

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

WESLEY RIBEIRO CAVALCANTE

**USO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES PARA DIAGNÓSTICO DA DOENÇA
PERIODONTAL: REVISÃO DE LITERATURA**

JUAZEIRO DO NORTE-CE
2021

WESLEY RIBEIRO CAVALCANTE

USO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES PARA DIAGNÓSTICO DA DOENÇA
PERIODONTAL: REVISÃO DE LITERATURA

Projeto de trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 1 do curso de Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para aprovação na disciplina.

Orientador(a): Prof. Ma. Karine Figueredo da Costa.

JUAZEIRO DO NORTE-CE
2021

WESLEY RIBEIRO CAVALCANTE

**USO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES PARA DIAGNÓSTICO DA DOENÇA
PERIODONTAL : REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel.

Aprovado em 25/06/2021.

BANCA EXAMINADORA

PROFESSOR (A) MESTRE KARINE FIGUEREDO DA COSTA
ORIENTADOR (A)

PROFESSOR (A) MESTRE LUCIANA MARA PEIXOTO ARAUJO
MEMBRO EFETIVO

PROFESSOR (A) ESPECIALISTA RAVENA PINHEIRO TELES
MEMBRO EFETIVO

AGRADECIMENTOS

Nesses agradecimentos não irei citar nomes de pessoas, para não esquecer de ninguém..

Quero agradecer aos meus PAIS, por todo o apoio e todas as contas pagas durante a faculdade. Acredito que essa conquista seja nossa e quero honrar sendo um bom profissional.

Quero agradecer a minha FAMÍLIA, que de forma direta ou indireta, me ajudou a chegar até aqui e me deram combustível para batalhar por tudo.

Quero agradecer a meu AMOR, por todos os concelhos e todo o colo em momento difíceis durante essa jornada.

Quero agradecer aos meus AMIGOS mais próximos que me ajudaram a ver sempre que tudo pode piorar, então vamos até o final, rs. Obrigao a todos por todo o apoio.

Quero agradecer aos meus professores por parte do conhecimento que tenho sobre a ODONTOLOGIA.

Quero ME agradecer por tudo, só eu sei o que precisei passar para conseguir ate agora.

RESUMO

As doenças periodontais possuem caráter inflamatório e estão totalmente ligadas com a resposta do hospedeiro, sendo que os processos inflamatórios acometem os tecidos periodontais de forma direta. Além disso, a microbiota salivar e os componentes da saliva são variados, desde bactérias específicas da doença periodontal até mesmo proteínas que possam estar relacionadas com o tipo de resposta do hospedeiro. O intuito da revisão é apresentar alguns biomarcadores salivares com grande potencial de relação com as doenças periodontais e facilitar para posteriores estudos sobre a atividade da doença. O diagnóstico da doença periodontal é realizado através de exames clínicos e radiográficos, considerados padrão ouro, esses exames apresentam resultados estáticos sobre a perda de inserção, em virtude da destruição dos tecidos de suporte, não sendo possível avaliar a atividade da doença. Devido a isso, as pesquisas têm buscado identificar biomarcadores salivares que possam auxiliar nesse diagnóstico de forma rápida e eficaz. Foi realizado a busca de bases de dados de 2020 a 2021, na plataforma PubMed, tendo como um dos critérios de inclusão os artigos estar na língua inglesa e um dos critérios de exclusão, artigos que contemplados com resumo somente ou que não fosse na língua inglesa. Conclui-se que, é possível vários componentes que podem ser encontrados na saliva, como proteínas, citocinas, fator de necrose tumoral, RNAm e outros, que conforme os estudos, quando há doença periodontal há uma taxa de crescimento ou diminuição desses componentes, comparados quando paciente é saudável, ou seja, sem doença periodontal. Conforme o que foi coletado, evidenciou-se que os potenciais biomarcadores podem auxiliar no diagnóstico da doença periodontal, já que a diferenciação dos níveis, evidenciando I-1b, TNF e proteínas.

Palavras-chave: Biomarcador salivar. Doença periodontal. Indicador biológico.

ABSTRACT

Periodontal diseases have an inflammatory character and are totally linked to the host's response, and inflammatory processes directly affect periodontal tissues. Furthermore, a salivary microbiota and saliva components are varied, from specific periodontal disease bacteria to proteins that may be related to the type of response of the host. The purpose of the review is to present some salivary biomarkers with great potential for relationship with periodontal diseases and facilitate further studies on disease activity. The diagnosis of periodontal disease is performed through clinical and radiographic exams, considered the gold standard, exams presenting static results on the loss of attachment, due to the destruction of the supporting tissues, making it impossible to assess a disease activity. Therefore, research has sought to identify salivary biomarkers that help in this diagnosis quickly and effectively. The search for databases from 2020 to 2021 was carried out on the PubMed platform, with one of the inclusion criteria of articles being in English and one of the exclusion criteria, articles that were included with an abstract only or that were not in the English language. It is concluded that several components that can be found in saliva are possible, such as proteins, cytokines, tumor necrosis factor, mRNA and others, which according to my studies, when there is periodontal disease there is a growth rate or decrease these components, compared when the patient is healthy, that is, without periodontal disease. According to what was collected, showing the potential biomarkers can help in the diagnosis of periodontal disease, since the differentiation of levels, showing I-1b, TNF and proteins.

Keyword: Biological indicator. Periodontal disease. Salivary biomarker.

LISTA DE SIGLAS

8-OHdG	8-hidroxidesoxiguanosina
CLP	Calprotectina
CRP	Proteína c-reativa
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Doença periodontal
exRNA	Ácido ribonucleico extracelulares
FCG ou GCF	Fluído crevicular gengiva
Ig	Imunoglobulina
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1b	Interleucina 1 beta
IL-1α	Interleucina 1 alfa
IL-6	Interleucina 6
LPS	Lipopolissacarídeos
MIP-1α	Proteína inflamatória 1-alfa dos macrófagos
miRNA	microRNA
MMP-8	Metaloproteinase-8 da matriz
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MS	Espectrometria de massa
NFATc1	Fator nuclear das células T ativadas, citoplasmático 1
PDCD4	Proteína de morte celular programada
RID	Imunodifusão radical
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Cadeia da polimerase de transcrição
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 METODOLOGIA	10
3 REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 BIOMARCADORES.....	11
3.2 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA PERIODONTAL.....	11
3.3 CARACTERÍSTICAS DA SALIVA E USO DE BIOMARCADORES.....	12
3.4 CONFIABILIDADE DO USO DE BIOMARCADORES.....	13
3.5 BIOMARCADORES SALIVARES RELACIONADOS A PROTEÍNAS.....	14
3.6 EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS RELACIONADAS AO FATOR DE NE- CROSE TUMORAL.....	15
3.7 USO DE CITOCINAS.....	16
3.8 USOS DE RNAs COMO BIOMARCADORES.....	17
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais (DP) possuem caráter inflamatório e estão totalmente ligadas a resposta do hospedeiro e acometem os tecidos periodontais de forma direta. Inicia-se através de um desequilíbrio entre a resposta inflamatória do hospedeiro e a proliferação de microrganismos periodontopatogênicos e seus produtos metabólicos (LIMA *et al.*, 2016).

O diagnóstico periodontal é realizado através de exames clínicos e radiográficos avaliando parâmetros como profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, sangramento à sondagem, índice de placa e as radiografias para observar a perda óssea, sendo que esses aspectos são contemplados no exame base para diagnóstico, o periograma. Esses dados coletados no periograma não mensuram atividade da doença, e precisam de tempo para serem realizados. O uso de possíveis testes rápidos salivar evidenciando os potenciais biomarcadores, otimizariam o tempo em clínica e avaliam a atividade e progressão da doença periodontal (ZHANG *et al.*, 2009; WEI *et al.*, 2019). Esses testes podem ser realizados através de amostras de saliva, e de fluido crevicular gengiva (FCG), devido a isso, identificar os potenciais biomarcadores seria de imensa importância para aplicações clínicas (TSUCHIDA *et al.*, 2018).

O fluido crevicular gengival (FCG) é uma complexa mistura de substâncias derivadas de soro sanguíneo, leucócitos, células estruturais do periodonto e microrganismos bucais. Possui composição semelhante à de um exsudato inflamatório, e tem origem nos vasos sanguíneos gengivais, e verte para membrana basal externa e a junção epitelial até atingir o sulco gengival (BARROS *et al.*, 2015). É considerado uma fonte promissora de indicadores bioquímicos de doenças, pois oferece grande potencial para refletir a resposta contínua gerada por células e tecidos no periodonto (GHALLAB, 2018).

A saliva é um fluido biológico que possuem funções específicas na cavidade bucal, como a lubrificação dos dentes até ação no processo cariogênico (LIMA *et al.*, 2016). É facilmente acessível e contém uma variedade de biomarcadores relacionados a doenças, que a tornam um meio potencial de diagnóstico. Foram encontrados na saliva biomarcadores inflamatórios como interleucinas (IL), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), matriz metaloproteínas (MMP) e inibidores teciduais de metaloproteínas (TIMP) que também estão relacionados com a DP (RATHNAYAKE *et al.*, 2017).

Há evidências que alguns tipos de bactérias, citocinas e proteínas são mais evidentes quando um indivíduo possui alterações periodontais, por isso a importância de estudar os biomarcadores salivares (LIMA *et al.*, 2016).

A saliva contém uma mistura de fluidos das glândulas salivares, FCG, soro, células imunológicas e epiteliais e muitos microorganismos (FUENTES *et al.*, 2014). Vários desafios permanecem em relação ao uso da saliva como meio de diagnóstico para doença periodontal, incluindo fatores como variação diurna, influência de medicamentos e fluxo salivar. Embora existam desafios e limitações, há oportunidades na periodontia ao que diz respeito à identificação, monitoramento e rastreamento da progressão da doença em pacientes por meio do diagnóstico salivar (GIANNOBILE, 2012; KACZORURBANOWICZ *et al.*, 2018).

Embora não exista um único biomarcador específico para identificar as doenças periodontais, é possível identificar alguns que encontram-se aumentados na condição de doença, ou seja, quando um indivíduo possui a doença periodontal, há o aumento de vários componentes, como : proteínas, bactérias, interleucinas e outro, sendo assim a saliva é um fluido promissor para triagem, diagnóstico e monitoramento das doenças. O intuito da revisão é apresentar alguns biomarcadores salivares com grande potencial de relação com as doenças periodontais e facilitar para posteriores estudos sobre a atividade da doença periodontal.

2 METODOLOGIA

O presente estudo baseou-se em uma revisão narrativa, realizada no período de agosto de 2020 a maio de 2021. Para busca dos artigos, foram utilizadas as bases de dados MEDLINE/PubMed, utilizaram-se os descritores cadastrados em Ciências da Saúde (DeCS) na língua inglesa "Periodontal Disease", "Biological indicator" e "Salivary Biomarker" o cruzamento foi realizado de forma combinada por meio do operador booleano AND.

A seleção foi feita após leitura do título e resumo, sendo a pesquisa limitada a trabalhos somente em inglês e português, incluídos somente artigos científicos relacionados ao tema. Sendo excluídos os trabalhos que apresentavam duplicação nas bases de dados, bem como aqueles que não se encontrem indexados nas bases de dados supramencionada, ou aqueles que disponibilizem somente o resumo ou que não tivessem na língua inglesa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIOMARCADORES

Biomarcador é uma substância medida objetivamente e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica (TABA *et al.*, 2005). Ou seja, são entidades dentro do corpo capazes de fornecer informações imparciais sobre o estado atual de um indivíduo. Os biomarcadores existentes incluem anticorpos, microorganismo, DNA, RNA, lipídios, metabólitos e proteínas. Uma coleção de biomarcadores confiáveis e reproduzíveis, exclusivos para certas doenças, são chamados de biomarcador ou assinatura molecular. Compreender e avaliar a importância desses biomarcadores em um indivíduo pode ser útil para determinar presença, localização e até mesmo a progressão de doenças. Assim, os biomarcadores servem como ferramenta para avaliação de risco, diagnóstico, prognóstico e monitoramento da doença (YOSHIZAWA *et al.*; 2013).

Os biomarcadores têm as vantagens de serem simples e baratos para mensurar desfechos clínicos e podem ser analisados repetidamente e em um período curto de tempo. Um biomarcador pode ser identificado a nível molecular, celular, tecidual, em órgãos ou no organismo como um todo. Uma intervenção modifica o biomarcador que pode mostrar que a terapia aplicada foi eficaz. Para compreender o valor de um biomarcador é necessário saber como esse se relaciona com a condição de saúde e doença. Para identificar um biomarcador como adequado é preciso entender a fisiologia da doença e fatores associados a ela; os mecanismos pelo qual a intervenção afeta a fisiopatologia da doença; e como se correlaciona ao processo da condição (YOSHIZAWA *et al.*; 2013).

3.2 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA PERIODONTAL

A doença periodontal possui um caráter inflamatório e está relacionada com a presença de biofilme, uma comunidade microbiana aderida a um substrato (KINNEY *et al.*, 2014; KACZYŃSKI *et al.*, 2019) que induzem uma série de resposta do hospedeiro que medeiam eventos inflamatório (GIANNOBILE, 2012).

Quando a placa bacteriana não é desorganizada, ou seja, não é removida pela escovação, cria-se uma região propícia para as bactérias periodontais se multiplicarem. Esta situação ativa a resposta inflamatória natural do organismo, que provoca edema e eritema na região devido a chegada das células de defesa na região gerando a gengivite, inflamação dos tecidos periodontais de proteção, condição que quando tratada os danos

que são causados ao periodonto são reversíveis. Quando não tratada, a gengivite pode progredir para uma forma irreversível e mais grave da doença periodontal, a periodontite, que causa a destruição dos tecidos periodontais de sustentação (cimento, ligamento periodontal e ao osso alveolar), podendo levar a mobilidade e perda dentária (KACZOR-URBANOWICZ *et al.*, 2018; KACZYŃSKI *et al.*, 2019).

O diagnóstico periodontal é realizado através de exames clínicos e radiográficos avaliando parâmetros como profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NIC), sangramento à sondagem (SS), índice de placa (IP) e as radiografias para observar a perda óssea, sendo que esses aspectos são contemplados no exame base para diagnóstico, o periograma, a qual de forma mais específica, entretanto, esses dados coletados no periograma não mensuram atividade da doença. O tratamento para doença periodontal é realizado através da terapia periodontal básica, com raspagens supra e subgengivais, orientações de higiene oral, em casos mais avançados, com presença de bolsa periodontal profunda, a qual precise, cirurgia para acesso ou extrações e reabilitações complexas (ZHANG *et al.*, 2009; WEI *et al.*, 2019; TSUCHIDA *et al.*, 2018).

A doença periodontal além de gerar incômodo para o indivíduo e destruição (reversível ou irreversível) dos tecidos periodontais, dependendo da sua severidade o tratamento pode ser demorado. Portanto, é de grande valia a descoberta de um método de diagnóstico precoce, que monitora a atividade da doença e a resposta do organismo ao tratamento. Desse modo, a doença periodontal pode ser monitorada pela saliva, através dos testes que usem os biomarcadores (KACZOR-URBANOWICZ *et al.*, 2018; HEGDE *et al.*, 2019).

3.3 CARACTERÍSTICAS DA SALIVA E USO DE BIOMARCADORES

A saliva possui ações fisiológicas e funções na cavidade bucal que são de extrema importância, tem participação na fase inicial da digestão atuando na formação do bolo alimentar, lubrificação dos dentes e tecidos moles, regulação do pH da cavidade, também influencia na fonética e autolimpeza. Quando há desordens nesse fluido, outros problemas são observados, e esse é o momento o indivíduo geralmente vai procurar o cirurgião-dentista. (ZHANG *et al.*, 2009).

Existem na cavidade bucal três grupos de glândulas maiores, a glândula parótida, submandibular, sublingual e um grupo menor que são as glândulas menores. Normalmente, em situações normais, ao dia com a atividade dessas glândulas, é produzido aproximadamente 1,5 L de saliva, a qual desempenha várias funções. A saliva é um fluido

promissor, devido ser de fácil coleta e não requer muitos aparatos (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018; KO, 2020).

Sabe-se que a saliva contém marcadores locais e sistêmicos, isso justifica seu uso na identificação de doenças da cavidade oral e sistêmicas. Durante a patogênese da doença periodontal, mediadores de destruição do tecido, são liberados pela saliva, como citocinas, quimiocinas e enzimas celulares destrutivas. Além disso, outro fator importante é que o fluido gengival tem ação de atravessar a microcirculação nos tecidos com a doença, levando biomarcadores que possam estar ao redor para a cavidade oral, conseqüentemente para saliva. Os valores de biomarcadores quanto ao diagnóstico podem ser mensurados de acordo com o estágio da doença. (CEZARIO *et al.*, 2010; KINNEY *et al.*, 2014).

Quando é feita a análise da saliva é possível observar o quanto ela é variável na sua composição, sendo que diversos fatores influenciam de forma direta, podendo variar de acordo com o grau de hidratação, medicamentos que o indivíduo possa estar utilizando ou até mesmo a ingestão de drogas. Ademais, o tipo de coletor e de coleta, o transporte dessa saliva, a temperatura, a quantidade e até a técnica usada em laboratório pode influenciar em resultados com muitas variáveis e inconsistências. Com isso, é evidente que é preciso ser elaborado um protocolo que essas variáveis sejam minimizadas ou totalmente removidas, para resultados precisos (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018).

Conforme a literatura recente, foi elaborada uma técnica que analisou os componentes da saliva, desde a elementos não sólidos até a questão de defesa, as bactérias, tendo como termo, biopsia líquida. Com isso, utilizando essa técnica, é evidente que é eficaz na observação de tipos de biomarcadores presentes na saliva, células tumorais, proteínas e ocitocinas. Atualmente no mundo da biotecnologia, existem vários fluidos que podem ser analisados e essa análise em laboratório requer um valor monetário considerável. A partir disso surge a necessidade dos testes rápidos, realizados ao lado da cadeira (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018).

A saliva e sangue são bastante semelhantes, devido suas viscosidades e quantidade de componentes que são encontrados para análise. Entretanto, a saliva consegue ser mais clara e rápida, devido a sua coleta e observação do fluido, sendo um ponto considerável para usar seus potenciais biomarcadores (ZHANG *et al.*, 2009).

3.4 CONFIABILIDADE DO USO DE BIOMARCADORES

Atualmente no mundo científico há um crescimento gradual de pesquisas como intuito de identificar biomarcadores salivares (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018). Certos

biomarcadores encontrados na saliva são de alta sensibilidade e especificidade, particularmente nas doenças orais, como a periodontite, mas identificar biomarcadores moleculares específicos da doença na saliva é um desafio, uma vez que métodos avançados são necessários. A localização intracelular, o tamanho das proteínas e as características do fluxo do fluido biológico local são fatores que influenciam na expressão e liberação de biomarcadores (RATHNAYBE, *et al.*, 2017).

Não existe um único biomarcador específico para identificar a doença periodontal. Portanto, os biomarcadores salivares de origem microbianas e do hospedeiro podem ser usados em combinação para aumentar a especificidade para diagnóstico da doença periodontal atual e futura até mesmo em ambiente clínico (FUENTES, YAKOB & WONG, 2014).

Os estudos sobre a relação entre biomarcadores salivares e doenças bucais apresentam limitações metodológicas que dificultam conclusões e a possibilidade de estabelecer a relação causal entre os biomarcadores analisados na saliva e determinadas condições. Como os biomarcadores salivares são de grande interesse para triagem / diagnóstico e prognóstico das doenças, uma grande quantidade de pesquisas tem sido desenvolvida no intuito de desenvolver testes bons, baratos e práticos para esse fim. Sendo promissor para os futuros diagnósticos orais e sistêmicos (RATHNAYBE, *et al.*, 2017).

3.5 BIOMARCADORES SALIVARES RELACIONADOS A PROTEÍNAS

A saliva humana possui mais de 1000 tipos de proteínas, e algumas estão associadas com várias doenças, como diabetes mellitus, doenças autoimunes e a doença periodontal (ZHANG *et al.*, 2009).

É notório a presença de diversos biomarcadores salivares na cavidade oral, porém existem alguns que tem maior relação quando há a doença periodontal instalada. Assim, há um predomínio de um grupo de glicoproteínas que são as imunoglobulinas (Ig) sintetizadas pelos plasmócitos B que atuam na saliva neutralizando o metabólico das bactérias presentes. Os níveis de Ig, IgG e IgM são variáveis e modificados de acordo com características do paciente, ou seja, se o indivíduo é saudável ou não. Conforme estudos, os níveis de Igs são percebidos de forma expressiva em pacientes com periodontites em vários níveis e estágios da doença e conseqüentemente menores em pacientes saudáveis (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018).

É evidente que a microbiota salivar e os tipos de proteínas são constantemente modificadas, ou seja, existem grandes diferenças na composições salivares tanto em

indivíduos saudáveis quanto em indivíduos com atividade da doença periodontal. Assim, existem proteínas que são mais evidentes quando há meios diferenciados, no caso, com a doença periodontal reduzida, essa composição salivar é diversificada e modificada de acordo com os avanços em tratamento (LOURENZO-POUSO *et al.*, 2018; LIUKKONEN *et al.*, 2018).

Apesar da diferença nos níveis salivares da metaloproteinase-8 (MMP-8), os seus valores são significativamente maiores em pacientes com periodontite. A heterogeneidade desses níveis pode ser facilmente explicada por conta, por exemplo, da variação do fluxo salivar, uso de antimicrobianos e tabagismo (ZHANG *et al.*, 2018).

3.6 EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS RELACIONADAS AO FATOR DE NECROSE TUMORAL

O fator de necrose tumoral (TNF) possui um papel de forma direta nas células como osteoclastos e osteoblastos, que estão ligados de forma ativa a destruição e remodelação óssea no corpo humano. Ele desempenha um papel importante na formação óssea e na promoção de osteoclastogênese patológica, entretanto, conforme estudos, o fator sozinho não faz diferenciação de osteoclastos, além disso, vários estudos evidenciam que o TNF consegue inibir a formação óssea por meio da supressão de diferenciação das células osteoblásticas (ZHAO, 2017).

O fator de necrose tumoral-alfa, é considerado um mediador de respostas de determinadas células que há no corpo humano. Ele consegue ser notado quando há presença de patógenos que são estopins para processos inflamatórios, como por exemplo, na doença periodontal. Com isso, o fator age na estimulação de síntese de prostaglandinas, proteases e ações osteoclásticas, nesse caso, a reabsorção óssea (MARTINEZ-AGUILAR *et al.*, 2019).

Estudos evidenciam que o fator de necrose tumoral alfa, consegue ser visualizado em processos tanto agudos como crônicos, inflamatórios e infecciosos. Além disso, possui ações que são essenciais para ser identificado desequilíbrio em determinadas partes do corpo humano, através de observação de remodelações ósseas, angiogênese e crescimentos tumorais. Ademais, a ação do fator de necrose tem eclosão de acordo com o grau de estímulos celulares, como em um processo inflamatório, a qual células de neutrófilos migram para o local. Desse modo, observa os níveis de fatores de necrose são eficazes na identificação da doença periodontal (MARTINEZ-AGUILAR *et al.*, 2019).

Vários estudos mostram que células que contempladas na região periodontal, normalmente, secretam várias citocinas e fator de necrose tumoral, sendo que essas interleucinas agem também na absorção óssea e que podem ser usadas como biomarcadores salivares (ZHENG *et al.*, 2019). As pesquisas tem o intuito de descobrir os biomarcadores salivares para detecção precoce da periodontite, pois além da facilidade de diagnóstico, o método é não invasivo e acessível (financeiramente) (ZHANG *et al.*, 2018).

A resposta inflamatória causada pela doença periodontal provoca o aumento de secreção de citocinas pró-inflamatórias, dentre elas, a interleucina IL-1a, IL-1b, IL-6, e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), depois, neutrófilos liberam enzimas como MMP-8 e mediadores da inflamação. É possível observar em pacientes com periodontite uma quantidade de metaloproteinase-8 (MMP-8) interleucinas (IL-1, IL-6) e TNF- α aumentados, quando em comparação com pacientes saudáveis (ZHANG *et al.*, 2018).

O colágeno tipo I, é um dos componentes principais envolvidos na matriz extracelular periodontal, dentre as collagenases encontradas em pacientes com periodontite, a MMP-8 foi a que mais se destacou, por conta da sua associação ao estado periodontal, pois é a responsável por originar 90% a 95% de atividade colagenolítica no fluido gengival e é a mais promissora para ser usada como biomarcador para periodontite (ZHANG *et al.*, 2018).

3.7 USO DE CITOCINAS

É notório que citocinas são bons biomarcadores salivares, já que em determinadas épocas de vida de um indivíduo, elas podem se manifestar de diferentes níveis, como em doentes e saudáveis. Nesse processo inflamatório, os fibroblastos são estimulados pela as interleucinas e metaloproteinases de matriz são secretadas (LIUKKONEN *et al.*, 2018; MONTIEL-COMPANY *et al.*, 2018).

Com isso, a IL-8 que é uma citocina inflamatória pode induzir a quimiotaxia de neutrofilos e a mieloperoxidase (MPO) secreção desses neutrófilos, sendo que essa MPO está associada também a ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs), especificamente a MMP-8 e MMP-9, evidenciadas quando há destruição de tecidos duros, ou seja, comprovando sua efetividade quanto observação de atividade de periodontite (LIUKKONEN *et al.*, 2018).

Quando há o aumento de citocinas, como IL-1B e TNF- α , normalmente está associado a processos inflamatórios que possam existir ou que já existem, com isso, há o

aumento de estresse oxidativo nos tecidos periodontais acometidos e várias outras células podem ser diferenciadas com o passar do tempo (ABDULABBAR *et al*, 2017).

Os biomarcadores evidenciados tiveram níveis consideráveis para detecção, mostrando uma diferença entre pacientes saudáveis e pacientes com a patologia ou com uma progressão dela, referenciado a IL-1b, já que temos fase aguda e crônica da mesma, entretanto, o CRP não foi ativo em pesquisa. Assim, o aumento de IL-1b no GCF em pacientes que tiveram a doença ou aumento considerável de MMP-8 no GCF quando pacientes forem estáveis ou com progressão, evidenciou caráter satisfatório em estudo para diagnóstico da doença periodontal com subsídio de biomarcadores salivares (KINNEY *et al.*, 2014).

3.8 USOS DE RNAS COMO BIOMARCADORES

Na saliva podemos encontrar moléculas como proteínas, DNA e RNA, que podem ser utilizadas para detectar doenças sistêmicas e orais. Com o desenvolvimento das pesquisas em busca da descoberta de novos biomarcadores, é possível perceber a complexa composição do RNA da saliva, dentre as sequências de RNAs o mais explorado (dentro do contexto de biomarcadores salivares) são os miRNAs, que são responsáveis por regular vários processos biológicos do organismo. Dessa forma, o uso de testes rápidos para diagnóstico usando biomarcadores salivares, pode gerar um grande impacto positivo no diagnóstico da doença periodontal, já que os resultados obtidos podem não só diagnosticar, mas também monitorar atividade da doença (KACZOR-URBANOWICZ *et al.*, 2018).

Os microRNAs (miRNA) são pequenos RNAs que regulam a expressão de genes em nível pós-translacional (modificação química de uma cadeia proteica depois de sua tradução) através da degradação ou repressão da tradução de moléculas-alvo de RNA mensageiro (mRNAs). Esses microRNAs fazem a regulação de diversas atividades biológicas do corpo humano, dentre elas, as pesquisas recentes apontam o seu envolvimento através da diferenciação e função dos osteoblastos, na perda óssea causada pela doença periodontal e na regulação de processos anabólicos e catabólicos envolvidos na homeostase periodontal, a desregulação da expressão desses miRNAs é refletida em biofluidos, como soro, saliva e fluido fenda da gengiva, estes fluidos podem ser facilmente coletados e utilizados em biomarcadores (NISHA *et al.*, 2019; KAGIYA, 2016).

Com isso, dentre os RNAs extracelulares (exRNA) identificados e estudados, é possível notar que 8 geram resultados positivos em relação ao monitoramento da atividade da gengivite e a resposta do organismo ao tratamento. A relação entre esses exRNAs é

que são envolvidos em respostas de processos inflamatórios, atividade antimicrobiana, resposta imune inata, homeostase óssea, apoptose, neutrófilos, eosinófilos e quimiotaxia de macrófagos, o que coincide com as particularidades da doença periodontal que são de origem inflamatória e tem atividade nas vias imunológica do indivíduo (KACZOR-URBANOWICZ *et al.*, 2018).

Além disso, nas bactérias gram negativas presentes na doença periodontal, é possível encontrar na sua parede celular o lipopolissacarídeos (LPS), que é um componente patogênico que induz a expressão do miR-21 (um tipo de miRNA). Esse microRNA quando regulado positivamente pelo c-fos induzido por RANKL, desregula a expressão da PDCD4 (proteína de morte celular programada) que é um regulador negativo (quando a ausência de uma proteína permite que ocorra transcrição, ou seja, a cópia do gene no RNA) da osteoclastogênese. Outro componente patogênico envolvido na doença periodontal é o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), que quando combinado ao RANKL ocorre o aumento da expressão de miR-21 durante a diferenciação dos osteoclastos (KAGIYA, 2016).

Segundo a literatura, usando testes de gene também, como uma abordagem de sequenciamento de genes, através do RNA ribossômico 16S (Rrna), foi evidenciado que espécies como a *Filifactor alocis*, são associadas a periodontite. Com isso, testes rápidos sensíveis a essas espécies, podem ser altamente usados para detecção de atividade da doença (LUNDMARK *et al.*, 2019).

O miR-31 é o microRNA menos encontrado na gengiva com periodontite quando em comparação com a gengiva saudável. Quando inibido ele suprime a formação de osteoclastos diminuindo por consequência a reabsorção óssea e também, é responsável por regular a expressão de RhoA. O RhoA é responsável por promover a montagem do anel de actina, esse anel é capaz de formar uma zona de vedação que faz com que os osteoclastos prendam firmemente a superfície óssea (KAGIYA, 2016).

Outro fator relevante, é o microRNA miR-124 tem um valor importante na formação dos osteoclastos. Ele tem como alvo direto o gene NFATc1 (que codifica a proteína fator nuclear das células T ativadas, o citoplasmático 1). Quando regula a expressão desse gene, o miR-124 reduz a formação de osteoclastos (KAGIYA, 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que, por meio da literatura pesquisada, é notório que os níveis de várias proteínas, citocinas e outros componentes podem ser usados como auxiliares no diagnóstico da doença periodontal. Entretanto, o fator de necrose tumoral, IL-1B, MMP-8 e miRNA se destacam de forma específica para o diagnóstico da doença periodontal, pois em níveis da doença há uma diferenciação, devido evidenciar o aumento desse componentes em nível salivar em relação a um individuo saudável. Assim, esses potenciais biomarcadores podem ser usados para subsidiar um diagnóstico de doença periodontal, devido suas aplicações e diferenciações de níveis quanto à atividade da doença.

Embora a utilização de biomarcadores salivares seja um campo promissor, ainda há a necessidade de mais pesquisas com metodologia padronizada, associação de biomarcadores, para desenvolvimento de testes rápidos, baratos e acessíveis que tenha viabilidade de ajudar o clínico na sua rotina de atendimentos.

REFERÊNCIAS

- ABDULJABBAR, T.; VOHRA, F.; KELLESARIAN, S. V.; JAVED, F. Efficacy of scaling and root planning with and without adjunct Nd:YAG laser therapy on clinical periodontal parameters and gingival crevicular fluid interleukin 1beta and tumor necrosis factor-alpha levels among patients with periodontal disease a prospective randomized splitmouth clinical study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 169, p. 70-74, 2017.
- AMORIM, Leiliane Coelho André. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, p. 158-170, 2003.
- BARROS, S. P.; WILLIAMS, R.; OFFENBACHER, S.; MORELLI, T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 70, n. 1, p. 53-64, 2015.
- CEZARIO, E. S.; SOARES, R. V.; VEIGA, L. G. M.; ZENÓBIO, E. G. Uso de biomarcadores periodontais presentes na saliva e fluido gengival no diagnóstico da periodontite. **Perio-news**, p. 575-578, 2010.
- FUENTES, L.; YAKOB, M.; WONG, D. T. W. Emerging horizons of salivary diagnostics for periodontal disease. **British dental journal**, v. 217, n. 10, p. 567-573, 2014.
- GHALLAB, N. A. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. **Archives of Oral Biology**, v. 87, p. 115-124, 2018.
- GHALLAB, N.A. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. **Archives of oral biology**, v. 87, p. 115-124, 2018.
- GIANNOBILE, W. V. Salivary diagnostics for periodontal diseases. **The Journal of the American Dental Association**, v. 143, p. 6S-11S, 2012.
- HEGDE, R.; AWAN, K. H. Effects of periodontal disease on systemic health. **Disease-a-Month**, v. 65, n. 6, p. 185-192, 2019.
- JAVAID, M. A.; AHMED, A. S.; DURAND, R.; TRAN, S. D. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. **Journal of oral biology and craniofacial research**, v. 6, n. 1, p. 67-76, 2016.
- JOHANNSEN, B.; MULLER, L.; BAUMGARTNER, D.; KARKOSSA, L.; FRÜH, S. M.; BOSTANCI, N.; KARPÍŠEK, M.; ZENGERLE, R.; PAUST, N.; MITSAKAKIS, K. Automated Pre-Analytic Processing of Whole Saliva Using Magnet-Beating for Point-of-Care Protein Biomarker Analysis. **Micromachines**, v. 10, n. 12, p. 833, 2019.
- KACZOR-URBANOWICZ, K. E.; TRIVEDI, H. M.; LIMA, P. O.; CAMARGO, P. M.; GIANNOBILE, W. V.; GROGAN, T. R.; GLEBER-NETTO, F. O.; WHITEMAN, Y.; LI, F.; LEE, H. J.; DHARIA, K.; ARO, K.; CARERRAS-PRESAS, C. M.; AMUTHAN, S. ;

VARTAK, M.; AKIN, D.; AL-ADBULLAH, H.; BEMBEY, K. ; KLOKKEVOLD, P. R.; ELASHOFF, D. ; BARNES, V. M.; RICHTER, R. ; DEVIZIO, W. ; MASTERS, J. G.; WONG, D. Salivary exRNA biomarkers to detect gingivitis and monitor disease regression. **Journal of clinical periodontology**, v. 45, n. 7, p. 806-817, 2018.

KACZYŃSKI, T.; WRONSKI, J.; GLUSZKO, P.; KRYCZKA, T.; MISKIEWICZ, A.; GÓRSKI, B.; RADKOWSKI, M.; STRZEMECKI, D.; GRIEB, P.; GÓRSKA, R. Níveis de interleucina salivar 6, interleucina 8, interleucina 17A e fator de necrose tumoral α em pacientes com periodontite e artrite reumatoide. **Jornal centro-europeu de imunologia**, v. 44, n. 3, pág. 269, 2019.

KAGIYA, T. MicroRNAs: Potential biomarkers and therapeutic targets for alveolar bone loss in periodontal disease. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 8, p. 1317, 2016.

KINNEY, J. S.; MORELLI, T.; OH, MIN; BRAUN, T.M.; RAMSEIER, C. T. A.; SUGAI, J. V.; GIANNOBILE, W.V. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. **Journal of clinical periodontology**, v. 41, n. 2, p. 113-120, 2014.

KO, Y.; LEE, F.; CHEOL, P.J; GU, M.B; BAK, S.; SUK JI. Salivary microbiota in periodontal health and disease and their changes following nonsurgical periodontal treatment. **Journal of Periodontal & Implant Science**, v. 50, n. 3, p. 171, 2020.

LIMA, C. L; ACEVEDO, A.C.; TABA JR, M.; GRISI, D. C.; GUERRA, E.; CANTO, G. L. Host-derived salivary biomarkers in diagnosing periodontal disease: systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 43, n. 6, p. 492-502, 2016.

LIUKKONEN, J.; GU'RSOY, U.K.; KÖNÖNEN, E.; GU'RSOY, M.; METSO, J.; SALMINEN, A.; KOPRA, E.; JAUHAINEN, M.; MÄNTYLÄ, P.; BUHLIN, K.; PAJU, S.; SORSA, T.; NIEMINEN, M.S.; LOKKI, M.L.; SINISALO, J.; PUSSINEN, P.J. Salivary biomarkers in association with periodontal parameters and the periodontitis risk haplotype. **Innate immunity**, v. 24, n. 7, p. 439-447, 2018.

LORENZO-POUSO, A. I.; PÉREZ-SAYÁNS, M.; BRAVO, S. B.; LÓPEZ-JORNET, P.; GARCÍA-VENTE, María; ALONSO-SAMPEDRO, M.; CARBALLO, Javier; GARCÍA-GARCÍA, Abel. Protein-based salivary profiles as novel biomarkers for oral diseases. **Disease Markers**, v. 2018, 2018.

LUNDMARK, A.; HU, Y.O.; HUSS, M.; JOHANNSEN, G.; ANDERSSON, A.F.; YUCEL-LINDBERG, T. Identification of the salivary microbiota and its association with host inflammatory mediators in periodontitis. **Frontiers in cell microbiology and infection**, v. 9, p. 216, 2019.

MARTINEZ-AGUILAR, V. M.; CARRILLO-ÁVILA, B.A.; SAURI-ESQUIVEL, E.A.; GUZMÁN-MARÍN, E.; JIMÉNEZ-COELHO, M.; ESCOBAR-GARCIA, D.M.; POZOS-GUILLÉN, A. Quantification of TNF- α in Patients with Periodontitis and Type 2 Diabetes. **BioMed research international**, v. 2019, 2019.

- MONTIEL-COMPANY, J.; IRANZO-CORTÉS, J.E.; ALMERICH-TORRES, T.; BELLOT-ARCIS, C.; ALMERICH-SILLA, J.M. Meta-analysis of the use of 8-OHdG in saliva as a marker of periodontal disease. **Disease markers**, v. 2018, 2018.
- NISHA, KJ; JANAM, Presanthila; HARSHAKUMAR, K. Identificação de um novo biomarcador salivar miR - 143-3p para diagnóstico periodontal: Um estudo de prova de conceito. **Journal of periodontology** , v. 90, n. 10, pág. 1149-1159, 2019.
- NISHA, R.J.; SURESH, A.; ANILKUMAR, A.;PADMANABHAN, S. MIP1 α and MCP-1 as salivary biomarkers in periodontal disease. **The Saudi dental journal**, v. 30, n. 4, p. 292-298, 2018.
- PODZIMEK, S.; VONDRACKOVA, L.; DUSKOVA, J.; JANATOVA, T.; BROUKAL, Z. Salivary markers for periodontal and general diseases. **Disease markers**, v. 2016, 2016.
- RATHNAYAKE, N.;GIESELMANN, D.;HEIKKINEN, A.M.; TERVAHARTIALA, T.;SORSA, T. Salivary Diagnostics—Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. **Diagnostics**, v. 7, n. 1, p. 7, 2017.
- SCHMALZ, G.; LI, S.; BURKHARDT, R.; RINKE, S.; KRAUSE, F.; HAAK, R.; ZIEBOLZ, D. MicroRNAs as salivary markers for periodontal diseases: a new diagnostic approach?. **Bio-Med research international**, v. 2016, 2016.
- TABA, M.; KINNEY, J.; KIM, A. S.; GIANNOBILE, W. V.. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. **Dental Clinics**, v. 49, n. 3, p. 551-571, 2005.
- TSUCHIDA, S.; SATOH, M.; TAKIWAKI, M.; NOMURA, F. Current status of proteomic technologies for discovering and identifying gingival crevicular fluid biomarkers for periodontal disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 1, p. 86, 2018.
- WEI, L.; LIU, M.; XIONG, H. Role of Calprotectin as a Biomarker in Periodontal Disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2019, 2019.
- YOSHIZAWA, J.M.; SCHAFER, C.A.; SCHAFER, J.J.; FARRELL, J.J.; PASTER, B.J.; WONG, D.T.W. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 4, p. 781-791, 2013.
- ZHANG, L.; LI, X.; YAN, H.; HUANG, L. Salivary matrix metalloproteinase (MMP)-8 as a biomarker for periodontitis A PRISMA-compliant systematic review and metaanalysis. **Medicine**, v. 97, n. 3, 2018.
- ZHANG, L.i; XIAO, H.; WONG, D. T. Salivary biomarkers for clinical applications. **Molecular diagnosis & therapy**, v. 13, n. 4, p. 245-259, 2009.
- ZHAO, Baohong. TNF and bone remodeling. **Current osteoporosis reports**, v. 15, n. 3, p. 126-134, 2017.
- ZHENG, R.; TAN, Y.; GU, M.; KANG, T.; ZHANG, H.; GUO, L. A N-acetil cisteína inibe a síntese mediada por lipopolissacarídeo de interleucina-1 β e fator de necrose tumoral- α em

células de fibroblastos do ligamento periodontal humano por meio da sinalização do fator nuclear kappa B. **Medicine** , v. 98, n. 40, 2019.