b>	Instituto Nacional de Saúde (do inglês National Institute of Health)
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Ião nitrato
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>pg/mL</b>	Picogramas por mililitro
<b>PICO</b>	População, Intervenção, Comparação, Resultado (do inglês Population, Intervention, Comparison, Outcome)
<b>PoC</b>	Ponto de atendimento (do inglês Point of Care)
<b>PRISMA</b>	Itens preferenciais de relatórios para revisões sistemáticas e meta-análises (do inglês Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-

	Analyses)
<b>pSS</b>	Síndrome de Sjögren Primária
<b>qPCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (do inglês Quantitative Polymerase Chain Reaction)
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>ROS</b>	Espécies reativas de oxigênio (do inglês Reactive Oxygen Species)
<b>SERPING1</b>	Família Serpin G Membro 1 (do inglês Serpin Family G Member 1)
<b>SERS</b>	Espalhamento RAMAN de superfície melhorada (do inglês Surface Enhanced RAMAN Scattering)
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	Ião sulfato
<b>SROH</b>	Saúde oral autoavaliada (do inglês Self-Rated Oral Health)
<b>SS</b>	Síndrome de Sjögren
<b>TF</b>	Transferrina
<b>UPLC</b>	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (do inglês Ultra-Performance Liquid Chromatography),



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Composição e funções da saliva

Nos últimos anos, os estudos científicos sobre a saliva evidenciaram a importância deste fluido biológico para o diagnóstico precoce de várias doenças orais e sistêmicas. Devido à sua composição rica em biomarcadores, à facilidade de coleta e à natureza não invasiva dos testes, a análise salivar constitui uma alternativa promissora aos métodos diagnósticos tradicionais (Huang et al., 2023; Zhang et al., 2016).

A saliva é um fluido biológico ligeiramente ácido (pH = 6,6-7,1) segregado pelas glândulas salivares maiores (parótidas, sublinguais e submandibulares) e pelas glândulas salivares menores, que se distribuem na mucosa oral (Huang et al., 2023; Zhang et al., 2016).

As glândulas parótidas segregam exclusivamente saliva de tipo seroso, sem mucina. Ao contrário, as glândulas submandibulares e sublinguais são glândulas de tipo misto e produzem uma secreção sero-mucosa. A saliva pode ser considerada o resultado da secreção das glândulas salivares e de outros fluidos originados da mucosa orofaríngea (como os transudados mucosos, bactérias, vírus, fungos e líquido do refluxo gastroesofágico). Além disso, a composição geral da saliva inclui também o fluido crevicular, os resíduos alimentares e os derivados do sangue e do soro (Roi et al., 2019).

A nível químico, a saliva é composta maioritariamente por água (94-99%), mas também contém uma pequena componente orgânica (que inclui mucina, globulina, amilase salivar, ácido úrico, ácido láctico, lisozima, lactoferrina, cortisol e citocinas) e uma componente inorgânica (sódio, potássio, cálcio, cloreto, bicarbonato e fosfato) (Huang et al., 2023).

Esta secreção exócrina, além de sua função de manter a homeostase na cavidade oral, desempenha um papel essencial em diversas funções biológicas, contribuindo para a percepção sensorial (paladar, tacto e temperatura), bem como para a lubrificação dos tecidos orais e para os processos de mastigação, deglutição e digestão (Tabela 1). Além disso, devido à sua capacidade tampão, ajuda a manter o equilíbrio do pH oral, promove a remineralização do esmalte dentário, combate a desmineralização, protegendo assim os dentes do aparecimento de lesões cáries (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

**Tabela 1**

*Funções da saliva relacionadas com os seus diferentes componentes*

<b>Funções salivares</b>	<b>Componentes salivares envolvidos</b>
Lubrificação	Mucinas, glicoproteínas ricas em prolina, água
Antimicrobiana	Amílase, complemento, defensinas, lisozima, lactoferrina, lactoperoxidase, mucinas, cistatinas, histatinas, glicoproteínas ricas em prolina, IgA secretora, inibidores da protease secretada por leucócitos, estaterina, trombospondina
Fatores de crescimento	Fator de Crescimento Epidérmico (EGF), Fator de Crescimento Transformante-alfa (TGF- $\alpha$ ), Fator de Crescimento Transformante beta (TGF- $\beta$ ), Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF-I e IGF-II), Fator de Crescimento do Nervo (NGF)
Integridade da mucosa	Mucinas, eletrólitos, água
Lavagem e limpeza	Água
Capacidade tampão	Bicarbonato, iões fosfato, proteínas
Remineralização	Cálcio, fosfato, estaterina, proteínas ricas em prolina aniônicos
Digestão	Amílase, lípase, protéase, água, mucina

(adaptado de Kaufman & Lamster, 2002)

## **1.2. Biomarcadores e a abordagem salivaómica**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define o biomarcador como qualquer substância, estrutura ou processo mensurável que reflete uma interação entre um sistema biológico e um potencial perigo químico, físico ou biológico. A resposta observada pode ser funcional, fisiológica, bioquímica no nível celular, ou até envolver interações moleculares (Strimbu & Tavel, 2010). De acordo com o *National Institute of Health* (NIH) um biomarcador é uma característica específica que é medida como um indicador de processos biológicos normais, processos patogénicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica. Os biomarcadores podem ser divididos em grupos consoante a sua aplicação em diferentes estádios da doença:

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa

1. Biomarcadores de suscetibilidade ou risco (identificam o risco que o indivíduo tem de desenvolver uma determinada patologia)
2. Biomarcadores de *screening* (revelam a presença de uma doença a nível subclínico)
3. Biomarcadores diagnósticos (identificam a doença de forma evidente, o estágio e a gravidade da patologia)
4. Biomarcadores prognósticos (que previnem o curso da doença e a possibilidade de recidiva)
5. Biomarcadores preditivos (que predizem a resposta do indivíduo à terapia e a sua eficácia). (Ahsan, 2019)
6. Biomarcadores farmacodinâmicos (refletem a resposta biológica após a exposição de um indivíduo a um fármaco ou a um agente ambiental).
7. Biomarcadores de segurança (estimam a probabilidade de que ocorram efeitos adversos após uma terapia médica ou a exposição a um agente ambiental) (Califf, 2018).
8. Biomarcadores mecanísticos (refletem com exatidão os mecanismos biológicos subjacentes a uma doença, permitindo estratificar a doença e, conseqüentemente, personalizar o tratamento) (Robinson et al., 2013).

Os marcadores biológicos estão presentes nos fluidos corporais (como sangue, saliva, urina) e incluem ácidos nucleicos (DNA e RNA), lipídios, metabolitos, proteínas, anticorpos e microrganismos. Assim, se um destes parâmetros estiver alterado em relação aos valores normais, isso pode constituir um sinal de alerta do aparecimento ou presença de uma determinada doença (Ahsan, 2019).

A análise dos biomarcadores salivares é possível através da abordagem "salivaômica" que permite descrever o campo de estudos que envolvem a saliva e as suas biomoléculas. O sufixo "ômica" aplica-se a várias áreas de estudo que analisam e caracterizam especificamente cada uma das biomoléculas, como por exemplo, a proteômica, genômica, transcriptômica, metabolômica. Estes campos de investigação utilizam tecnologias avançadas que analisam biomarcadores para identificar patologias diferentes numa fase muito precoce (Meleti et al., 2021).

A **proteômica** é uma análise meticulosa das proteínas presentes na saliva, fluido no qual foram identificadas mais de 3000 moléculas proteicas, das quais 27% são proteínas

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa

encontradas no sangue. A saliva produzida pelas glândulas submandibulares, por ter uma natureza sero-mucosa, contém cerca de 65% da quantidade total de proteínas salivares, ao contrário da saliva parotídea, que, sendo exclusivamente serosa, possui uma baixa concentração proteica. Entre as proteínas salivares, encontram-se a amilase, mucinas, cistatinas, estaterina e histatina (Meleti et al., 2021).

A **genómica** é a disciplina que estuda o DNA salivar. A partir de sua análise, observa-se que 70% do DNA salivar é de origem humana, enquanto o restante é derivado de microrganismos orais (Dawes & Wong, 2019).

A **transcriptómica**, por sua vez, refere-se à avaliação e ao estudo do RNA salivar. Este ácido nucleico, assim como o DNA, apresenta uma origem mista, sendo parcialmente derivado do organismo humano e parcialmente dos microrganismos orais. Nos últimos anos, tem-se dado especial atenção às moléculas de microRNA, conhecidas pela sua alta sensibilidade e especificidade, enquanto reguladoras de muitos processos celulares (Meleti et al., 2021).

A **metabolómica** é a análise completa dos metabolitos, ou seja, produtos resultantes de processos metabólicos (Magro et al., 2024). Um exemplo é o cortisol, uma hormona esteroide envolvida na regulação do metabolismo e na resposta ao stress. Atualmente, existem no mercado diversos testes salivares capazes de avaliar os metabolitos salivares, com confiabilidade equiparável aos testes hematológicos (Meleti et al., 2021).

### **1.3. Metodologias de recolha salivar para fins diagnósticos**

Para realizar uma recolha correta da amostra salivar, é necessário seguir um procedimento padronizado específico. Antes da realização da colheita, o paciente deve ser submetido a uma anamnese detalhada e, posteriormente, a uma consulta dentária, tanto para excluir patologias que possam alterar a composição do fluido oral quanto para registar sua função salivar (por exemplo, utilizando o teste de Saxon modificado). Em particular, o médico dentista tem o papel de informar e fornecer ao paciente instruções precisas sobre o comportamento a adoptar antes da colheita:

1. A recolha salivar poderá ser realizada só após 14 dias do último tratamento dentário, das 8:00 até as 10:00 da manhã;
2. Evitar ingerir alimentos e líquidos (exceto água) na hora que antecede a colheita;

3. Evitar o consumo de cafeína, álcool e fumar nas 12 horas anteriores à recolha;
4. Evitar escovar os dentes nos 45 minutos anteriores à colheita;
5. Evitar exercício físico intenso;
6. Enxaguar a boca com água antes da colheita (Meleti et al., 2021).

Atualmente, existem várias técnicas que permitem recolher a saliva, seja limitando-a a glândulas específicas (com a possibilidade de estudar as diferenças na composição entre as secreções glandulares), seja obtendo uma amostra representativa de todo o fluido. A saliva total não estimulada pode ser recolhida através de 2 técnicas não invasivas e muito simples, que não precisam de ser realizadas necessariamente por um especialista qualificado, mas podem ser facilmente utilizadas de forma autónoma pelo paciente em casa (Chiappin et al., 2007).

Uma das técnicas é a colheita por *Splitting*, em que se solicita ao paciente que cuspa dentro de um recipiente estéril a cada minuto, por cinco vezes. A outra técnica é a *Passive drooling*, em que o paciente deve acumular saliva sob a língua (sem realizar movimentos orais, como cuspir ou engolir) durante 10 minutos e, ao final desse período, depositar o líquido acumulado num recipiente estéril (Meleti et al., 2021).

Por outro lado, a saliva total estimulada pode ser obtida por meio de métodos físicos ou químicos. Um método físico consiste na mastigação de cera de parafina que, apesar da dificuldade do paciente em manter uma mastigação constante, constitui um método válido, pois não altera a composição salivar (Meleti et al., 2021). Entre os métodos químicos mais conhecidos, encontram-se as moléculas ácidas, entre as quais o ácido cítrico, que, porém, pode interferir na medição de alguns elementos (Chiappin et al., 2007).

Para a recolha salivar de uma única glândula: A técnica ideal para a coleta da saliva parotídea é a *Cannulation* do ducto de Stenon. Todavia, este método é mal tolerado pelos pacientes e, além disso, pressupõe um alto grau de formação por parte de uma equipa especializada para obter uma amostra antes que o fluido segregado entre em contacto com a cavidade oral. Como alternativa, pode-se recorrer a outro procedimento que consiste na colocação de uma esponja estéril ao nível do ducto, imediatamente após o isolamento do campo através de 2 rolos de algodão e 2 aspiradores inseridos ao nível do pavimento da boca. Passados alguns minutos, a esponja será retirada e colocada dentro de uma seringa. Pressionando o êmbolo, a esponja será espremida e o líquido obtido será colocado em

uma proveta estéril. Já para coletar a saliva submandibular e lingual, o médico dentista deve isolar o campo através dos rolos de algodão, depois deve aspirar a saliva produzida com uma seringa sem agulha a cada minuto e, por fim, deve despejar a saliva recolhida numa proveta estéril (Meleti et al., 2021). O processamento da amostra de saliva implica uma centrifugação e utilização de estabilizadores e inibidores de proteases bacterianas para impedir a degradação de muitas moléculas. As amostras de saliva recolhidas podem ser armazenadas à temperatura ambiente, mas somente se a análise for realizada imediatamente ou dentro de 30-90 minutos após a colheita. Se a análise for realizada imediatamente ou dentro das 3 a 6 horas seguintes, as amostras devem ser armazenadas no frigorífico a uma temperatura de +4 °C. Por fim, se as amostras foram analisadas após muitos dias ou meses, deverão ser armazenadas a uma temperatura de -20 °C e, às vezes, até -80 °C (Chiappin et al., 2007).

#### **1.4. Técnicas para deteção de biomarcadores na saliva**

Existem muitas técnicas para detetar e/ou quantificar os diferentes biomarcadores em amostras salivares, que normalmente são comuns a outras amostras biológicas.

A técnica ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) é uma técnica imunoenzimática utilizada para quantificar concentrações de diferentes moléculas presentes em líquidos biológicos. É utilizada especialmente para a dosagem de citocinas, fatores de crescimento, e algumas hormonas. Esta técnica é considerada fiável e com uma elevada reprodutibilidade, uma vez que se baseia no princípio da ligação específica de um antígeno ao seu anticorpo (Gan & Patel, 2013).

A técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) em tempo real, também chamada de PCR quantitativo, é utilizada para a deteção e quantificação de agentes patogénicos através da amplificação de um segmento do seu DNA. Em casos de identificação bacteriana, esta técnica pode ser utilizada em vez de técnicas de cultura, uma vez que é considerada mais rápida e altamente sensível (Kralik & Ricchi, 2017).

A técnica de SERS (*Surface Enhanced RAMAN Scattering*) é caracterizada pela expansão de campos eletromagnéticos produzidos pela excitação de plasmões de superfície de nanoestruturas metálicas (ouro, prata, cobre) (Langer et al., 2020). A técnica de dispersão de luz RAMAN é descrita como o resultado de processos de dispersão de luz inelástica, levando à libertação de luz dispersa. Esta técnica pode ser não ser considerada

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa suficientemente eficaz, apesar da sua velocidade, precisão e fiabilidade (Langer et al., 2020).

A técnica de UPLC (cromatografia líquida de ultra eficiência) é atualmente aplicável a partículas de diâmetro inferior a 2 µm para adquirir melhor resolução, velocidade, e sensibilidade relativamente à técnica de HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência).

O ensaio baseado em esferas Luminex é um tipo de imunoensaio, normalmente utilizado em casos de quantificação de marcadores rápidos, uma vez que têm a capacidade de detetar até 100 elementos únicos em simultâneo (Lynch et al., 2014).

A técnica de LC-MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa) é também uma técnica analítica que envolve uma elevada especificidade, possibilidade de medir múltiplos elementos, e a capacidade de identificar a especificidade na amostra (Kushnir et al., 2010).

A técnica de ICW (*in-cell western*) é uma técnica de imunofluorescência quantitativa, que permite medir de forma rápida e precisa os níveis relativos de proteínas em diversos tipos de amostras, sem a necessidade de destruir as células, o que previne possíveis artefactos (Boveia & Schutz-Geschwender, 2015).

Estas diferentes técnicas foram já utilizadas para detetar potenciais biomarcadores na saliva e cuja presença se relaciona com várias doenças orais, nomeadamente a periodontite e a cárie dentária. Por exemplo, Grande et al. recolheram amostras de saliva estimulada de pacientes com periodontite e sem doença periodontal e quantificaram os níveis salivares das proteínas C3 e C3c do sistema do complemento utilizando a técnica de ELISA. O sistema complemento está envolvido em respostas inflamatórias tanto na bolsa periodontal como no próprio tecido periodontal, onde pode mediar a destruição dos tecidos. Os resultados permitiram concluir que os níveis de C3c salivares têm o potencial de servir como biomarcadores que preveem a resposta clínica ao tratamento periodontal não cirúrgico (Grande et al., 2021)

Noutro estudo, Damle et al. concluíram haver uma correlação entre os níveis de cárie dentária em crianças e os níveis salivares de estreptococos do grupo mutans. Usaram a técnica de PCR para detetar e quantificar os estreptococos na saliva (Damle et al., 2016).

### 1.5. A cárie dentária e a saliva

A cárie dentária é uma patologia infecciosa que afeta os tecidos duros do dente, comprometendo progressivamente a estrutura dentária. Trata-se de uma doença que atinge grande parte da população mundial, caracterizada por um curso crônico-degenerativo e por uma etiologia multifatorial. Um dos principais fatores etiológicos primários desta doença é a produção de ácidos resultantes da metabolização dos hidratos de carbono por bactérias salivares e pelo biofilme dentário. Estes ácidos provocam uma diminuição do pH salivar, causando conseqüentemente a desmineralização dos tecidos dentários. Normalmente, o seu diagnóstico é realizado através de um exame clínico objetivo (visual e tátil), seguido de um exame radiográfico auxiliar para avaliar a extensão do processo carioso. Por outro lado, nos últimos anos, o interesse pelo papel diagnóstico da saliva aumentou significativamente, favorecendo o desenvolvimento de novas abordagens para a detecção precoce da cárie.(Antonelli et al., 2024)

O desenvolvimento da cárie dentária é multifatorial, uma vez que depende da interação entre a dieta, a suscetibilidade do hospedeiro e a microbiota oral. Vários estudos destacaram que, dado que os dentes estão constantemente imersos na saliva, este fluido desempenha um papel essencial na monitorização destes três aspetos. De facto, graças às suas propriedades intrínsecas, a saliva é uma matriz promissora para a investigação de biomarcadores moleculares(Alamoudi et al., 2022).

O teste salivar representa um meio que permite avaliar a cariorecetividade, ou seja, a suscetibilidade individual ao desenvolvimento de cáries, independentemente da presença de lesões no momento da consulta. Este teste mede vários parâmetros, como o fluxo salivar, a capacidade tampão, o pH e a concentração de *Streptococcus Mutans*. Estudos científicos demonstram uma maior incidência de cáries em indivíduos com fluxo salivar reduzido, capacidade tampão comprometida e uma maior concentração salivar de *Streptococcus Mutans* (Ferdeghini & Nobili, 2011).

Em condições normais, a concentração de bactérias cariogénicas na saliva é reduzida; no entanto, em pacientes com elevado índice de cárie, verifica-se um aumento significativo da carga bacteriana. Em particular, estudos baseados em culturas microbianas indicam que as espécies *Streptococcus Mutans* e *Lactobacillus sp.* são os principais microrganismos associados à progressão da cárie dentária. O *Streptococcus Mutans*, uma bactéria Gram-positiva, desempenha um papel determinante tanto no aparecimento como na progressão da doença. Por outro lado, o *Lactobacillus sp.* não coloniza a superfície do

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa  
esmalte dentário com a mesma eficácia, estando mais envolvido em lesões cáries já estabelecidas (Guo & Shi, 2013).

A utilização e a avaliação dos resultados dos testes salivares, em conjunto com a dieta, a higiene oral do paciente e a exposição ao flúor, permitem individualizar o nível de risco do paciente. Desta forma, o médico dentista poderá adotar medidas preventivas não invasivas e personalizadas, ajustando os hábitos higiênicos e alimentares, e utilizando medidas preventivas adicionais (Ferdeghini & Nobili, 2011).

Além disso, alguns estudos recentes evidenciaram a interação entre a cárie dentária e as proteínas salivares. Embora tenham sido observadas algumas variações nos níveis dessas proteínas entre indivíduos com e sem cárie, os resultados ainda não são conclusivos. Alguns estudos sugerem que determinadas proteínas podem favorecer o crescimento bacteriano e a adesão à superfície dentária, aumentando assim o risco de cárie. No entanto, são necessárias mais investigações para esclarecer o seu papel como potenciais biomarcadores da cárie dentária. Assim, para compreender plenamente a relevância da saliva na prevenção da cárie, é fundamental considerar este fluido como um conjunto, avaliando os seus efeitos em combinação com outros fatores de risco para a cárie, como a dieta, a exposição ao flúor e as variáveis comportamentais (Guo & Shi, 2013).

#### **1.6. A doença periodontal e a saliva**

A periodontite é uma doença crónica muito comum, caracterizada pela inflamação dos tecidos de suporte dos dentes, a ruptura do tecido conjuntivo e a destruição do osso alveolar. Esta condição está associada a colónias de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e constitui uma das principais causas de mobilidade e perda dos dentes a nível global. O diagnóstico é realizado por meio da avaliação de parâmetros clínicos e radiográficos que, embora confiáveis, apresentam limitações, como a necessidade de pessoal qualificado, custos elevados e a capacidade de detetar a doença apenas após danos significativos. Nos últimos anos, os fluidos orais, como o fluido crevicular gengival (FCG) e a saliva, têm sido estudados como métodos diagnósticos alternativos. O FCG, exsudato inflamatório recolhido em tiras de papel de filtro, está fisiologicamente presente em quantidades reduzidas, mas aumenta na presença de inflamação, tornando-se um marcador útil para o diagnóstico da periodontite. A sua recolha exige grande empenho técnico, necessitando de equipamentos específicos e podendo também estar sujeita a

contaminação por sangue, saliva ou placa. A recolha de saliva, por outro lado, constitui uma ferramenta de diagnóstico simples, não invasiva e rápida, requerendo menos recursos. Além disso, ao contrário do FCG, a saliva provém de todos os locais periodontais, oferecendo assim uma avaliação global do estado de saúde oral do paciente (Miller et al., 2010).

### **1.7. Síndrome de Sjögren**

A síndrome de Sjögren é uma doença inflamatória crónica autoimune que leva à destruição das glândulas exócrinas, afetando principalmente as glândulas salivares e lacrimais. Esta patologia pode manifestar-se de forma primária, quando não está associada a outras doenças, ou de forma secundária, quando surge juntamente com outras condições autoimunes, como a artrite reumatoide ou o lúpus eritematoso sistémico (Shahsavari & Liu, 2024).

A etiologia exata da doença ainda não é totalmente conhecida, mas parece estar relacionada com uma predisposição genética, fatores ambientais e imunológicos. A doença afeta mais frequentemente as mulheres, com uma relação de cerca de 9:1 em relação aos homens, geralmente na quinta década de vida. Os sintomas clássicos são secura ocular (xeroftalmia) e secura bucal (xerostomia). A nível oral, devido à xerostomia, os pacientes com SS apresentaram dificuldades em engolir alimentos secos, necessidade de beber com frequência, sensação de ardor na boca e alteração do paladar. Outro sintoma é o aumento das glândulas salivares major, mais frequentemente as glândulas parótidas. Embora em muitos casos a patologia esteja limitada às glândulas exócrinas, muitos pacientes desenvolvem manifestações sistémicas extra-glandulares, incluindo aquelas pulmonares, renais, cutâneas e neurológicas. Devido à redução da saliva, com conseqüente perda das suas propriedades lubrificantes e antimicrobianas, os pacientes com esta patologia estão mais sujeitos a complicações, como cáries dentárias, doença periodontal e candidíase oral (Negrini et al., 2022).

Para diagnosticar a SS, é necessário que os médicos recolham uma combinação de testes nos olhos e na boca, análises ao sangue e biópsias. Até hoje, foram desenvolvidos vários critérios diagnósticos, sendo os mais utilizados os do *American-European Consensus Group*. Nesta classificação, são considerados 6 elementos diferentes para cada paciente: sintomas oculares, sintomas orais, sinais oculares, histopatologia, o envolvimento das

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa glândulas salivares e os autoanticorpos no sangue. Se 4 ou mais parâmetros forem positivos, o paciente pode ser considerado como tendo a síndrome (Gomes et al., 2012).

O envolvimento das glândulas salivares e lacrimais na fisiopatologia da Síndrome de Sjögren sugere que a saliva e as lágrimas podem refletir a disfunção glandular. Nos últimos anos, os avanços nas tecnologias de alto rendimento tornaram a proteômica salivar uma ferramenta promissora para o diagnóstico, monitorização e prognóstico do SS. A saliva, composta por biomoléculas e constituintes ômicos sensíveis a mudanças patológicas, tem-se afirmado como um biofluido inovador para a identificação de biomarcadores específicos e, ao contrário da biópsia das glândulas salivares, oferece um método de coleta não invasivo e facilmente repetível. Em conclusão, a proteômica salivar tem o potencial não só para identificar biomarcadores úteis ao diagnóstico da SS, mas também para identificar as vias patogênicas subjacentes aos diferentes subgrupos da doença, abrindo caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas direcionadas (Katsiogiannis & Wong, 2016).

O objetivo deste trabalho de revisão integrativa da literatura é demonstrar o uso da saliva como teste diagnóstico para identificação precoce da cárie dentária, da doença periodontal e da Síndrome de Sjögren, bem como instrumento para elaboração de um tratamento personalizado e preciso destas patologias orais.



## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Protocolo e registo do estudo

O protocolo relativo à metodologia de investigação desta revisão integrativa foi elaborado de acordo com as guidelines da PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*).

### 2.2. Critérios de eleição

Através desta revisão integrativa pretende-se responder à seguinte questão: “Existe atualmente evidência científica suficiente que fundamente a aplicabilidade dos testes salivares no diagnóstico precoce das cáries dentárias, doença periodontal e síndrome de Sjögren, em comparação aos métodos diagnósticos convencionais considerando a sua sensibilidade e especificidade?”. Para a formulação desta pergunta foram considerados os critérios PICO (População, Intervenção, Comparação e *Outcome*) que podem ser consultados na Tabela 2. Para a seleção dos artigos foram aplicados critérios de inclusão e exclusão (Tabela 3).

**Tabela 2**

*Utilização da metodologia PICO para determinação dos componentes da pesquisa e formulação da pergunta de investigação*

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO
POPULAÇÃO (P)	Estudos que abordam métodos de diagnóstico e monitorização salivar para cárie dentária, patologias periodontais e Síndrome de Sjögren
INTERVENÇÃO (I)	Deteção precoce de biomarcadores salivares específicos para tais patologias orais
COMPARAÇÃO (C)	Métodos diagnósticos convencionais (exames clínicos/sanguíneos)
OUTCOME (O)	Avaliação da fiabilidade, sensibilidade e especificidade de métodos de diagnóstico e monitorização salivar

### Tabela 3

Definição dos critérios de inclusão e exclusão

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
Estudos de coorte, ensaios clínicos randomizados	Artigos sem uma versão <i>full-text</i> , publicados em idiomas diferentes dos indicados e fora do período temporal definido para a seleção
Artigos de acesso gratuito publicados em português, inglês e italiano, relacionados com o objetivo do estudo	Artigos não relacionados com a temática e que não se enquadram no objetivo e na temática do estudo
Artigos com texto completo publicados entre 2014 e 2025	Artigos que, embora relacionados com o uso de biomarcadores salivares, não respondem à questão PICO por abordarem exclusivamente outras patologias

### 2.3. Fontes de informação e pesquisa

Para a elaboração desta revisão integrativa foi realizada uma pesquisa bibliográfica, nas bases de dados online de artigos científicos *PubMed*, *Wiley* e *ScienceDirect* foram considerados artigos científicos publicados desde 2014 até março de 2025. A estratégia de pesquisa realizada nas diversas plataformas foi baseada na combinação dos termos MeSH, utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR” para aumentar a precisão da seleção de estudos. Os termos empregados foram: (((salivary test) AND (early diagnosis)) AND (salivary biomarkers)) AND (non-invasiveness) AND (salivary proteomics) OR (salivaomics).

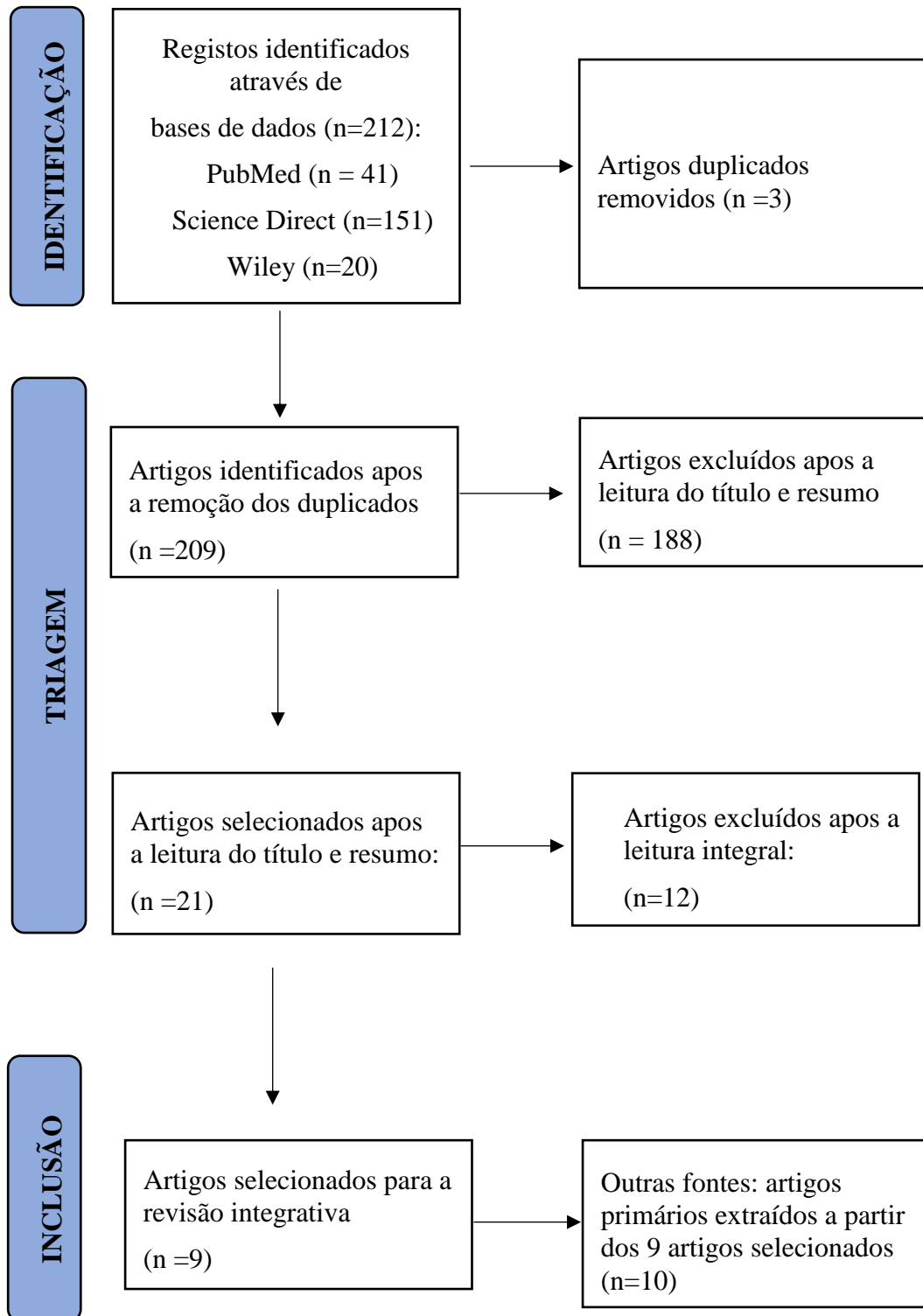
### 2.4. Seleção dos estudos e recolha de dados

A pesquisa inicial identificou um total de 212 artigos. Após a remoção de 3 artigos duplicados, o número total de artigos considerados foi reduzido para 209. Em seguida, foi realizada uma primeira fase de seleção, baseada na leitura do título e resumo, que resultou na exclusão de 188 artigos, deixando 21 artigos para leitura integral. Após a leitura completa dos textos, foram considerados 9 artigos para a revisão. No entanto, dado que estes artigos eram revisões sistemáticas e meta-análises, foi realizada uma pesquisa adicional para identificar artigos primários dentro dessas revisões. Este processo levou à seleção de 10 artigos primários, que abrangem um período temporal entre 2014 e 2025.

O processo de triagem encontra-se definido no diagrama PRISMA que pode ser consultado na figura 1.

**Figura 1.**

*Fluxograma de PRISMA para identificação, seleção e inclusão de artigos.*





### 3. RESULTADOS

Após a conclusão da etapa de pesquisa da literatura sobre os biomarcadores salivares, foram identificados 10 estudos sendo quatro sobre cárie, quatro sobre doença periodontal e dois sobre a síndrome de Sjögren. Com base nesses artigos foram criadas três tabelas (Tabela 4, 5 e 6), uma para cada patologia, organizadas de acordo com a abordagem ômica utilizada. Por fim, para ter uma visão global mais clara, foi criada uma tabela adicional que apresenta as funções dos biomarcadores examinados em todos os estudos (Tabela 7). Para uma compreensão mais aprofundada do tema, foi realizada uma análise detalhada de cada artigo selecionado, permitindo a exploração de diferentes abordagens clínicas e metodológicas.

O estudo de Hegde (2014) analisou a relação entre cárie dentária e albumina, selecionando 80 indivíduos com idades entre os 20 e os 30 anos, divididos em 4 grupos com base na progressão da cárie. O Grupo 1 apresentava cáries restritas ao esmalte, o Grupo 2 cáries com atingimento à dentina, o Grupo 3 cáries com proximidade pulpar e o Grupo 4, era composto por pacientes sem cáries. Os autores determinaram a presença de cárie dentária através de um exame objetivo e de um exame radiográfico, considerando que, se o paciente tivesse apresentado múltiplas lesões de cárie, teria sido classificado segundo a cárie mais grave. Além disso, os pacientes selecionados estavam livres de doenças sistêmicas, pois condições como diabetes, doença periodontal e tratamentos radioterápicos ou quimioterápicos podem alterar a secreção salivar. A recolha das amostras foi realizada através de uma recolha de sangue e de saliva, e posteriormente foi realizada uma análise com o kit Agappe Albumin<sup>®</sup>, baseado numa reação colorimétrica com o Bromocresol, reagente que tem a função de colorir a solução proporcionalmente à concentração de albumina presente na amostra. A recolha salivar foi efetuada entre as 9:00 e as 10:00 da manhã utilizando o método de produção de saliva não estimulada. Os pacientes, a partir de 1 hora antes da recolha, não puderam beber, comer, fumar ou lavar os dentes. Após a análise das amostras, verificou-se que os indivíduos com cárie dentária e mesmo aqueles suscetíveis a cáries apresentavam níveis mais baixos de albumina salivar e sérica, sugerindo uma relação inversa entre a progressão da cárie e a concentração de albumina. Assim, a albumina sérica e salivar representam dois biomarcadores úteis no diagnóstico precoce de cárie dentária.

Analogamente, o estudo de Khandelwal & Palanivelu (2019) também confirma o papel da albumina como potencial biomarcador. Foram selecionados 60 indivíduos saudáveis entre os 18 e os 40 anos, divididos em 4 grupos de 15 pacientes cada, catalogados conforme a pontuação CPOD. A recolha salivar foi realizada entre as 10:00 e as 11:00 da manhã utilizando o método de Dawes, seguindo as mesmas restrições alimentares e de higiene indicadas no estudo de Hegde (2014). A saliva recolhida foi centrifugada a 3000 rotações/ min durante 15 minutos e o sobrenadante foi separado. Por fim, a amostra foi refrigerada a  $-10^{\circ}\text{C}$  até à avaliação do nível de albumina. Também neste caso, a concentração de albumina foi estimada utilizando o kit Agappe Albumin<sup>®</sup>. Os resultados obtidos mostraram um aumento da incidência da cárie dentária com a diminuição gradual dos níveis de albumina salivar. De facto, os valores médios de albumina salivar nos diferentes grupos foram de 0,086 mg/ml nos pacientes sem cáries, 0,083 mg/ml nos sujeitos com CPOD entre 1 e 5, 0,070 mg/ml naqueles com CPOD entre 6 e 10 e 0,056 mg/ml nos pacientes com CPOD superior a 10. A análise estatística mediante teste ANOVA a uma via evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, com exceção dos grupos 1 e 2, onde a diferença verificada não foi significativa ( $P > 0,05$ ).

Teng et al. (2015) analisaram, por sua vez, as variações do microbioma oral, ou seja, um ecossistema dinâmico que sofre alterações em função do tempo e do espaço. De facto, a composição do microbioma é influenciada por muitos fatores, entre os quais o crescimento, o envelhecimento, a dieta e a diversidade de habitats como a saliva e o biofilme. Este estudo experimental examinou o microbioma oral de 50 crianças de 4 anos durante um período de dois anos, a fim de compreender as variações da microbiota em relação ao aparecimento da cárie. Os resultados mostram que as alterações da microbiota oral são mais evidentes durante a fase de aparecimento da cárie do que durante a sua progressão. Além disso, as crianças consideradas saudáveis, mas em risco, apresentavam mais bactérias do género *Prevotella spp* em comparação com o *Streptococcus Mutans*, tradicionalmente o microrganismo mais associado à cárie dentária. Além disso, estes autores desenvolveram o modelo "Indicadores Microbianos da Cárie", que não só é capaz de prever o aparecimento da ECC (*Early Childhood Caries*) com uma precisão de 81%, mas também é capaz de diagnosticar a cárie dentária com uma precisão de 70%. Portanto, é possível identificar as crianças com risco de cárie antes que se manifestem os primeiros sinais clínicos.

Outro estudo relativo à relação entre microbioma e cárie infantil foi conduzido por Zhang

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa et al. (2021), no qual foram analisadas as diferenças no microbioma salivar entre 331 crianças, das quais 166 sem cárie (Grupo H: CPOD=0) e 165 com cárie (Grupo C: CPOD $\geq$ 4). As crianças, com idades compreendidas entre 4 e 6 anos, foram selecionadas excluindo qualquer criança que apresentasse doenças congénitas ou sistémicas, aparelhos ortodônticos, má oclusão, doenças gengivais e periodontais, bem como crianças que, nos últimos 3 meses, tivessem tido urgências dentárias ou tivessem tomado antibióticos, probióticos ou flúor aplicado em consultório. Inicialmente foi realizado um cuidadoso exame clínico (visual e tátil) para classificar os dentes segundo o índice CPOD. Após fornecer aos pais as recomendações padrão pré-colheita, foram efetuadas as recolhas, pedindo-se às crianças que cuspirem lentamente saliva não estimulada para um tubo de 50 ml durante 5 minutos. As amostras foram transferidas para 4°C até ao término da recolha e, posteriormente, foram centrifugadas a 3.000 rotações/min à temperatura ambiente durante 10 minutos, sendo o sobrenadante conservado a -80°C. A análise das amostras permitiu estudar o microbioma e as concentrações de diversos eletrólitos salivares. O estudo evidenciou que os índices de diversidade alfa (Shannon, Simpson e Chao1) eram significativamente mais elevados no grupo com cárie ( $p = 0,0062, 0,0048, 0,0074$ ), indicando uma maior variedade de espécies microbianas em comparação com o grupo saudável. Pelo contrário, a análise da diversidade beta mostrou que a microbiota nas crianças com cárie era mais semelhante e estável, enquanto nas crianças saudáveis era mais variável ( $p = 0,03$ ). Além disso, no grupo com cárie foi detetada uma concentração aumentada de algumas bactérias, entre as quais *Prevotella*, *Mogibacterium* e *Atopobium* ( $p = 8,40e-4, 8,81e-3, 1,57e-4$ ). As concentrações de alguns eletrólitos, como  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NH_4^+$ ,  $Na^+$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Br^-$ , eram significativamente mais elevadas nas crianças com cárie, enquanto os níveis de pH e  $NO_3^-$  eram superiores nas crianças saudáveis e negativamente correlacionados com o CPOD. A abundância de *Streptococcus Mutans* mostrou uma correlação positiva com as concentrações de  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $K^+$  e  $Mg^{2+}$ .

Verhulst et al. (2019) desenvolveram uma ferramenta clínica rápida e não invasiva para o diagnóstico precoce da periodontite, motivados pela ligação com outras doenças como a diabetes e as doenças cardiovasculares. Isto evidencia a importância da interdisciplinaridade entre as profissões de saúde e, em particular, entre a profissão médico-dentária e as outras especialidades médicas. Para este estudo, foram recrutados 156 novos pacientes com idade  $\geq 18$  anos e com pelo menos um dente natural, divididos em três grupos com base na gravidade da periodontite. Foram excluídos os pacientes

edentulos com ou sem prótese total. Os pacientes selecionados completaram um questionário sobre saúde oral de auto-preenchimento (SROH), realizaram uma recolha oral e um exame periodontal. O questionário era composto por 8 perguntas de resposta fechada, com a possibilidade de responder "não sei" ou de se abster de responder. A recolha oral foi realizada através de um único bochecho com 10 ml de cloreto de sódio a 0,9% durante 30 segundos, sem indicações especiais, exceto a de engolir uma vez antes de iniciar o protocolo. Por fim, foi realizado um exame periodontal, que previa a medição da recessão gengival, da profundidade de sondagem e do sangramento. A classificação da periodontite baseou-se na definição dos *Centers for Disease Control and Prevention-American Academy of Periodontology (CDC-AAP)*, distinguindo entre periodontite grave, moderada e ligeira ou ausente. Através do método ELISA, foram analisadas as concentrações de albumina e de metaloproteinase-8 da matriz (MMP-8), enquanto as atividades da quitinase e da protéase foram medidas nos bochechos orais. Dos 156 pacientes participantes, 67% foram classificados com periodontite total e 33% com periodontite grave. O estudo detetou uma concentração aumentada de albumina e um incremento da atividade da quitinase e da protéase nos pacientes com periodontite, enquanto a MMP-8 não mostrou uma associação significativa. Os modelos preditivos desenvolvidos demonstraram uma elevada precisão, com uma AUROCC de 0,91 no caso do modelo que integrava biomarcadores salivares, questionário de saúde oral e dados demográficos. Pelo contrário, a exclusão de qualquer um dos critérios acima indicados produziu resultados menos precisos.

Também Gopinath et al. (2019) realizaram um estudo sobre a albumina salivar com o objetivo de comparar os níveis desta proteína em 45 pacientes saudáveis e 45 pacientes com periodontite crónica. Foram excluídos todos os indivíduos com doenças sistémicas, fumadores, mulheres grávidas ou a amamentar, e pacientes que, nos últimos 6 meses, tinham tomado antibióticos, anti-inflamatórios e esteroides, e que tinham sido submetidos a tratamento periodontal. A presença da doença periodontal foi evidenciada através de um exame clínico e radiográfico. A recolha da saliva não estimulada ocorreu entre as 11:00 e as 12:00 da manhã, de acordo com as condições padronizadas. Também neste caso, a concentração de albumina foi estimada utilizando o método do Bromocresol Green<sup>®</sup>. Os resultados do teste mostram que a concentração média de albumina salivar nos pacientes com periodontite crónica era substancialmente maior do que no grupo com periodonto saudável (respetivamente  $822,91 \pm 277,91$  e  $310,33 \pm 37,75$ ).

O estudo de Hussain et al. (2016) foi centrado nos níveis de adrenomedulina (AM) e óxido nítrico (NO) nos tecidos gengivais e nos fluidos orais na doença periodontal. Estas moléculas antibacterianas estão envolvidas em processos fisiológicos e patológicos: a AM tem um efeito protetor contra as bactérias, enquanto o NO, embora seja um agente antimicrobiano eficaz, está frequentemente associado à destruição dos tecidos. O estudo envolveu um grupo de 27 pacientes, dos quais 9 eram pessoas com gengivite, 9 com periodontite crónica e 9 com periodontite agressiva. Foram realizadas uma recolha de tecido, uma do fluido crevicular e uma salivar. A recolha da saliva não estimulada ocorreu através de expetoração numa proveta, enquanto o fluido crevicular gengival foi recolhido através de tiras de papel inseridas nas bolsas periodontais a uma profundidade de 1-2 mm durante 30 segundos. Os resultados mostraram que nos tecidos inflamados os níveis de células que expressavam AM e iNOS eram três vezes superiores em comparação com os tecidos saudáveis. Os níveis de AM e NO na saliva eram significativamente mais elevados ( $p < 0,01$ ) nos pacientes com periodontite agressiva em comparação com os com periodontite crónica ou gengivite. Por outro lado, no fluido crevicular gengival, os níveis de NO variavam significativamente entre os diferentes grupos ( $p < 0,01$ ), enquanto os níveis de AM eram mais elevados na periodontite crónica e agressiva em comparação com a gengivite ( $p < 0,01$ ). Estes dados sugerem uma correlação entre AM e NO na doença periodontal e indicam que a sua abundante presença na saliva poderia torná-los potenciais biomarcadores para a periodontite agressiva.

O estudo realizado por Ebersole et al. (2015) desempenhou um papel crucial na identificação de biomarcadores salivares indicadores da ocorrência de periodontite. A pesquisa foi realizada com um grupo de 209 indivíduos saudáveis (>18 anos e com pelo menos 20 dentes), divididos em: saudáveis ( $n=65$ ), gengivite ( $n=43$ ) e periodontite ( $n=101$ ). Foram excluídos os indivíduos com doenças locais, sistêmicas e transplantados, aqueles que consumiam álcool habitualmente, pacientes com tratamentos prévios para doenças periodontais, mulheres grávidas ou em amamentação, pacientes que haviam sido submetidos a terapia antibiótica ou imunossupressora recente, com sintomas de doenças agudas, com próteses removíveis e/ou aparelhos ortodônticos ou com condições inflamatórias da mucosa oral. Todos os pacientes foram submetidos a um exame clínico periodontal e coleta salivar. Os sujeitos expetoraram pelo menos 5 ml de saliva não estimulada em tubos estéreis contendo uma solução de inibidor de protéase liofilizada (SIGMAFast)®. O MILLIPLEX MAPKit® foi utilizado para analisar as amostras de

saliva individuais utilizando um instrumento Luminex 100IS<sup>®</sup>, revelando que as concentrações de IL-1 $\beta$ , IL-6, MMP-8 e MIP-1 $\alpha$  eram muito mais elevadas no grupo com periodontite em comparação com os níveis nos sujeitos com gengivite e nos saudáveis.

O estudo de Peng et al. (2023) centra-se no papel dos exossomas plasmáticos na síndrome de Sjögren primária (pSS), ou seja, pequenas vesículas extracelulares que transportam moléculas que podem fornecer informações sobre a progressão desta doença. Para avaliar a ferroptose, processo implicado no dano das células epiteliais das glândulas exócrinas, foi selecionado um grupo de 86 pacientes com pSS e vários grupos de controlo (apresentados na Tabela 6). Os pacientes foram submetidos ao teste salivar de Schirmer I para avaliar a quantidade de saliva segregada por minuto, seguido de uma recolha plasmática. Através da análise dos exossomas, foram identificadas um total de 24 proteínas diferencialmente expressas (DEP), 17 proteínas apresentaram-se sobre-reguladas, enquanto 7 estavam sob-reguladas. Entre estas, a ceruloplasmina (CP) e a transferrina (TF), responsáveis pela homeostase do ferro, mostraram-se reduzidas nos pacientes com pSS, assim como o C5, C9, a haptoglobina (HP) e o SERPING1, sugerindo que também estas últimas poderiam estar envolvidas nos mecanismos patológicos da ferroptose. Assim, surgiu que os exossomas plasmáticos e salivares dos pacientes com pSS contêm níveis mais elevados de SSA e SSB, marcadores das glândulas exócrinas. Além disso, foi realizada a biópsia das glândulas labiais de 6 pacientes com pSS e 6 pacientes com nSS. Os resultados mostraram que as células epiteliais das glândulas com biópsia positiva eram mais suscetíveis à ferroptose do que as células com biópsia negativa, sugerindo que a ferroptose poderia ter um papel importante no dano dessas glândulas.

Também o estudo de Sembler-Møller et al. (2020) se baseia na pesquisa de biomarcadores salivares para um diagnóstico mais preciso da pSS. Foram selecionados 60 pacientes com idades entre os 18 e os 75 anos e com sintomas de secura oral e/ou ocular, sendo depois divididos em dois grupos: os pacientes com pSS (n=24) e com sintomas de pSS, mas que não satisfizeram os critérios das classificações atuais (n=16). Os pacientes foram submetidos a uma sialometria, seguida de uma biópsia das glândulas salivares labiais e uma colheita de sangue. Foram identificadas 1013 proteínas na saliva, 219 no plasma e 3166 nos tecidos das glândulas salivares. Na saliva dos pacientes com pSS, foram identificadas 40 proteínas, das quais 34 estavam relacionadas positivamente (com processos imuno-inflamatórios) e 6 estavam relacionadas positivamente com a secreção

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa salivar. Em particular, três proteínas: a elastase de neutrófilos, a calreticulina e a proteína contendo o motivo tripartido 29, mostraram uma precisão diagnóstica de 97%, sugerindo que a análise proteômica é um método promissor para o diagnóstico de pSS.

### 3.1 Tabelas dos resultados

**Tabela 4**

*Biomarcadores salivares identificados para a cárie dentária.*

Cárie dentária					
Metodologia	Biomarcador	Participantes	Autor (ano) Estudo	Objetivo	Resultado
PROTEÓMICA	Albumina salivar	80 indivíduos saudáveis (idade: 20-30 anos) distribuídos em 4 grupos: Grupo 1: cáries no esmalte Grupo 2: Cáries dentinárias Grupo 3: Cáries com proximidade pulpar Grupo 4: Grupo de controle (ausência de cáries).	Hegde (2014) Estudo <i>in vivo</i>	Avaliar a relação entre a cárie dentária e os níveis de albumina salivar e sérica em jovens adultos	Os níveis de albumina salivar e sérica diminuíram com o aumento da gravidade da cárie, apresentando respectivamente estes valores: Grupo 4: 0,083 mg/ml e 4,67 g/dl Grupo 1: 0,072 mg/ml e 3,80 g/dl, Grupo 2: 0,059 mg/ml e 2,63 g/dl, Grupo 3: 0,037 mg/ml e 1,79 g/dl Os níveis de albumina têm relação inversa com a progressão de cárie.

Cárie dentária					
Metodologia	Biomarcador	Participantes	Autor (ano) Estudo	Objetivo	Resultado
PROTEÓMICA	Albumina salivar	60 adultos saudáveis (idade: 18–40 anos) categorizados de acordo com o CPOD: Grupo 1: CPOD 0; Grupo 2: CPOD 1-5; Grupo 3: CPOD 6-10; Grupo 4: CPOD > 10	Khandelwal & Palanivelu (2019) Estudo <i>in vivo</i>	Avaliar a relação entre a cárie dentária e níveis de albumina salivar na saliva não-estimulada na população adulta	Os níveis médios de albumina salivar para os grupos 1, 2, 3 e 4 foram de $0,086 \pm 0,009$ mg / ml, $0,083 \pm 0,006$ mg / ml, $0,070 \pm 0,008$ mg / ml e $0,056 \pm 0,009$ mg / ml, respectivamente. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos exceto entre o 1 e 2. Há relação entre a incidência de cárie dentária e os níveis de albumina.
MICROBIOMA	<i>Prevotella spp.</i> , <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Veillonella spp</i>	50 crianças de idade pré-escolar acompanhadas por 2 anos, divididas em grupos: saudáveis, com cáries iniciais e com experiência de cáries em progressão	Teng et al. (2015) Estudo longitudinal experimental	Investigar como a microbiota oral muda com o desenvolvimento da cárie e prever o aparecimento futuro de cáries com base em biomarcadores microbianos	Alterações no microbioma são mais marcantes no início da cárie do que na progressão. O género <i>Prevotella</i> demonstrou uma associação significativa, enquanto <i>Streptococcus mutans</i> não mostrou muita relevância. O modelo desenvolvido permite com base no microbioma, diagnosticar caries precoces de infância, com 71% de precisão e de prever o seu aparecimento com 81% de precisão.

Cárie dentária					
Metodologia	Biomarcador	Participantes	Autor (ano) Estudo	Objetivo	Resultado
MICROBIOMA E ELETROLITOS SALIVARES	<b>Eletrólitos salivares</b> (K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Br <sup>-</sup> )	331 crianças divididos em 2 grupos: Grupo H: 166 crianças sem carie Grupo C: 165 crianças com ECC	Zhang et al. (2021) Estudo observacional transversal	Avaliar o valor preditivo dos eletrólitos salivares em comparação com o microbioma na detecção de cárie precoce infantil (ECC)	O K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> e Br <sup>-</sup> estavam aumentados no grupo de ECC, enquanto que o pH e o NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> estavam diminuídos. A gravidade da cárie correlacionou-se positivamente com os níveis de Cl <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Br <sup>-</sup> e negativamente com o pH e o NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> . Os eletrólitos salivares apresentaram uma capacidade preditiva superior (AUROC = 0.94) em relação ao microbioma salivar (AUROC = 0.70).

**Tabela 5***Biomarcadores salivares identificados para a doença periodontal.*

<b>Doença Periodontal</b>					
<b>Metodologia</b>	<b>Biomarcador</b>	<b>Participantes</b>	<b>Autor (ano) Estudo</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Resultado</b>
PROTEÓMICA	Albumina salivar, MMP-8, atividade de quitinase e protease	156 pacientes ( $\geq 18$ anos e com pelo menos um dente natural) divididos em três grupos com base na gravidade da periodontite: sem periodontite, Periodontite moderada; periodontite severa	Verhulst et al. (2019) Estudo observacional transversal	Desenvolver uma ferramenta clínica rápida e não invasiva para monitorização da periodontite	Concentração aumentada de albumina e aumento da atividade de quitinase e protease nos pacientes com periodontite. MMP-8 não apresentou associação significativa.  O modelo em que foram reunidos dados de inquérito, demográficos e biomarcadores teve uma capacidade preditiva de periodontite de 0,91.
	Albumina salivar	90 indivíduos (25-60 anos) divididos em: Grupo controlo: 45 pacientes saudáveis Grupo caso: 45 paciente com periodontite crónica	Gopinath et al. (2019) Ensaio clínico	Avaliar os níveis de albumina no periodonto saudável em comparação com a periodontite crónica	Concentração de albumina nos indivíduos saudáveis: $310.33 \pm 37.75$ mg/L Concentração de albumina nos doentes periodontais: $822.91 \pm 277.91$ mg/L. Há uma diferença significativa nos níveis de albumina nos indivíduos com periodontite, pelo que esta pode ser usada como biomarcador para diagnóstico precoce.

Doença Periodontal					
Metodologia	Biomarcador	Participantes	Autor (ano) Estudo	Objetivo	Resultado
PROTEOMICA e METABOLOMICA	Adrenomedulina (AM) e óxido nítrico (NO).	27 indivíduos (com pelo menos 20 dentes) divididos em três grupos: gengivite (n=9), periodontite crônica (n=9) e periodontite agressiva (n=9)	Hussain et al. (2016)  Estudo observacional transversal	Determinar os níveis de AM e NO nos tecidos gengivais e fluidos orais em diferentes formas de doença periodontal	Os níveis de AM e NO na saliva foram: 8,45 ± 2,01ng/mL, 5,50 ± 0,43 μM (gengivite) 9,50 ± 4,79ng/mL, 6,40 ± 2,16 μM (periodontite crônica) 66,67 ± 13,87 ng/mL, 19,09 ± 5,62 μM (periodontite agressiva)  Os níveis de AM e NO no fluido crevicular gengival foram respetivamente: Gengivite: 16,58 ± 1,75 ng/mL, 2,01 ± 0,54 μM Periodontite crônica: 83,68 ± 8,35 ng/mL, 22,73 ± 4,84 μM Periodontite agressiva: 88,11 ± 10,28 ng/mL, 38,24 ± 7,17 μM)  Os níveis de AM e NO na saliva foram mais elevados (p < 0,01) nos indivíduos com periodontite agressiva do que com periodontite crônica ou gengivite. Em contraste, no fluido gengival crevicular, os níveis de NO mostraram diferenças acentuadas entre os pacientes com periodontite crônica, periodontite agressiva e gengivite (p < 0,01), e os níveis de AM foram mais elevados (p < 0,01) tanto na periodontite crônica como na agressiva, em comparação com a gengivite isolada.

Doença Periodontal					
Metodologia	Biomarcador	Participantes	Autor (ano) Estudo	Objetivo	Resultado
PROTEOMICA	Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ) Interleucina-6 (IL-6) Metaloproteinase de matriz-8 (MMP-8) Proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa (MIP-1 $\alpha$ )	209 indivíduos saudáveis (> 18 anos e com pelo menos 20 dentes) divididos em: saudáveis (n=65), gengivite (n=43) e periodontite (n=101)	Ebersole et al. (2015)  Estudo caso-controlo	Avaliar os níveis dos biomarcadores salivares (IL-1 $\beta$ , IL-6, MMP-8, MIP-1 $\alpha$ ) na saúde periodontal, gengivite e periodontite	-IL-1 $\beta$ : 14,6 $\pm$ 2,6 pg/mL (saudáveis), 28,7 $\pm$ 7,3 pg/mL (gengivite), 102,3 $\pm$ 10,1 pg/mL (periodontite). -IL-6: 3,7 $\pm$ 0,5 pg/mL (saudáveis), 6,3 $\pm$ 2,7 pg/mL (gengivite), 22,8 $\pm$ 3,7 pg/mL (periodontite). -MMP-8: 130,7 $\pm$ 14,5 ng/mL (saudáveis), 199,0 $\pm$ 29,1 ng/mL (gengivite), 314,1 $\pm$ 25,5 ng/mL (periodontite). -MIP-1 $\alpha$ : 3,2 $\pm$ 1,0 pg/mL (saudáveis), 12,0 $\pm$ 2,2 pg/mL (gengivite), 16,2 $\pm$ 2,2 pg/mL (periodontite) As concentrações salivares de IL-1 $\beta$ , IL-6, MMP-8, MIP-1 $\alpha$ , isoladamente ou em combinação, são capazes de distinguir a saúde da gengivite e da periodontite.

**Tabela 6**

*Biomarcadores salivares identificados para a Síndrome de Sjögren Primária.*

<b>Síndrome de Sjögren primária (pSS)</b>					
<b>Metodologia</b>	<b>Biomarcador</b>	<b>Participantes</b>	<b>Autor e (ano) Estudo</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Resultado</b>
PROTEOMICA	Proteínas diferencialmente expressas (DEFs) como: Ceruloplasmina (CP), Transferrina (TF), Complemento C5 e C9, Haptoglobina (HP), SERPING1.	86 pacientes com pSS e grupo de controlos adicionais :46 saudáveis, 18 com pSS associada a artrite reumatoide secundária (AR), 46 com AR, 16 pacientes com síndrome sicca não autoimune (nSS)	Peng et al. (2023) Estudo observacional transversal	Analisar o papel das proteínas derivadas dos exossomas plasmáticos na ferroptose e no mecanismo de lesão epitelial na síndrome de Sjögren primária (pSS).	Níveis de Ceruloplasmina (CP) e transferrina (TF), C5, C9, HP e SERPING1 reduzidos nos pacientes com pSS.
PROTEOMICA	Proteínas incluídas: Elastase de neutrófilos Calreticulina Proteína contendo motivo tripartido 29	40 pacientes (18-75 anos com sintomas orais oculares) divididos em 2 grupos: Grupo com pSS (n=24), Grupo sem diagnóstico de pSS (n=16)	Sembler-Møller et al. (2020) Ensaio clínico	Analisar o proteoma na saliva total, no plasma e nos tecidos das glândulas salivares em pacientes com e sem síndrome de Sjögren	Diferenças significativas em 40 proteínas entre os grupos; combinação de 3 biomarcadores gerou um valor ROC= 97%.

**Tabela 7***Funções dos principais biomarcadores encontrados nos estudos analisados*

<b>BIOMARCADOR</b>	<b>FUNÇÃO</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
Albumina salivar	Ajuda a inibir a desmineralização e contribui para a remineralização do esmalte Ajuda a manter a homeostase da saliva supersaturada. Indicador de inflamação (variações nos níveis em resposta a irritações locais)	Hegde (2014) Khandelwal & Palanivelu (2019)
Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ )	Modulação da resposta inflamatória Regulação do equilíbrio ósseo (formação e reabsorção óssea)	Ebersole et al. (2015)
Interleucina-6 (IL-6)	Modulação da resposta inflamatória Envolvida na reabsorção óssea	Ebersole et al. (2015)
Metaloproteinase de matriz-8 (MMP-8)	Degradação do colagénio tipo I e III Envolvida na integridade dos tecidos periodontais	Ebersole et al. (2015)
Proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa (MIP-1 $\alpha$ )	Recrutamento de células imunes Envolvida na reabsorção óssea	Ebersole et al. (2015)
Adrenomedulina (AM)	Efeito antimicrobiano Modulação das respostas inflamatórias e imunitárias Peptídeo envolvido no processo de vasodilatação	Hussain et al. (2016)
Oxido nítrico (NO)	Efeito antimicrobiano Modulação das respostas inflamatórias e imunitárias Envolvido no processo de vasodilatação Estimulação dos osteoclastos, promovendo a reabsorção óssea alveolar na periodontite	Hussain et al. (2016)

<b>BIOMARCADOR</b>	<b>FUNÇÃO</b>	<b>REFERÊNCIA</b>
Quitinase e protéase	Proteínas envolvidas nos mecanismos de resposta imunitária e nos processos inflamatórios	Verhulst et al. (2019)
Elastase de neutrófilos	Ação antibacteriana Mediador na inflamação e na remodelação dos tecidos	Sembler-Møller et al. (2020)
Calreticulina	Envolvida em processos autoimunes	Sembler-Møller et al. (2020)
Proteína contendo motivo tripartido 29	Ajuda no reconhecimento de agentes patogênicos e na regulação de vias transcricionais na defesa do hospedeiro	Sembler-Møller et al. (2020)
Proteínas diferencialmente expressas (DEFs): CP, TF, C5, C9, HP, SERPING1.	Proteínas envolvidas nos processos patológicos associados à ferroptose e à regulação do ferro	Peng et al. (2023)

## **4. DISCUSSÃO**

Esta revisão, com o objetivo de analisar o potencial diagnóstico dos biomarcadores salivares, considerou três principais condições clínicas: cárie dentária, doença periodontal e síndrome de Sjögren primária (pSS). As duas primeiras patologias representam as doenças orais mais prevalentes a nível global, demonstrando uma forte correlação entre os mecanismos fisiopatológicos e as alterações detetáveis na saliva. A síndrome de Sjögren, por sua vez, apesar de ser menos comum, foi selecionada pelo seu impacto direto na funcionalidade das glândulas salivares, e conseqüentemente no risco de cárie e nas doenças periodontais. Esta patologia autoimune altera de forma significativa a composição e a quantidade de saliva produzida, tornando-se um modelo interessante para o estudo dos biomarcadores orais.

### **4.1 Cárie dentária**

A cárie dentária foi analisada com base em duas abordagens metodológicas ômicas: proteômica e microbiômica. Além disso, o estudo de Y. Zhang et al. (2021) aprofundou as variações dos eletrólitos salivares, destacando outros aspetos relacionados com a progressão da doença.

O aparecimento e a progressão da cárie dentária são influenciados por vários fatores, entre os quais os de natureza proteômica. Em particular, a albumina revelou-se fortemente associada a evolução da patologia cariosa. Esta proteína, sintetizada no fígado, é produzida numa quantidade de cerca de 10 a 15 g por dia e é a mais abundante no soro, com uma concentração que varia entre 35 e 55 g/L. A hipoalbuminemia, ou seja, um valor de albumina inferior a 35 g/L, é considerada um fator de risco para várias doenças, independentemente da idade, sexo ou condições médicas (Mahmood et al., 2024).

No âmbito da saúde oral, a albumina está também presente na saliva, sendo objeto de estudo como possível biomarcador para diversas condições, entre as quais a cárie dentária e a doença periodontal. As evidências recolhidas até ao momento mostram resultados contrastantes entre estas duas patologias. De facto, ao contrário dos pacientes com doença periodontal, os pacientes com cárie dentária apresentam níveis de albumina diminuídos (Mahmood et al., 2024).

Os estudos de Hegde (2014) e Khandelwal & Palanivelu (2019) analisaram os níveis de albumina, com abordagens ligeiramente diferentes. O estudo de Hegde (2014) analisou não apenas a albumina salivar, mas também a sérica, sugerindo uma relação significativa entre saúde oral e as condições sistêmicas. Por outro lado, Khandelwal & Palanivelu (2019) focalizaram mais especificamente a albumina salivar e sua correlação direta com a incidência de cárie dentária.

Estes estudos in vivos, apesar de apresentarem diferenças na seleção dos participantes (número, idade e etnia dos indivíduos) e nos critérios de classificação da patologia cariogénica (Tabela 4), seguiram a mesma metodologia de recolha e de análise das amostras, e os resultados obtidos foram comparáveis e concordantes.

Ambos os estudos demonstram que os níveis reduzidos de albumina salivar estão associados a uma maior incidência de cárie, indicando que a presença desta proteína poderia desempenhar um papel protetor contra a desmineralização do esmalte. Além disso, os níveis de albumina resultam diminuídos não só em pacientes com cárie activa, mas também nos pacientes que apresentam suscetibilidade à cárie (Hegde, 2014). De forma semelhante, o estudo conduzido por Yoshihara et al. (2007) analisa a relação entre albumina e cárie, confirmando que a hipoalbuminemia é um fator de risco para o desenvolvimento de cárie radicular.

As outras proteínas salivares, como a estaterina, as PRP ácidas, a albumina, as histatinas e as cistatinas, são consideradas responsáveis pela capacidade de remineralização da saliva, ajudando na manutenção da sua homeostase num estado sobressaturado. Estas proteínas são demasiado grandes para penetrarem nos poros do esmalte e, por isso, permanecem ligadas à hidroxiapatita, impedindo a desmineralização e limitando a saída do mineral (Vitorino et al., 2005). A albumina, apesar de não fazer parte da película adquirida, demonstrou ter um papel defensivo na manutenção da integridade dos dentes, provavelmente devido ao seu peso molecular semelhante ao das outras proteínas presentes na película protetora (Hegde, 2014; Khandelwal & Palanivelu, 2019).

No entanto, nem todos os estudos concordam com esta relação. Em particular, (Rafieian Kupaei N et al., 2013) realizaram um estudo sobre 108 indivíduos com idades compreendidas entre os 13 e os 19 anos e não identificaram qualquer associação significativa entre a albumina e a cárie dentária. Estas discrepâncias nos resultados poderiam estar ligadas à diferença no método de recolha da amostra, à seleção dos participantes e a outros parâmetros envolvidos na investigação. Apesar disso, e sendo

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa

premissa a necessidade de mais estudos clínicos e laboratoriais, a descoberta da relação entre a albumina e algumas patologias orais abre novas perspectivas para a utilização desta proteína como biomarcador no diagnóstico precoce.

Do ponto de vista microbiológico, os estudos de Teng et al. (2015) e de Zhang et al. (2021) analisaram o microbioma oral de crianças em idade pré-escolar, a fim de compreender as suas variações em relação ao aparecimento e à progressão da cárie infantil precoce (ECC).

A ECC é uma patologia relativamente comum nas crianças e representa um grave problema de saúde pública. Para além de provocar dor, infeções e abscessos, pode comprometer a mastigação, a nutrição, o sono e, até mesmo, causar distúrbios gastrointestinais (Anil & Anand, 2017).

Uma primeira diferença entre os dois estudos é representada pelo número de participantes. O estudo de Teng et al. (2015) tinha envolvido 50 crianças saudáveis que frequentavam o mesmo jardim de infância em regime de tempo inteiro, garantindo que todas as crianças vivessem em condições ambientais semelhantes. As crianças seguiam uma rotina alimentar padronizada, praticavam os mesmos hábitos de higiene oral e eram submetidas a visitas regulares ao médico dentista. Isto permitiu reduzir ao mínimo as variáveis externas que poderiam ter influenciado a microbiota oral, embora, por outro lado, a escolha da amostra tenha limitado a variabilidade necessária para uma generalização dos resultados.

O estudo de Zhang et al. (2021) por sua vez, tinha envolvido uma população pediátrica de 331 crianças, divididas em igual número com base na presença ou ausência de cáries, criando uma amostra mais ampla e representativa. Verificou-se que as crianças com ECC apresentavam um aumento de bactérias cariogénicas (*Prevotella*, *Mogibacterium*, *Atopobium*, *Streptococcus mutans*) e uma redução de bactérias associadas à saúde oral (*Porphyromonas*, *Capnocytophaga*, *Streptococcus Australis/Sanguinis*). Além disso, Zhang et al. (2021) tinham ampliado a investigação examinando também os eletrólitos salivares, observando, nas crianças com cárie dentária, um aumento significativo de  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $NH_4^+$ ,  $Na^+$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  e  $Br^-$  e uma diminuição do pH e de  $NO_3^-$ .

Outra diferença entre os dois estudos é representada pelo tipo de amostra selecionada. Zhang et al. (2021) tinham analisado apenas a saliva, enquanto Teng et al. (2015) utilizaram tanto a saliva como a placa bacteriana. Estes últimos investigadores, através

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa

da monitorização das amostras, observaram que o microbioma oral muda de forma mais evidente na fase inicial da cárie do que na sua progressão. Em particular, nas crianças com ECC foram encontrados níveis mais elevados do género *Prevotella*.

Teng et al. (2015) desenvolveram o modelo MiC (Indicadores Microbianos da Cárie). Este método apresenta numerosas vantagens, entre as quais a recolha rápida e não invasiva da saliva e do biofilme, e a possibilidade de ser realizado em casa. Assim, a recolha de amostras de placa bacteriana e saliva poderá tornar-se uma ferramenta útil para identificar as crianças em risco de cárie antes que esta se manifeste clinicamente (Teng et al., 2015).

#### **4.2 Doença periodontal**

Os estudos de Gopinath et al. (2019), Verhulst et al. (2019), Ebersole et al. (2015) e Hussain et al. (2016) analisaram uma série de biomarcadores salivares, avaliando a sua eficácia na identificação da gravidade da doença periodontal e do seu potencial uso no diagnóstico precoce.

Os estudos de Gopinath et al. (2019) e Verhulst et al. (2019) centraram-se na relação entre a albumina e a doença periodontal. Os 90 participantes escolhidos por Gopinath et al. (2019) foram divididos equitativamente em dois grupos (pacientes sem periodontite e com periodontite crónica), enquanto Verhulst et al. (2019) examinaram um total de 156 pacientes que foram divididos em 3 grupos com base na gravidade da patologia (sem periodontite, periodontite moderada, periodontite severa).

Apesar das diferenças relativas ao número, à idade e à subdivisão dos participantes, os resultados obtidos são concordantes. Gopinath et al. (2019) e Verhulst et al. (2019) detetaram que os pacientes com periodontite apresentavam níveis de albumina salivar significativamente mais elevados em comparação com os pacientes saudáveis, sugerindo um possível mecanismo de resposta inflamatória local.

Enquanto o estudo de Gopinath et al. (2019) se centra exclusivamente na albumina salivar, os estudos de Verhulst et al. (2019) avaliam também as atividades das proteases, quitinase e MMP-8, detetando um aumento das duas primeiras proteínas, enquanto a MMP-8, que tradicionalmente se encontra aumentada em pacientes com periodontite, não apresentou qualquer associação significativa.

O estudo de Ebersole et al. (2015) também analisou a correlação entre biomarcadores salivares e a doença periodontal. Ao contrário dos estudos de Gopinath et al. (2019) e Verhulst et al. (2019), Ebersole et al. (2015) examinaram IL-1 $\beta$ , IL-6, MMP-8 e MIP-1 $\alpha$ , avaliando a sua capacidade de distinguir entre saúde periodontal, gengivite e periodontite. As concentrações salivares destas proteínas, isoladamente ou em combinação, aumentam gradualmente em relação ao grau de inflamação, apresentando-se elevadas em pacientes com gengivite e significativamente mais altas nos pacientes com periodontite, confirmando a sua validade como ferramentas de diagnóstico.

Por fim, Hussain et al. (2016) adotaram uma abordagem diferente, baseando-se numa amostra de dimensões reduzidas em comparação com os outros estudos (27 indivíduos) e classificando os pacientes em 3 grupos clínicos, sem incluir um grupo de controlo composto por pacientes saudáveis. O estudo teve como objetivo a análise da adrenomedulina (AM) e do óxido nítrico (NO) e a observação de eventuais variações entre as diferentes formas de inflamação do periodonto. As concentrações destes mediadores inflamatórios revelam-se aumentadas na saliva de todos os grupos analisados, com um aumento particularmente acentuado nos pacientes com periodontite agressiva. No entanto, no fluido crevicular gengival emergem diferenças significativas, sugerindo que a modulação dos níveis de adrenomedulina (AM) e óxido nítrico (NO) poderá variar consoante a gravidade da patologia.

Portanto, estes estudos sugerem que a análise dos biomarcadores na prática quotidiana poderá ser um indicador diagnóstico válido para monitorizar a saúde oral dos pacientes, fornecendo um meio facilmente disponível e não invasivo para uma vasta gama de condições orais. (Gopinath et al., 2019).

### **4.3 Síndrome de Sjögren**

Os estudos recentes conduzidos por Peng et al. (2023) e por Sembler-Møller et al. (2020) utilizam uma abordagem proteómica para identificar os potenciais biomarcadores salivares úteis para o diagnóstico da Síndrome de Sjögren primária (pSS).

Embora ambos os estudos identifiquem proteínas chaves envolvidas nos processos imunitários e inflamatórios, as abordagens utilizadas são diferentes. Os estudos de Peng et al. (2023) concentram-se nos aspetos fisiopatológicos da pSS, com o objetivo de compreender a ligação entre o mecanismo de ferroptose e o dano epitelial das glândulas

O potencial dos biomarcadores salivares no diagnóstico precoce de patologias orais: revisão integrativa

salivares. Os estudos de Sembler-Møller et al. (2020), pelo contrário, adotam uma perspectiva mais orientada para o diagnóstico clínico, com o objetivo de identificar proteínas que possam distinguir os pacientes afetados por pSS daqueles que apresentam sintomas semelhantes, mas sem a doença.

Peng et al. (2023) analisam os exossomas plasmáticos de uma amostra bem estratificada (86 pacientes) e detetam uma redução significativa de proteínas envolvidas no transporte do ferro como ceruloplasmina (CP), transferrina (TF), complemento C5 e C9, haptoglobina (HP) e SERPING1. Isto sugere que a desregulação do ferro possa contribuir diretamente para a vulnerabilidade e o dano tecidual na pSS.

Sembler-Møller et al. (2020), por sua vez, realizam a sua investigação sobre uma amostra mais reduzida (40 pacientes), apresentando, no entanto, uma abordagem mais ampla em termos de tecidos analisados: para além da saliva, examinam também o plasma e o tecido glandular salivar. Entre as numerosas proteínas identificam a elastase de neutrófilos, a calreticulina e a proteína contendo motivo tripartido 29 que, combinadas entre si, permitem diagnosticar a pSS com uma precisão de 97% (valor ROC).

Em conclusão, ambos os trabalhos demonstram que a proteómica salivar representa uma fonte de diagnóstico promissora para a pSS e, analisados em conjunto, estes estudos sugerem que uma integração entre abordagem fisiopatológica e abordagem clínica poderá representar o futuro do diagnóstico da Síndrome de Sjögren, abrindo caminho a testes salivares fiáveis, rápidos, não invasivos e utilizáveis na prática quotidiana (Sembler-Møller et al., 2020).

## 5. CONCLUSÃO

Esta revisão permite concluir que o estudo de biomarcadores salivares representa uma ferramenta diagnóstica inovadora e revolucionária porque permite recolher informações relevantes sobre a saúde dos pacientes. De facto, a saliva confirma-se como um fluido biológico rico em biomarcadores para o diagnóstico precoce e prognóstico de várias patologias. Muitos componentes salivares (como enzimas, metabólitos, hormonas, anticorpos, DNA, RNA) podem ser identificados através de novas tecnologias laboratoriais e do uso de testes particularmente sensíveis que fornecem dados bioquímicos sobre a saúde geral e oral dos pacientes. Estes testes podem permitir a deteção de patologias sistémicas (doenças autoimunes, infecciosas, cardiovasculares e metabólicas) e, em particular, no âmbito oral, ajudar no diagnóstico de doenças orais, incluindo cáries e doença periodontal, síndrome de Sjögren.

O uso de biomarcadores salivares, em comparação com outros fluidos como sangue e urina, oferece muitas vantagens como a rapidez e facilidade de coleta de amostras salivares, não-invasividade e ausência de dor, levando a uma alta tolerância por parte dos pacientes, até mesmo das crianças. Além disso, os kits de recolha salivar são fáceis de usar e podem ser usados em casa pelos próprios pacientes. Esta simplicidade de uso é uma enorme vantagem, porque permite que os pacientes tenham mais controle sobre sua saúde, permitindo-lhes monitorizar as condições sem ter de recorrer a visitas frequentes às instalações de saúde.

Por estas razões, a análise de saliva, complementada com tecnologia laboratorial apropriada e específica, irá potencialmente realizar o conceito de *point-of-care* (PoC) e fornecer ao Médico Dentista uma maneira simples e segura de adquirir informações importantes sobre o estado de saúde dos pacientes de forma rápida, indolor, económica e individualizada.

No entanto, esta ferramenta de diagnóstico apresenta também desvantagens como a variabilidade individual, restrições ambientais, limitações tecnológicas e falta de padronização que ainda hoje são um desafio. Portanto, será necessário realizar estudos adicionais para tornar esses testes totalmente válidos e mudar a maneira como as doenças são detetadas, monitorizadas e gerenciadas, oferecendo novas oportunidades para o atendimento oportuno e eficiente.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahsan, H. (2019). Biomolecules and biomarkers in oral cavity: bioassays and immunopathology. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 40(1), 52–69. <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1550423>
- Alamoudi, A., Alamoudi, R., Gazzaz, Y., & Alqahtani, A. M. (2022). Role of Salivary Biomarkers in Diagnosis and Detection of Dental Caries: A Systematic Review. *Diagnostics*, 12(12), 3080. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12123080>
- Anil, S., & Anand, P. S. (2017). Early Childhood Caries: Prevalence, Risk Factors, and Prevention. *Frontiers in Pediatrics*, 5. <https://doi.org/10.3389/fped.2017.00157>
- Antonelli, R., Massei, V., Ferrari, E., Gallo, M., Pertinhez, T. A., Vescovi, P., Pizzi, S., & Meleti, M. (2024). Salivary Diagnosis of Dental Caries: A Systematic Review. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(5), 4234–4250. <https://doi.org/10.3390/cimb46050258>
- Boveia, V., & Schutz-Geschwender, A. (2015). *Quantitative Analysis of Signal Transduction with In-Cell Western Immunofluorescence Assays* (pp. 115–130). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2718-0\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2718-0_13)
- Califf, R. M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*, 243(3), 213–221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- Chiappin, S., Antonelli, G., Gatti, R., & De Palo, E. F. (2007). Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica Chimica Acta*, 383(1–2), 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.011>
- Damle, S., Loomba, A., Dhindsa, A., Loomba, A., & Beniwal, V. (2016). Correlation between dental caries experience and mutans streptococci counts by microbial and molecular (polymerase chain reaction) assay using saliva as microbial risk indicator. *Dental Research Journal*, 13(6), 552. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.197035>
- Dawes, C., & Wong, D. T. W. (2019). Role of Saliva and Salivary Diagnostics in the Advancement of Oral Health. *Journal of Dental Research*, 98(2), 133–141. <https://doi.org/10.1177/0022034518816961>
- Ebersole, J. L., Nagarajan, R., Akers, D., & Miller, C. S. (2015). Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00062>
- Ferdeghini, R., & Nobili, P. (2011). Potenzialità diagnostiche della saliva: una revisione della letteratura. *Dental Cadmos*, 79(4), 175–184. <https://doi.org/10.1016/j.cadmos.2010.11.023>
- Gan, S. D., & Patel, K. R. (2013). Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(9), 1–3. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.287>
- Gomes, P. de S., Juodzbaly, G., Fernandes, M. H., & Guobis, Z. (2012). Diagnostic Approaches to Sjögren's Syndrome: a Literature Review and Own Clinical Experience. *Journal of Oral and Maxillofacial Research*, 3(1). <https://doi.org/10.5037/jomr.2012.3103>

- Gopinath, V., Shivakumar, V., Fatema, S. I., Dede, R. A., Maindad, S. D., & Palla, S. (2019). A comparative evaluation of salivary albumin levels in periodontally healthy and chronic periodontitis patients: A clinicobiochemical study. *Journal of Advanced Clinical and Research Insights*, 6(6), 159–162. <https://doi.org/10.15713/ins.jcri.283>
- Grande, M. A., Belstrøm, D., Damgaard, C., Holmstrup, P., Thangaraj, S. S., Nielsen, C. H., & Palarasah, Y. (2021). Complement split product C3c in saliva as biomarker for periodontitis and response to periodontal treatment. *Journal of Periodontal Research*, 56(1), 27–33. <https://doi.org/10.1111/jre.12788>
- Guo, L., & Shi, W. (2013). Salivary biomarkers for caries risk assessment. *Journal of the California Dental Association*, 41(2), 107–109, 112–118.
- Hegde, M. (2014). Correlation between Dental Caries and Salivary Albumin in Adult Indian Population—An In Vivo Study. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 4(25), 4238–4244. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2014/9296>
- Huang, Z., Yang, X., Huang, Y., Tang, Z., Chen, Y., Liu, H., Huang, M., Qing, L., Li, L., Wang, Q., Jie, Z., Jin, X., & Jia, B. (2023). Saliva – a new opportunity for fluid biopsy. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 61(1), 4–32. <https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0793>
- Hussain, Q. A., McKay, I. J., Gonzales-Marin, C., & Allaker, R. P. (2016). Detection of adrenomedullin and nitric oxide in different forms of periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 51(1), 16–25. <https://doi.org/10.1111/jre.12273>
- Kaczor-Urbanowicz, K. E., Martin Carreras-Presas, C., Aro, K., Tu, M., Garcia-Godoy, F., & Wong, D. T. (2017). Saliva diagnostics – Current views and directions. *Experimental Biology and Medicine*, 242(5), 459–472. <https://doi.org/10.1177/1535370216681550>
- Katsiogiannis, S., & Wong, D. T. W. (2016). The Proteomics of Saliva in Sjögren's Syndrome. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 42(3), 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2016.03.004>
- Kaufman, E., & Lamster, I. B. (2002). The diagnostic applications of saliva: review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(2), 197–212. <https://doi.org/10.1177/154411130201300209>
- Khandelwal, A., & Palanivelu, A. (2019). Correlation Between Dental Caries And Salivary Albumin In Adult Population In Chennai: An In Vivo Study. *Brazilian Dental Science*, 22(2), 228–233. <https://doi.org/10.14295/bds.2019.v22i2.1686>
- Kralik, P., & Ricchi, M. (2017). A Basic Guide to Real Time PCR in Microbial Diagnostics: Definitions, Parameters, and Everything. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00108>
- Kushnir, M. M., Rockwood, A. L., & Bergquist, J. (2010). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry applications in endocrinology. *Mass Spectrometry Reviews*, 29(3), 480–502. <https://doi.org/10.1002/mas.20264>

- Langer, J., Jimenez de Aberasturi, D., Aizpurua, J., Alvarez-Puebla, R. A., Auguie, B., Baumberg, J. J., Bazan, G. C., Bell, S. E. J., Boisen, A., Brolo, A. G., Choo, J., Cialla-May, D., Deckert, V., Fabris, L., Faulds, K., García de Abajo, F. J., Goodacre, R., Graham, D., Haes, A. J., ... Liz-Marzán, L. M. (2020). Present and Future of Surface-Enhanced Raman Scattering. *ACS Nano*, *14*(1), 28–117. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b04224>
- Lynch, H. E., Sanchez, A. M., D'Souza, M. P., Rountree, W., Denny, T. N., Kalos, M., & Sempowski, G. D. (2014). Development and implementation of a proficiency testing program for Luminex bead-based cytokine assays. *Journal of Immunological Methods*, *409*, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.04.011>
- Magro, D., Venezia, M., & Rita Balistreri, C. (2024). The omics technologies and liquid biopsies: Advantages, limitations, applications. *Medicine in Omics*, *11*, 100039. <https://doi.org/10.1016/j.meomic.2024.100039>
- Mahmood, M. K., Kurda, H. A., Qadir, B. H., Tassery, H., Lan, R., Tardivo, D., & Abdulghafor, M. A. (2024). Implication of serum and salivary albumin tests in the recent oral health related epidemiological studies: A narrative review. *The Saudi Dental Journal*, *36*(5), 698–707. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2024.02.019>
- Meleti, M., Antonelli, R., Viani, M. V., Pezzi, M., Pertinhez, T., & Vescovi, P. (2021). I biomarker salivari per la diagnosi di patologie orali e sistemiche. *Dental Cadmos*, *89*(02), 104. <https://doi.org/10.19256/d.cadmos.02.2021.05>
- Miller, C. S., Foley, J. D., Bailey, A. L., Campell, C. L., Humphries, R. L., Christodoulides, N., Floriano, P. N., Simmons, G., Bhagwandin, B., Jacobson, J. W., Redding, S. W., Ebersole, J. L., & McDevitt, J. T. (2010). Current Developments in Salivary Diagnostics. *Biomarkers in Medicine*, *4*(1), 171–189. <https://doi.org/10.2217/bmm.09.68>
- Negrini, S., Emmi, G., Greco, M., Borro, M., Sardanelli, F., Murdaca, G., Indiveri, F., & Puppo, F. (2022). Sjögren's syndrome: a systemic autoimmune disease. *Clinical and Experimental Medicine*, *22*(1), 9–25. <https://doi.org/10.1007/s10238-021-00728-6>
- Peng, X., Hou, L., Wu, X., Liu, Z., Wang, Y., Zeng, P., Yang, Y., Ma, W., & Yang, P. (2023). The plasma exosomes from patients with primary Sjögren's syndrome contain epithelial cell-derived proteins involved in ferroptosis. *Journal of Molecular Medicine*, *101*(10), 1289–1304. <https://doi.org/10.1007/s00109-023-02361-0>
- Rafieian Kupaei N, Jazaeri M, Rezaei Soufi L, Faradmal J, Abdolsamadi H, & Shokri Y. (2013). Evaluation of the Relationship between Salivary Albumin Level and Dental Caries. *Avicenna Journal Clinical Medicine*, *20*(2), 101–106.
- Robinson, W. H., Lindstrom, T. M., Cheung, R. K., & Sokolove, J. (2013). Mechanistic biomarkers for clinical decision making in rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, *9*(5), 267–276. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.14>
- Roi, A., Rusu, L. C., Roi, C. I., Luca, R. E., Boia, S., & Munteanu, R. I. (2019). A New Approach for the Diagnosis of Systemic and Oral Diseases Based on Salivary Biomolecules. *Disease Markers*, *2019*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/8761860>

- Sembler-Møller, M. L., Belstrøm, D., Loch, H., & Pedersen, A. M. L. (2020). Proteomics of saliva, plasma, and salivary gland tissue in Sjögren's syndrome and non-Sjögren patients identify novel biomarker candidates. *Journal of Proteomics*, 225, 103877. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103877>
- Shahsavari, A., & Liu, F. (2024). Diagnostic and therapeutic potentials of extracellular vesicles for primary Sjögren's Syndrome: A review. *Dentistry Review*, 4(3), 100150. <https://doi.org/10.1016/j.dentre.2024.100150>
- Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>
- Teng, F., Yang, F., Huang, S., Bo, C., Xu, Z. Z., Amir, A., Knight, R., Ling, J., & Xu, J. (2015). Prediction of Early Childhood Caries via Spatial-Temporal Variations of Oral Microbiota. *Cell Host & Microbe*, 18(3), 296–306. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.08.005>
- Verhulst, M. J. L., Teeuw, W. J., Bizzarro, S., Muris, J., Su, N., Nicu, E. A., Nazmi, K., Bikker, F. J., & Loos, B. G. (2019). A rapid, non-invasive tool for periodontitis screening in a medical care setting. *BMC Oral Health*, 19(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0784-7>
- Vitorino, R., Lobo, M. J. C., Duarte, J. R., Ferrer-Correia, A. J., Domingues, P. M., & Amado, F. M. L. (2005). The role of salivary peptides in dental caries. *Biomedical Chromatography*, 19(3), 214–222. <https://doi.org/10.1002/bmc.438>
- Yoshihara, A., Takano, N., Hiroto, T., Ogawa, H., Hanada, N., & Miyazaki, H. (2007). Longitudinal Relationship between Root Caries and Serum Albumin. *Journal of Dental Research*, 86(11), 1115–1119. <https://doi.org/10.1177/154405910708601118>
- Zhang, C.-Z., Cheng, X.-Q., Li, J.-Y., Zhang, P., Yi, P., Xu, X., & Zhou, X.-D. (2016). Saliva in the diagnosis of diseases. *International Journal of Oral Science*, 8(3), 133–137. <https://doi.org/10.1038/ijos.2016.38>
- Zhang, Y., Huang, S., Jia, S., Sun, Z., Li, S., Li, F., Zhang, L., Lu, J., Tan, K., Teng, F., & Yang, F. (2021). The predictive power of saliva electrolytes exceeds that of saliva microbiomes in diagnosing early childhood caries. *Journal of Oral Microbiology*, 13(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2021.1921486>