

Vânia Monteiro Grasso

**Análise bioquímica do fluido salivar em pacientes com periodontite: revisão  
narrativa**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2020



Vânia Monteiro Grasso

**Análise bioquímica do fluido salivar em pacientes com periodontite: revisão  
narrativa**

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2020

Vânia Monteiro Grasso

**Análise bioquímica do fluido salivar em pacientes com periodontite: revisão  
narrativa**

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do grau  
de Mestre em Medicina Dentária.

Orientadora: Professora Doutora Carla Moutinho

Coorientadora: Professora Doutora Carla Sousa e Silva

---

(Vânia Monteiro Grasso)

## Resumo

A periodontite é uma doença multifatorial associada à acumulação do biofilme. É uma infecção de origem microbiana mediada por alterações imunorreguladoras do hospedeiro, cuja resposta está ligada à destruição progressiva do tecido periodontal. As ferramentas atuais de diagnóstico da doença incluem exames por imagem e exames clínicos efetivos à detecção dos danos e lesões teciduais, porém ineficazes na determinação da suscetibilidade e da atividade da doença. Neste sentido, os estudos sobre os marcadores bioquímicos salivares surgem como resultado de esforços destinados a encontrar métodos confiáveis ao diagnóstico precoce das doenças periodontais. Assim sendo, o objetivo desta revisão de literatura foi avaliar as alterações bioquímicas do fluido salivar em pacientes com periodontite, assim como identificar as tendências metodológicas do uso de biomarcadores salivares em pacientes com doença periodontal. Desta forma, foi realizada uma revisão de literatura nas bases de dados PubMed e B-ON, onde foram selecionados 32 artigos baseados na sua relevância para a realização deste trabalho. Da análise dos artigos, verificou-se que alguns autores detetaram alterações nas concentrações de proteínas, enzimas salivares, enzimas proteolíticas, citocinas pró-inflamatórias e quimiotáticas, miARNs, produtos de *stress* oxidativo e recetores de patógenos. Esses resultados convergiram para uma variabilidade de componentes salivares válidos no diagnóstico da periodontite, mas também úteis na avaliação dos efeitos dos tratamentos periodontais não cirúrgicos, no acompanhamento da progressão da doença, além de promissores na avaliação de suscetibilidade à doença periodontal.

Palavras-chave: periodontite; marcadores bioquímicos; fluido salivar

## **Abstract**

Periodontitis is a multifactorial disease associated with the accumulation of biofilm. It is an infection of microbial origin mediated by immunoregulatory mechanisms in the host whose response is linked to the progressive destruction of periodontal tissue. Current methods for diagnosing the disease include imaging exam and clinical tests that are effective in detecting injury and tissue damage but are ineffective in determining the susceptibility and activity of the disease. Therefore, studies on salivary biomarkers appear as a result of efforts to find a reliable method for the early diagnosis of periodontal diseases. Thus, the objective of this literature review was to evaluate the biochemical changes in the salivary flow in patients with periodontitis, as well as to identify methodological trends in the use of salivary biomarkers in patients with periodontal disease. A literature review was conducted in the PubMed and BON databases, in which 32 articles were selected based on their relevance to this work. From the analysis of the articles, it was found that some authors detected changes in the concentrations of proteins, salivary enzymes, proteolytic enzymes, pro-inflammatory and chemotactic cytokines, miARNs, oxidative stress products and pathogen recognition receptors. The results converged to a variability of salivary components valid for the diagnosis of periodontitis, but also useful in the evaluation of the effects of non-surgical periodontal treatments, in monitoring the progression of the disease, besides being promising in the evaluation of susceptibility to periodontal disease.

**Keywords:** periodontitis; salivary biomarkers; salivary flow

## **Agradecimentos**

A realização deste trabalho acadêmico contou com apoio e incentivo de pessoas muito especiais, sem as quais não se teria tornado realidade e às quais estarei sempre grata.

Agradeço primeiramente a toda a minha família, em especial aos meus pais, minha filha Luiza e meu marido, que com muito amor e carinho, me apoiaram e me deram forças ao longo dessa caminhada acadêmica, sendo companhia e sendo amparo nas dificuldades. De igual forma, a minha cachorrinha Polly que é minha companheirinha e que me ensina todos os dias o que é fidelidade e amor incondicional. É essa família que também me concede tantos momentos de alegria e felicidade plena.

Aos meus novos amigos da UFP, que proporcionaram a essa fase da minha vida tantos momentos de troca de experiência e de apoio para um sonho comum, e que de alguma forma contribuíram para a elaboração deste estudo, pela paciência nas aulas, pelo bom convívio e pela força prestada nos momentos menos fáceis

Às minhas orientadoras professoras Carla Moutinho e Carla Sousa e Silva, os meus sinceros agradecimentos pela confiança em mim depositada, pela disponibilidade para me ajudar neste trabalho, além de toda a gentileza para ensinar.

Por fim, reconhecendo que nada disso seria possível sem ajuda do Pai, agradeço pela bênção divina e sua infinita bondade. Pelo crescimento espiritual frente aos desafios terrenos, por me abençoar com uma vida de saúde, milagres e sonhos, por colocar pessoas tão especiais no meu caminho e por me conceder a cada dia uma oportunidade de ser ainda mais feliz.

## Índice geral

<b>Resumo .....</b>	<b>v</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>vi</b>
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>vii</b>
<b>Índice de tabelas .....</b>	<b>ix</b>
<b>Índice de abreviaturas.....</b>	<b>x</b>
<b>I. Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1. Materiais e métodos .....	3
<b>II. Desenvolvimento .....</b>	<b>4</b>
2.1. Composição, função e colheita da saliva .....	4
2.2. Saliva como amostra para exame complementar de diagnóstico da periodontite .....	5
<b>III. Discussão.....</b>	<b>12</b>
<b>IV. Conclusão .....</b>	<b>15</b>
<b>V. Bibliografia.....</b>	<b>16</b>

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Resumo da nova classificação da periodontite. ....	1
---------------------------------------------------------------------	---

## Índice de abreviaturas

AAP - Academia Americana de Periodontologia

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ALT - Alanina aminotransferase

AST- Aspartato aminotransferase

CAT - Capacidade antioxidante total

CSF-1 - Fator estimulante de colónias, do inglês *colony stimulating factor*

DM2 - *Diabetes mellitus* tipo 2

DPD - Desoxipiridinolina

EFP - Federação Europeia de Periodontologia, do inglês *European Federation of Periodontology*

EOT - Estado oxidante total

ERO - Espécie reativa de oxigénio

FA - Fosfatase alcalina

FCG - Fluido crevicular gengival

HbA1c - Hemoglobina glicosilada A1c

hsCRP - Proteína C reativa de alta sensibilidade, do inglês *high sensitivity C-reactive protein*

IL - Interleucina

IL-1ra - Antagonista do recetor da interleucina-1, do inglês *interleukin-1 receptor antagonist*

JUN - Proto-oncogene Jun, do inglês *Jun Proto-oncogene*

LDH - Lactato desidrogenase, do inglês *lactate dehydrogenase*

MAPK - Proteína cinase ativada por mitógenos, do inglês *mitogen-activated protein kinase*

mARN - Ácido ribonucleico mensageiro

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos, do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*

miARN- Micro ácido ribonucleico

MIP-1 $\alpha$  - Proteína inflamatória de macrófagos-1 $\alpha$ , do inglês *macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$*

MMP - Metaloproteinase da matriz, do inglês *matrix metalloproteinase*

NIC - Nível de inserção clínica

NPT - Neopterin

NUS - Nitrogénio ureico no sangue

OC - Osteocalcina

ON - Osteonectina

8-OHdG- 8-hidroxi-desoxiguanosina

PCT - Procalcitonina

PGE2 - ProstaglandinaE2

PMN - Leucócitos polimorfonucleares, do inglês *polymorphonuclear neutrophils*

POA - Perda óssea alveolar

PS - Profundidade de sondagem

RANKL - Ligando do recetor ativador do fator nuclear kappa B, do inglês *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*

RRP - Recetor de reconhecimento de padrões

SS - Sangramento à sondagem

TLR - Recetor do tipo *Toll*, do inglês *toll-like receptors*

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa, do inglês *tumour necrosis factor alpha*

UBC - Ubiquitina C

## I. Introdução

A periodontite define-se como uma doença inflamatória multifatorial mediada pelo hospedeiro e associada ao biofilme “disbiótico” subgingival. A sua principal característica é a destruição progressiva do tecido periodontal manifestada por perda de inserção clínica. A apresentação da doença difere com base no número de lesões, distribuição e localização no arco dentário (Tonetti et al., 2018).

A Academia Americana de Periodontologia (AAP) e a Federação Europeia de Periodontologia (EFP) adotaram, em 2017, uma nova classificação das doenças e condições periodontais. Anteriormente reconhecidas como periodontite crónica e periodontite agressiva, na classificação vigente, estas condições são agrupadas numa única categoria - a periodontite, conforme indicado na Tabela 1. Além disso, a periodontite passa a ser classificada de acordo com o estágio e o grau. O estágio está relacionado com a severidade da doença e varia de I a IV; enquanto que o grau reflete o risco de progressão da doença e os seus efeitos na saúde sistémica, sendo classificado em A, B ou C. Esta estratificação de risco é baseada em fatores bem validados como o tabagismo, a diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) não controlada, a evidência clínica de progressão da doença em idade precoce e a gravidade da perda óssea em relação à idade do paciente (Steffens e Marcantonio, 2018; Tonetti et al., 2018).

**Tabela 1.** Resumo da nova classificação da periodontite, de acordo com Steffens e Marcantonio, 2018.

<b>Nova classificação das doenças e condições periodontais</b>
1. Saúde periodontal, condições e doenças gengivais 2. Periodontite 3. Outras condições que afetam o periodonto
<b>Periodontite</b>
2.1. Doenças periodontais necrosantes 2.2. Periodontite 2.3. Periodontite como manifestação de doenças sistémicas

Devido à sua alta prevalência, a periodontite é um importante problema de saúde pública. A doença é responsável por uma grande proporção de edentulismo e disfunção mastigatória, que prejudicam a qualidade de vida do indivíduo e afetam negativamente a estética facial (Papapanou et al., 2018).

A patogênese da periodontite sugere que está ocorre de interações complexas entre os microrganismos e a resposta imunológica do hospedeiro. A formação do biofilme inicia-se a partir da película adquirida que condiciona a superfície dentária, permitindo a coagregação bacteriana de várias espécies. Como biofilme formado, estabelece-se a inflamação gengival. Porém, o início e a progressão da periodontite dependem de alterações ecológicas “disbióticas” no microbioma do hospedeiro em resposta aos mediadores inflamatórios gengivais e de degradação tecidual. A persistência de uma microflora desencadeia o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, que levam à migração de leucócitos para a região afetada. Assim, instaura-se um paradoxo já que a própria resposta imune do indivíduo, necessária para a destruição dos patogênicos, é também determinante à suscetibilidade à doença (Vanderlei et al., 2018). As infecções periodontais desencadeiam igualmente a liberação de uma variedade de subprodutos metabólicos, como enzimas e outros mediadores químicos, que resultam na destruição dos tecidos de suporte dentário (Barros et al., 2016).

Estas alterações imunorreguladoras são causas importantes no desenvolvimento da doença e das formas clínicas variáveis. Tradicionalmente, o diagnóstico da periodontite é feito por exames de imagem - radiografias orais e tomografia computadorizada - e por avaliação dos parâmetros clínicos como profundidade de sondagem (PS), sangramento à sondagem (SS) e nível de inserção clínica (NIC). Contudo, estas medidas não determinam o *status* atual da atividade da doença e uma quantidade significativa de dano tecidual ou ósseo deve ocorrer para se avaliarem os efeitos cumulativos da destruição do tecido periodontal (Newman et al., 2012; Ebersole et al., 2015).

Levando em conta essas limitações clínicas, existe a necessidade de diagnosticar esta doença nos seus estágios iniciais, a fim de se realizar uma intervenção precoce. Nesse sentido, torna-se fundamental a análise bioquímica do fluido salivar e a determinação de biomarcadores que indicam a presença do processo da doença antes da ocorrência dos seus danos clínicos (Barros et al., 2016).

Os primeiros estudos sobre biomarcadores para periodontite destacaram o uso do soro e do fluido crevicular gengival (FCG) para a investigação das alterações das moléculas

inflamatórias. No entanto, nos últimos anos foram feitos esforços na identificação de biomarcadores salivares. O método não invasivo e a colheita simples e económica tornam o fluido salivar apropriado ao diagnóstico da doença (Taylor et al., 2014; Rangbulla et al., 2017).

Este trabalho tem por objetivo avaliar as alterações bioquímicas na composição do fluido salivar na doença periodontal e identificar as tendências metodológicas do uso de biomarcadores salivares em pacientes com periodontite. Adicionalmente, também se pretende realizar uma apreciação dos resultados encontrados na literatura mais recente.

### **1.1. Materiais e métodos**

Trata-se de um estudo qualitativo de revisão narrativa, apropriado à atualização do conhecimento sobre a temática proposta. Procedeu-se à revisão da literatura, mediante o levantamento de artigos nas bases de dados PubMed e B-ON, considerando o período de 2014 a 2019. Os termos de indexação utilizados foram “periodontite e marcadores bioquímicos” e “periodontite e fluido salivar” e os seus equivalentes em língua inglesa. Os critérios utilizados para inclusão foram: (a) presença dos descritores utilizados no título ou no resumo; (b) artigos publicados em língua portuguesa ou inglesa. Os critérios de exclusão foram: (a) duplicidade de artigos; (b) artigos que não atendiam ao tema proposto; (c) artigos com textos não disponibilizados na íntegra; (d) dissertações e teses. Posteriormente, realizou-se uma apreciação crítica do conteúdo dos artigos. Para analisar a produção científica identificada, não se utilizaram técnicas qualitativas e/ou quantitativas específicas de tratamento de dados, tendo sido feita a análise de conteúdo de cada um dos textos individualmente. Assim sendo, realizou-se a revisão da literatura recorrendo a 32 artigos.

Além disso, outras 13 referências bibliográficas foram incluídas na fundamentação teórica, sendo necessárias aos conceitos primordiais do tema. Foram então utilizados livros, *guidelines* e artigos anteriores a 2009. Desta forma, totalizaram-se 45 referências bibliográficas aquando da redação deste trabalho de dissertação.

## II. Desenvolvimento

### 2.1. Composição, função e colheita da saliva

A saliva é uma secreção exócrina secretada por células especializadas, designadas por células salivares. Estas células agrupam-se formando glândulas maiores (parótida, submandibular e sublingual) e menores. A saliva é um líquido aquoso, transparente, com pH geralmente ácido e a sua excreção é controlada por mecanismos autónomos resultantes das interações entre os sistemas simpático e parassimpático (Douglas, 2006).

Entre os componentes inorgânicos da saliva estão descritos os iões cloreto, bicarbonato, fosfato, potássio, cálcio, iodeto, brometo, fluoreto, magnésio e sódio. Já nos componentes orgânicos, destacam-se as glicoproteínas, que estão envolvidas na formação da película adquirida, e os elementos relacionados com os fatores defensivos e antimicrobianos. Outras proteínas ativas são as enzimas, como  $\alpha$ -amilase, a lipase, a fosfatase alcalina (FA) e a peroxidase (Almeida et al., 2008; Newman et al., 2012).

A saliva desempenha um papel fundamental na homeostasia oral e tem como funções a lubrificação e limpeza dos dentes e dos tecidos orais, a neutralização de ácidos, a remineralização e inibição da desmineralização dentária, o transporte das substâncias gustativas e a proteção dos recetores de sabor, a ação antimicrobiana e a regulação das respostas inflamatórias, bem como a preparação do bolo alimentar (Almeida et al., 2008; Gomes e Fernandes, 2010; Newman et al., 2012).

Existem diferentes métodos de colheita salivar, nomeadamente, a colheita de saliva total não estimulada, de saliva total estimulada e de saliva específica (Jasim et al., 2016). A saliva total não estimulada pode ser recolhida em tubos de plásticos pela simples ação de cuspir, por aspiração no assoalho bucal ou por absorção com o auxílio de um *swab* ou rolo de algodão, que posteriormente é centrifugado para a extração da amostra. Quando o indivíduo apresenta alguma dificuldade em produzir saliva suficiente, é necessária a estimulação por meio de mastigação de pastilha elástica, parafina ou por aplicação de uma substância ácida na língua. Quanto à saliva específica, a sua colheita pode ser realizada por aspiração ou canalização dos ductos salivares. Para realização de uma análise adequada do fluido salivar é indicado o uso dos *kits* de colheita salivar comercializados para este fim (Lee e Wong, 2009; Pfaffe et al., 2011).

## 2.2. Saliva como amostra para exame complementar de diagnóstico da periodontite

A periodontite tem sido associada a alterações em várias proteínas e enzimas salivares, em especial a mucina, a  $\alpha$ -amilase, a lactato desidrogenase, a fosfatase alcalina, a  $\beta$ -glucuronidase e as metaloproteinases (Acquier et al., 2015; Luke et al., 2015; Rajesh et al., 2015; Patel et al., 2016; Ali et al., 2018; Jeyasree et al., 2018).

As mucinas desempenham a função viscoelástica da saliva e promovem aglutinação de microrganismos, enquanto que a  $\alpha$ -amilase, além da sua ação digestiva dos hidratos de carbono, exerce efeito inibitório direto no crescimento de algumas bactérias. Acquier et al. (2015) compararam os níveis destas duas enzimas em pacientes com periodontite e observaram que as suas concentrações se encontravam elevadas, quando comparadas com um grupo controlo. Além disso, houve correlação positiva com a PS e o NIC.

No estudo desenvolvido por Ali et al. (2018), níveis muito altos de lactato desidrogenase (LDH) e  $\beta$ -glucuronidase foram verificados nos grupos com periodontite em comparação com o grupo controlo. A enzima LDH catalisa a interconversão de piruvato e lactato e a sua presença extracelular indica necrose celular. Já a  $\beta$ -glucuronidase encontra-se envolvida na destruição dos componentes não colagénicos da matriz extracelular. Ademais, os autores constataram que o tabagismo influenciou a atividade enzimática, porém as alterações não invalidaram o uso destas enzimas como biomarcadores, podendo ser usadas tanto em fumadores como em não fumadores.

Ao analisar valores médios da enzima fosfatase alcalina (FA), hidrolase responsável pela desfosforilação de diferentes moléculas, Jeyasree et al. (2018) mostraram que os níveis estavam aumentados em pacientes com periodontite. O estudo também mostrou que, após o tratamento periodontal não-cirúrgico, houve melhora dos parâmetros clínicos e diminuição dos níveis de FA sérico e salivar. Desta forma, a enzima FA mostrou-se útil na avaliação dos resultados do tratamento periodontal.

Num estudo anterior, Patel et al. (2016) observaram que os níveis de FA estavam aumentados nos indivíduos com periodontite, assim como os níveis de cálcio e de fósforo salivares. Registaram ainda que o pH salivar era mais alcalino em indivíduos com gengivite e periodontite. Resultados semelhantes foram encontrados por Rajesh et al. (2015) que relacionaram o pH alcalino com o risco de se desenvolver a periodontite. Contudo, os pacientes apresentaram menor propensão às lesões de cárie dentária devido ao aumento

potencial de remineralização, associado à atividade proteolítica e à deposição de fosfato de cálcio.

Luke et al. (2015) também observaram a atividade enzimática da FA na saliva de pacientes com periodontite, gengivite e em pessoas saudáveis. Os autores estudaram igualmente a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), assim como determinaram os valores de nitrogénio ureico no sangue (NUS). Os níveis de todos os componentes estavam notoriamente mais altos nos pacientes com periodontite e ligados ao agravamento dos parâmetros clínicos da doença.

Além das proteínas e enzimas salivares, a resposta do hospedeiro ao biofilme estimula também a produção de citocinas pró-inflamatórias, entre elas as interleucinas. A família da interleucina 1 (IL-1) tem um papel importante no início e na sucessão das respostas imunes. Quanto à forma IL-1 $\alpha$ , Eivazi et al. (2017) demonstraram uma correlação negativa entre os níveis desta interleucina e os parâmetros clínicos PS e NIC. Acerca da forma IL-1 $\beta$ , Morelli et al. (2014) e Ebersole et al. (2015) relataram concentrações maiores desse componente nos pacientes com periodontite em comparação com o grupo controlo. Já Rangbulla et al. (2017) observaram que a IL-1 $\beta$  foi detetada em todos os pacientes, doentes ou saudáveis, porém os níveis foram significativamente maiores em indivíduos com periodontite. Quando comparados os valores após profilaxia oral, houve uma redução expressiva. No entanto, os níveis nos pacientes periodontais ainda se mantiveram acima dos níveis basais.

No estudo de Da Costa et al. (2015), os indivíduos com periodontite apresentaram um aumento significativo de interleucina-17 (IL-17) em comparação com o grupo controlo. A IL-17 é uma citocina produzida pelas células Th-17 ativadas que pode induzir o RANKL, ligando do recetor ativador do fator nuclear kappa B, o principal fator estimulador da diferenciação e ativação dos osteoclastos na doença periodontal.

Da mesma forma, o RANKL pode também ser ativado pelos recetores solúveis da interleucina-6 (IL-6), secretada por macrófagos, que comunica sinais inflamatórios e desencadeia processos de reabsorção óssea. Morelli et al. (2014) demonstraram que, durante a inflamação gengival induzida, o nível de IL-6 foi indicador potencial nas mudanças de PS. Ebersole et al. (2015) encontraram uma concentração elevada de IL-6 salivar no grupo de pacientes com periodontite, em comparação, quer com os indivíduos com gengivite, quer com os saudáveis. Já Balaji et al. (2017) avaliaram a concentração da citocina em pacientes com e sem diabetes do tipo 2. Nesse estudo, os pacientes com periodontite não tratada, com e sem

DM2, exibiram maiores concentrações de IL-6, quando comparados com o grupo controle de pacientes saudáveis, com e sem DM2. Além disso, os autores investigaram os níveis de hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c), forma de hemoglobina presente naturalmente nos eritrócitos humanos e que é útil na identificação de altos níveis de glicemia durante períodos prolongados. Notou-se uma correlação entre os níveis de HbA1c e IL-6 em pacientes com periodontite e DM2, denotando uma associação entre o alto índice glicêmico e a destruição periodontal.

Para Machado et al. (2018), os níveis de IL-6 também podem ser úteis no diagnóstico da periodontite em mulheres grávidas. As análises radiográficas não são recomendadas na gravidez e os parâmetros clínicos não avaliam um padrão inflamatório da progressão da doença. Nesse estudo, os níveis de IL-6 e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) foram muito superiores em gestantes com periodontite do que em gestantes saudáveis.

A interleucina-28, também conhecida como interferon- $\lambda$ , tem um papel importante na modulação do sistema imunológico contra as inflamações crônicas. Ao examinar os polimorfismos presentes nos genes da isoforma IL-28B, Heidari et al. (2017) observaram uma correlação com a suscetibilidade à periodontite.

O antagonista do recetor da interleucina-1 (IL-1ra) é uma proteína inibidora da IL-1 que impede o seu efeito pró-inflamatório. Recker et al. (2015) detetaram IL-1ra na saliva de pacientes obesos com periodontite. Há evidências de que a obesidade pode desempenhar um papel importante na patogênese da doença periodontal através da expressão de mediadores pró-inflamatórios. Constatou-se uma correlação positiva entre a severidade da periodontite e os níveis de IL-1ra. Porém, após ajuste de comparação múltipla, a correlação perdeu significado estatístico.

As citocinas pró-inflamatórias e as endotoxinas bacterianas estimulam a produção da procalcitonina (PCT), um peptídeo precursor da calcitonina, hormona envolvida na homeostasia do cálcio. É conhecida como biomarcador de inflamação sistêmica grave, como infecções graves e choque séptico. Yousefimanesh et al. (2015) avaliaram a associação entre a periodontite e a PCT salivar. Não foram observadas diferenças estatísticas relevantes entre os grupos de pacientes com periodontite e o grupo controle. Desta forma, os autores concluíram que o nível salivar da PCT pode não ser considerado um bom índice para o diagnóstico de doenças periodontais.

Num estudo posterior, Redman et al. (2016) analisaram a PCT e a proteína C reativa de alta sensibilidade (hsCRP) e examinaram a eficácia destes componentes como biomarcadores de periodontite em pacientes com artrite reumatoide e osteoartrite, visto que a inflamação sistémica poderia confundir a interpretação dos dados. A PCT sérica foi maior nos pacientes com periodontite, enquanto que a hsCRP sérica não apresentou diferença significativa. Também não foram observadas diferenças significativas nos valores de PCT e hsCRP salivar com base na gravidade da periodontite. Deste modo, somente a PCT sérica se reafirmou como boa opção de biomarcador.

A presença de células inflamatórias na periodontite eleva também a concentração de prostaglandinas. Segundo Romero et al. (2017), a concentração elevada da prostaglandina E2 (PGE2) nos pacientes com periodontite promove a destruição de tecidos, com degradação do colagénio e reabsorção óssea.

A ativação das citocinas pró-inflamatórias também resulta na regulação positiva de enzimas proteolíticas como as metaloproteinases da matriz (MMPs), responsáveis pela remodelação da matriz extracelular. Durante a inflamação, os leucócitos polimorfonucleares (PMNs) aumentam na saliva e libertam MMP-8, ou elastase, que tem como função a degradação de proteínas (colagénio tipo I e II) constituintes do tecido conjuntivo. O aumento da sua atividade leva à destruição tecidual nas zonas infetadas e, conseqüente, à progressão da doença periodontal. Yuan et al. (2018) relataram que os níveis de MMP-8 ativa (aMMP-8), em amostras de fluido crevicular gengival, foram significativamente mais altos nos pacientes com periodontite do que no grupo controlo. Porém, as diferenças não foram significativas quando comparadas as amostras de saliva obtidas. Para os autores, a análise quantitativa de aMMP-8 nas amostras salivares reflete o *status* oral de forma mais geral e não específica. Entretanto, Morelli et al. (2014), Ebersole et al. (2015), Lundmark et al. (2016) e Rangbulla et al. (2017), verificaram níveis elevados de MMP-8 na saliva dos pacientes com periodontite e validaram o seu uso como biomarcador inflamatório não imunológico salivar.

Em relação às cascatas pró-inflamatórias, a MMP-7 pode ativar a pró-MMP-8. Desse modo, Lundmark et al. (2016) também investigaram os níveis de MMP-7 salivar e constataram que as concentrações foram significativamente maiores nos pacientes com periodontite, comparativamente aos controlos. Além disso, os resultados revelaram que o hábito de fumar contribuiu para o aumento da MMP-7.

A MMP-13 está envolvida nas doenças inflamatórias, no cancro da mama e na artrite reumatoide. Virtanen et al. (2017) investigaram as concentrações séricas e salivares dessa MMP em pacientes com doença periodontal. No soro, a MMP-13 foi quase indetetável nos controlos e concentrações muito baixas foram registadas em pacientes com periodontite. No entanto, na saliva, houve um aumento da concentração em pacientes saudáveis e associado ao sexo feminino e ao NIC. Apesar de contraditório, os resultados revelaram a diferença de género e o possível efeito hormonal da MMP-13.

Numa análise entre as MMPs e as vias de apoptose da inflamação periodontal, Zeidán-Chuliá et al. (2016) detetaram que a ubiquitina C (UBC), o proto-oncogene Jun (JUN) e a MMP-14 controlam o fluxo de informações biológicas dentro de um interatoma, modelo de interações de rede proteína-proteína que nomearam como Biomark. Concluíram que se essas interações forem interrompidas, toda a rede será destruída em pequenos componentes. Assim, essas substâncias representam três alvos terapêuticos, mas também biomarcadores específicos da suscetibilidade à periodontite.

A combinação de componentes foi utilizada por Wu et al. (2018) como uma estratégia para aumentar a eficácia diagnóstica da periodontite. Os autores utilizaram a IL-1 $\beta$ , a IL-1ra e a MMP-9 e verificaram uma maior especificidade e sensibilidade nos resultados, atingindo fiabilidade suficiente para o diagnóstico da doença periodontal.

Nos estudos de Da Costa et al. (2015), uma correlação positiva foi observada entre a expressão do TNF- $\alpha$  e o aumento do mARN da MMP-2. O TNF- $\alpha$  tem um papel importante como fator iniciador de diferenciação dos osteoclastos no processo inflamatório subclínico e a associação com o MMP-2 foi relacionada com a progressão da doença.

O fator estimulante de colónias (CSF-1) é uma citocina que estimula a diferenciação das células-tronco hematopoiéticas em macrófagos, que induzem a ativação do RANKL. Nesse sentido, Lira-Junior et al. (2017) avaliaram os níveis salivares da CSF-1 e verificaram que eram significativamente mais altos em pacientes com periodontite, quando comparados com os controlos.

Relativamente às citocinas quimiotáticas, estas estimulam o movimento dos leucócitos do sangue para os tecidos e estão associadas à severidade da periodontite. A MIP-1 $\alpha$ , ou CCL3, é uma proteína inflamatória de macrófagos que se liga frequentemente aos recetores CCR1, CCR4 e CCR5 nas superfícies das células imunes, recrutando-as para os locais de

inflamação e ativando os osteoclastos. Ebersole et al. (2015) identificaram um aumento significativo de MIP-1 $\alpha$  no grupo de pacientes com periodontite. Num estudo semelhante, Nisha et al. (2018) estudaram os níveis de duas quimiocinas, MIP-1 $\alpha$  e MCP-1, em pacientes saudáveis, com gengivite e com periodontite, com o intuito de avaliar os biomarcadores na distinção das doenças. Os resultados revelaram que a MIP-1 $\alpha$  foi o melhor biomarcador na diferenciação entre gengivite e saúde periodontal, enquanto que na periodontite, tanto a MIP-1 $\alpha$  como a MCP-1 tiveram 100 % de sensibilidade e de especificidade.

O reconhecimento de patógenos pelo hospedeiro é mediado por receptores de reconhecimento de padrões (RRPs), como os receptores do tipo *Toll* (TLR). AlQallaf et al. (2018) verificaram a presença das formas solúveis TLR-2 e TLR-4 na saliva associados aos parâmetros clínicos em pacientes com gengivite. Os resultados sugerem que essas proteínas representem potencialmente marcadores de periodontite antes da perda óssea. Além disso, essas formas solúveis associam-se ao co-receptor CD14, cuja concentração foi significativamente maior nos grupos com gengivite e periodontite.

Em pacientes com perda óssea alveolar (POA) devido à periodontite, Betsy et al. (2019) avaliaram as alterações nos níveis de osteocalcina (OC), osteonectina (ON) e de desoxipiridinolina (DPD) da região telopeptídica C-terminal do colagénio I. Observou-se uma diferença estatisticamente relevante entre os grupos com periodontite e o grupo de indivíduos saudáveis. Além disso, correlacionaram-se positivamente os parâmetros anteriores com a PS e a POA. Desse modo, os resultados apontaram que a OC, a ON e a DPD podem ser utilizadas como biomarcadores na triagem de pacientes com alto risco de periodontite.

Num estudo anterior, Mishra et al. (2015) enfatizaram que a reabsorção osteoplástica e a degradação da matriz de colagénio resultam na produção da DPD. Considerando as amostras salivares em pacientes saudáveis, com gengivite e com periodontite, a DPD foi detetada em todas as amostras; no entanto, o nível de DPD na saliva aumentou proporcionalmente à perda de saúde periodontal, sendo considerado um biomarcador eficaz da progressão da doença.

Na periodontite, a atividade dos neutrófilos é essencial à resposta inflamatória e à cicatrização dos tecidos. No entanto, as espécies reativas de oxigénio (EROs) produzidas para combater os patógenos estão relacionadas com a destruição do tecido periodontal. O equilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante total (CAT) desempenha um papel importante na homeostasia. Quando há um desequilíbrio, ocorre o *stress* oxidativo.

Zhang et al. (2016) investigaram a CAT e o estado oxidante total (EOT) na saliva de pacientes com periodontite e a sua relação com as bactérias periodontopáticas, relativamente ao grupo controlo. A carga bacteriana mostrou-se aumentada em pacientes com periodontite, porém não houve correlação com os níveis de CAT e de EOT. Para os autores, essas alterações na capacidade antioxidante não estão ligadas ao aumento bacteriano, mas à resposta imune desregulada.

Segundo Prasanna et al. (2017), a concentração da neopterina (NPT), sintetizada por macrófagos após estimulação do interferão- $\lambda$  produzido pelos linfócitos, é diretamente proporcional aos níveis de EROs. As concentrações de NPT foram correlacionadas com a intensidade da doença e a sua diminuição, após o tratamento periodontal não cirúrgico, parece indicar a eficácia no controle da inflamação.

Ainda no que concerne aos efeitos do *stress* oxidativo, os radicais livres em excesso podem oxidar e danificar proteínas, lípidos e o ácido desoxirribonucleico (ADN). Esses danos levam à formação de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) que é excretada nos fluidos corporais, incluindo o fluido crevicular gengival e a saliva. Para Govindaraj et al. (2019), o aumento de 8-OHdG na saliva pode ser um marcador de atividade da doença e pode ser utilizado para fins diagnósticos.

A periodontite pode também modular os níveis de microARNs (miARNs) no tecido periodontal. Os miARNs são pequenas moléculas de ARN mensageiros que regulam a tradução e atuam como silenciadores pós-transcricionais. Fujimori et al. (2019) selecionaram o hsa-miR-381-3p salivar como um biomarcador e os resultados indicaram que esta molécula pode revelar a gravidade da doença periodontal e a sua expressão está associada ao aumento da resposta imune a patógenos bacterianos subgengivais.

### III. Discussão

Os métodos atuais de diagnóstico e monitorização da doença periodontal, em especial da periodontite, incluem critérios clínicos que embora sejam excelentes para avaliar a destruição tecidual, são ineficazes na identificação da doença ativa e na previsão de riscos (Taylor et al., 2014). Os resultados desta revisão de literatura sugerem que a análise bioquímica do fluido salivar configura um exame complementar de diagnóstico para a deteção precoce da doença e para o acompanhamento do paciente, constituindo um novo paradigma na Medicina Dentária.

Nesta perspetiva, a saliva surge como um fluido diagnóstico de grande potencial e com vantagem superior relativamente ao soro e ao FCG, por o seu método de recolha não ser invasivo, além de ser económico e fácil. A colheita de sangue venoso envolve desconforto físico e psíquico do indivíduo; já o uso do FCG requer um equipamento adequado para calibrar o volume do fluido, a colheita é trabalhosa e a análise é demorada (Rangbulla et al., 2017). Ainda assim, o uso do fluido salivar requer atenção ao tipo de colheita, aos cuidados no método de recolha e às diferenças nas taxas de fluxo salivar, pois estes podem modificar a concentração dos analitos na amostra (Lira-Junior et al., 2017).

Nesta revisão, constatou-se que as alterações nos componentes salivares indicaram aspetos variados da doença periodontal, designadamente: os imunológicos, os inflamatórios, os de degradação dos tecidos e os de remodelação óssea. Neste sentido, a aplicabilidade clínica da análise salivar torna-se diversa, incluindo a identificação de diferentes tipos de biomarcadores salivares com os seguintes fins:

- (1) distinção da doença periodontal e determinação de atividade/*status* da doença;
- (2) avaliação da progressão da doença por meio dos biomarcadores de renovação óssea;
- (3) avaliação de resultados do tratamento periodontal não-cirúrgico;
- (4) avaliação de suscetibilidade à doença;
- (5) uso de biomarcadores para diagnosticar a periodontite em gestantes.

Neste seguimento, destaca-se que a periodontite é capaz de induzir alterações nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-17 e IL-28, além do antagonista do recetor de interleucina-1. Os níveis destas proteínas apresentam-se mais elevados no fluido salivar de pacientes com periodontite, quando comparados com grupos controlos (Morelli et al., 2014; Da Costa et al., 2015; Ebersole et al., 2015; Recker et al.,

2015; Balaji et al., 2017; Eivazi et al., 2017; Heidari et al., 2017). Logo, constata-se que esses componentes podem ser utilizados para o rastreamento da atividade da doença periodontal, além da avaliação de suscetibilidade à periodontite.

Enfatiza-se também as alterações nas concentrações salivares de IL-6 e de TNF- $\alpha$  em mulheres grávidas (Machado et al., 2018). A utilização desses componentes como biomarcadores salivares fornecem um grande benefício no diagnóstico de periodontite nessas pacientes por se tratar de um meio mais seguro, uma vez que a sua exposição ao raio X deve ser evitada.

Quanto à análise das metaloproteinases salivares, demonstrou-se que durante a inflamação, os níveis de MMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9 e de MMP-14 estão alterados nos pacientes com periodontite. O aumento dessas enzimas proteolíticas tem como resultado o aumento na progressão da doença periodontal (Morelli et al., 2014; Ebersole et al., 2015; Lundmark et al., 2016; Rangbulla et al., 2017; Yuan et al., 2018). Deste modo, estas alterações podem prever a reabsorção óssea e o avanço da doença.

Nesse mesmo sentido, a avaliação da progressão da doença periodontal pode ocorrer também por meio dos biomarcadores de renovação óssea. Para Betsy et al. (2019) as alterações da OC, ON e DPD na saliva servem como um método válido para a triagem de pacientes com perda óssea alveolar. Mishra et al. (2015) destacaram que a avaliação da DPD pode fornecer em tempo real o *status* da progressão da doença antes de qualquer perda de tecido duro.

É de referir também a variação da concentração das enzimas salivares, com destaque para a fosfatase alcalina, que, além de conferir a sensibilidade necessária à distinção da periodontite, é do mesmo modo eficaz na avaliação dos resultados do tratamento periodontal não-cirúrgico (Luke et al., 2015; Rajesh et al., 2015; Patel et al., 2016; Jeyasree et al., 2018). Contudo, algumas limitações devem ser observadas. Fatores como temperatura, pH, concentrações de enzimas e substratos, inibidores ou ativadores, podem causar alterações enzimáticas (Ali et al., 2018). Deste modo, recomendam-se mais pesquisas para identificar variáveis que possam influenciar a atividade enzimática e invalidar o seu uso como biomarcadores.

Conforme abordado nesta revisão, os danos oxidativos desempenham um papel importante na patogênese da periodontite. Assim sendo, devem propor-se mais estudos de

deteção de componentes salivares relacionados com o *stress oxidativo*. Por exemplo, Govindaraj et al. (2019) recomendaram mais pesquisas focadas no papel de 8-OHdG no diagnóstico periodontal, por ser um modo económico para a triagem da população.

O uso dos miARNs como diagnóstico da periodontite baseado em evidências científicas foi destacado por Fujimori et al. (2019). Os autores sugerem novos estudos que esclareçam a expressão dos genes nos tecidos afetados pela periodontite, para além dos tecidos gengivais, assim como o aprofundamento da expressão do hsa-miR-381-3p na saliva e a influência na condição periodontal através da via de sinalização MAPK (proteína cinaseativada por mitógenos).

Nem todos os componentes salivares avaliados nesta revisão se mostraram válidos para o diagnóstico da periodontite. As alterações na procalcitonina salivar, por exemplo, não apresentaram diferenças estatísticas relevantes entre os grupos de indivíduos com periodontite e os saudáveis. Yousefimanesh et al. (2015) e Redman et al. (2016) concluíram que, apesar da PCT ser um bom marcador da inflamação sistémica grave, não deve ser considerado uma boa opção de biomarcador da periodontite. Além disso, Recker et al. (2015) demonstraram que o IL-1ra não apresentou correlação significativa com a severidade da doença periodontal.

Com a vigilância periódica dos pacientes, pressupõe-se a monitorização da doença periodontal. Percebem-se os esforços consideráveis para encontrar componentes salivares ideais à identificação do *status* da doença, ao controle dos resultados dos tratamentos periodontais e à tentativa de prever o avanço da doença. Porém, compreende-se também que nenhum biomarcador atende a todos os requisitos. Segundo Wu et al. (2018), o poder de distinção dos biomarcadores é maior quando combinados, em comparação com a análise de uma única substância. Portanto, recomenda-se a associação de mais de que um biomarcador, com o intuito de fornecer informações válidas sobre a doença em causa.

Com esta revisão, foi possível observar que na literatura recente há informações substanciais que sugerem os biomarcadores salivares como um modo eficaz de diagnóstico e de monitorização da periodontite. Além disso, a análise desses fluidos pode fornecer também um novo modelo para os procedimentos de diagnóstico médico geral, no âmbito da saúde sistémica, cuja aplicabilidade terá impacto no cuidado integral do paciente.

#### **IV. Conclusão**

As alterações bioquímicas do fluido salivar em pacientes com periodontite incluem variações nas concentrações de proteínas, enzimas salivares, enzimas proteolíticas, citocinas pró-inflamatórias e quimiotáticas, miARNs, produtos de *stress* oxidativo e recetores de patogénicos. Estas apresentam-se como potenciais biomarcadores para o diagnóstico da doença periodontal, permitindo a diferenciação entre periodontite, indivíduos saudáveis e com gengivite. Além disso, mostraram-se também úteis no acompanhamento terapêutico e na avaliação da progressão da doença, além de vantajosas na avaliação de suscetibilidade à periodontite.

Por fim, enfatiza-se que o diagnóstico salivar, no atual progresso, poderá ser a chave para a monitorização da saúde oral por meio de um método simples e eficaz.

## V. Bibliografia

- Acquier, A. B. *et alii.*(2015). Comparison of salivary levels of mucin and amylase and their relation with clinical parameters obtained from patients with aggressive and chronic periodontal disease. *Journal of Applied Oral Science*, 23(3), pp. 288–294.
- Ali, S. A. *et alii.* (2018). Lactate dehydrogenase and  $\beta$ -glucuronidase as salivary biochemical markers of periodontitis among smokers and non-smokers. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 18(3), pp. 318–323.
- Almeida, P. D. V. *et alii.* (2008). Saliva composition and functions: a comprehensive review. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 9(3), pp; 1-11.
- AlQallaf, H. *et alii.*(2018). Differential profiles of soluble and cellular toll like receptor (TLR)-2 and 4 in chronic periodontitis. *Plos One*, 13(12), pp. 1–14.
- Balaji, A. *et alii.* (2017). Salivary Interleukin-6 - A pioneering marker for correlating diabetes and chronic periodontitis: A comparative study. *Indian Journal of Dental Research*, 28(2), pp. 133–137.
- Barros, S. P. *et alii.* (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*, 70(1), pp. 53–64.
- Betsy, J. *et alii.* (2019). Diagnostic accuracy of salivary biomarkers of bone turnover in identifying patients with periodontitis in a Saudi Arabian population. *Journal of Dental Sciences*, 14(3), pp. 269–276.
- Da Costa, T. A. *et alii.* (2015). Inflammation biomarkers of advanced disease in nongingival tissues of chronic periodontitis patients. *Mediators of Inflammation*, 2015, pp. 1–10.
- Douglas, C. R. (2006). *Tratado de fisiologia aplicada às ciências da saúde*. 6ª edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan.
- Ebersole, J. L. *et alii.*(2015). Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, pp. 1–12.
- Eivazi, M. *et alii.* (2017). The effect of scaling and root planning on salivary TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$  concentrations in patients with chronic periodontitis. *The Open Dentistry Journal*, 11, pp. 573–580.
- Fujimori, K. *et alii.* (2019). Detection of salivary miRNAs reflecting chronic periodontitis: A pilot study. *Molecules*, 24, pp. 1–11.
- Gomes, P. e Fernandes, M. (2010). Defensins in the oral cavity: distribution and biological role. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 39, pp. 1–9.
- Govindaraj, J. *et alii.* (2019). 8-Hydroxy deoxyguanosine - A potential biomarker in periodontitis. *Drug Invention Today*, 11(5), pp. 1027–1032.
- Heidari, Z. *et alii.* (2017). The association between interleukin-28B gene polymorphisms as a potential biomarker and the risk of chronic periodontitis in an Iranian population. *Head and Face Medicine*, 13(1), pp. 1–8.
- Jasim, H. *et alii.* (2016). The proteomic profile of whole and glandular saliva in healthy pain-free subjects. *Scientific Reports*, 6(1), pp. 1-10.
- Jeyasree, R. M. *et alii.* (2018). Evaluation of serum and salivary alkaline phosphatase levels in chronic periodontitis patients before and after nonsurgical periodontal. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 22, pp. 487–491.

- Lee, Y. H. e Wong, D. T. (2009). Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *American Journal of Dentistry*, 22(4), pp. 241–248.
- Lira-Junior, R. *et alii.* (2017). Colony stimulating factor-1 in saliva in relation to age, smoking, and oral and systemic diseases. *Scientific Reports*, 7(1), pp. 1–8.
- Luke, R. *et alii.* (2015). Estimation of specific salivary enzymatic biomarkers in individuals with gingivitis and chronic periodontitis: a clinical and biochemical study. *Journal of International Oral Health*, 7(9), pp. 54–57.
- Lundmark, A. *et alii.* (2016). Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: Analysis of results obtained in the Dulcis study. *International Journal of Laboratory Hematology*, 38(1), pp. 42–49.
- Machado, V. *et alii.* (2018). IL-6 and TNF- $\alpha$  salivary levels according to the periodontal status in Portuguese pregnant women. *PeerJ*, (5), pp. 1–10.
- Mishra, D. *et alii.* (2015). Evaluation of salivary levels of pyridinoline cross linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) in periodontal health and disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(9), pp. 50–55.
- Morelli, T. *et alii.* (2014). Salivary biomarkers in a biofilm overgrowth model. *Journal of Periodontology*, 85(12), pp. 1770–1778.
- Newman, M. *Getalii.* (2012). *Periodontia Clínica*. 11ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier Editora Ltda.
- Nisha, K. J. *et alii.* (2018). MIP-1 $\alpha$  and MCP-1 as salivary biomarkers in periodontal disease. *Saudi Dental Journal*, 30(4), pp. 292–298.
- Papapanou, P. N. *et alii.* (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45, pp. S162–S170.
- Patel, R. M. *et alii.* (2016). Estimation and comparison of salivary calcium, phosphorous, alkaline phosphatase and pH levels in periodontal health and disease: A cross-sectional biochemical study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(7), pp. 58–61.
- Pfaffe, T. *et alii.* (2011). Diagnostic Potential of Saliva: Current State and Future Applications. *Clinical Chemistry*, 57(5), pp. 675–687
- Prasanna, J. S. *et alii.* (2017). Comparative evaluation of salivary neopterin levels and its effects to periodontal therapy in pre and post-menopausal women. *Journal of Menopausal Medicine*, 23(1), p. 32.
- Rajesh, K. S. *et alii.* (2015). Assessment of salivary calcium, phosphate, magnesium, pH, and flow rate in healthy subjects, periodontitis, and dental caries. *Contemporary Clinical Dentistry*, 6, pp. 461–465.
- Rangbulla, V. *et alii.* (2017). Salivary IgA, Interleukin-1 $\beta$  and MMP-8 as salivary biomarkers in chronic periodontitis patients. *The Chinese Journal of Dental Research*, 20(1), pp. 43–51.
- Recker, E. N. *et alii.* (2015). Novel biomarkers of periodontitis and/or obesity in saliva - An exploratory analysis. *Archives of Oral Biology*, 60(10), pp. 1503–1509.
- Redman, R. S. *et alii.* (2016). Salivary and serum procalcitonin and C-reactive protein as biomarkers of periodontitis in United States veterans with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *BiotechHistochem*, 91(2), pp. 1–14.

- Romero-R, C., Suarez-M, M. e Gloria-Narváez-C, C. (2017). Proteínas totales, fosfatasa alcalina, prostaglandinas E2 y lisozima como biomarcadores salivales en pacientes adultos con periodontitis crónica. *International Journal of Odontostomatology*, 11(4), pp. 381–385.
- Steffens, J. P. e Marcantonio, R. A. C. (2018). Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares 2018: guia Prático e Pontos-Chave. *Revista de Odontologia da UNESP*, 47(4), pp. 189–197.
- Taylor, J. J. (2014). Protein biomarkers of periodontitis in saliva. *ISRN Inflammation*. Hindawi Publishing Corporation, 2014, pp. 1–18.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H. e Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(20), pp. 149–161.
- Vanderlei, A. C. Q. et alii. (2018). Considerações acerca dos mecanismos patogênicos. *Revista Campo do Saber*, 4(5), pp. 159–173.
- Virtanen, E. et alii. (2017). Salivary MMP-13 gender differences in periodontitis: a cross-sectional study from Sweden. *Clinical and Experimental Dental Research*, 3(5), pp. 165–170.
- Wu, Y. C. et alii. (2018). Salivary biomarker combination prediction model for the diagnosis of periodontitis in a Taiwanese population. *Journal of the Formosan Medical Association*, 117(9), pp. 841–848.
- Yousefimanesh, H. et alii. (2015). Investigation of the association between salivary procalcitonin concentration and chronic periodontitis. *Cell Journal*, 17(3), pp. 559–563.
- Yuan, C., Liu, X. e Zheng, S. (2018). Matrix metalloproteinase-8 levels in oral samples as a biomarker for periodontitis in the Chinese population: an observational study. *BMC Oral Health*, 18(1), pp. 1–6.
- Zeidán-Chuliá, F. et alii. (2016). A systems biology approach to reveal putative host-derived biomarkers of periodontitis by network topology characterization of MMP-REDOX/NO and apoptosis integrated pathways. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(102), pp. 1–9.
- Zhang, T. et alii. (2016). Total antioxidant capacity and total oxidant status in saliva of periodontitis patients in relation to bacterial load. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(97), pp. 1–10.