

BIOMARCADORES: PREDIÇÃO DA PROGRESSÃO DA DOENÇA PERIODONTAL

BIOMARKERS: PREDICTION OF THE PERIODONTAL DISEASE PROGRESSION

Simone Dias Peringer, Especialista em Periodontia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Caroline Montez Lima dos Santos, Cirurgiã-dentista pela Universidade Federal Fluminense e Pós-graduanda em Política, Planejamento, Gestão e Avaliação em Saúde Bucal pela Universidade Federal de Pernambuco

Diogo Luz, Mestre e Doutorando em Odontologia pela Universidade Federal Fluminense

Cristiano Susin, Mestre e Doutor em Periodontia, Professor na Dental College of Georgia, Augusta University

Eliane dos Santos Porto Barboza, Mestre e Doutora em Periodontia,

Professora Titular da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense

Categoria do trabalho: Artigo de revisão
Palavras-chave: fluido crevicular gengival; biomarcadores; doença periodontal

Keywords: crevicular gingival fluid; biomarkers; periodontal disease

Endereço para correspondência: Rua Mário Santos Braga, 28 – Centro – Niterói/RJ; CEP:24020-140; Telefone: (21) 97980-8811

e-mail: elianeporto.uff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os tecidos periodontais estão em constante interação com microrganismos da cavidade bucal. Quando existe uma homeostase nessa inter-relação, os tecidos gengivais produzem um transudato que banha o sulco periodontal (KORMAN et al., 1997). Esse transudato é composto de uma complexa mistura de substâncias derivadas do soro, de células estruturais do periodonto e das bactérias. Quando a homeostase entre o hospedeiro e o biofilme é quebrada, ocorre uma mudança na composição do líquido intersticial do conjuntivo periodontal, o que acarreta em mudança na composição do exsudato gengival (GRIFFITHS, 2003).

Coletivamente os fluidos que advêm do sulco ou bolsa periodontais são chamados de fluido crevicular gengival (FCG). O FCG parece ser o reflexo das complexas interações entre o biofilme e os tecidos periodontais. Portanto, a análise de constituintes específicos no FCG permite uma indicação bioquímica quantitativa do metabolismo celular local, refletindo o estado de saúde periodontal do indivíduo (CHAMPAGNE et al., 2003).

A atividade da doença periodontal e sua progressão ainda são um desafio para o clínico. O monitoramento da progressão da doença é um processo altamente especializado e tecnicamente exigente, o qual envolve avaliações clínicas, tais como o índice de placa, sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e avaliação radiográfica. Essas ferramentas têm sido utilizadas para avaliar tanto o padrão de doença quanto a resposta tecidual ao tratamento periodontal. No entanto, as avaliações clínicas rotineiras são relativamente insensíveis e inespecíficas na determinação de risco de progressão de doença em um curto período de tempo (OFFENBACHER et al., 1993).

Existe significativa evidência de que a maior parte da destruição tecidual observada na lesão periodontal estabelecida advém das citocinas pró-inflamatórias liberadas pelas células do hospedeiro quando expostas às bactérias periodontopatogênicas e seus produtos. Portanto, a avaliação dos constituintes do FCG tem grande relevância clínica se esses forem capazes de elucidar sítios estáveis de sítios com perda de inserção progressiva. O objetivo desta revisão é avaliar evidências da

literatura atual em relação ao potencial valor preditivo dos biomarcadores na progressão da destruição periodontal e destacar as direções futuras nos métodos de detecção precoce da doença periodontal .

2. REVISÃO DA LITERATURA

A periodontite é uma das doenças bucais mais prevalentes no mundo. Aproximadamente 5 a 20% dos adultos em todo o mundo sofrem de periodontite que pode levar à perda do dente. Além de ser uma interação complexa de bactérias periodontopatogênicas com as respostas inflamatórias e imunológicas do hospedeiro, e de uma interação de fatores ambientais e genéticos, é também a infecção bacteriana mais comum no mundo. Embora a iniciação da doença seja causada por bactérias específicas, a destruição tecidual subsequente à progressão da doença é causada por um desequilíbrio entre os mecanismos protetores e destrutivos do hospedeiro que são desencadeados com a infecção (SAHINGUR e COHEN, 2004).

O objetivo dos procedimentos de diagnóstico periodontal é fornecer informações úteis para dentistas e pacientes sobre o tipo e a gravidade da doença periodontal atual, que serve como base para o planejamento do tratamento e monitoramento da doença durante a manutenção periodontal (SLOTS, 2013).

A presença de sangramento à sondagem é uma medida que está ligada à inflamação e ainda é o melhor preditor negativo da atividade da doença periodontal, onde sua ausência prediz a não destruição do tecido periodontal, ainda que tenha um baixo valor de sensibilidade. Abordagens diagnósticas subjetivas como profundidade de sondagem e perda de inserção não refletem a atividade atual da doença, mas apenas avaliam a destruição tecidual passada. Portanto, seria altamente desejável desenvolver métodos diagnósticos confiáveis, inovadores, simples e não invasivos para a detecção precoce do estado ativo da doença e para monitorar a resposta à terapia periodontal (GIANNOBILE et al., 2009).

Como a detecção precoce da doença desempenha um papel crucial na terapia bem-sucedida, os pesquisadores se dedicam à busca de biomarcadores diagnósticos com alta sensibilidade e especificidade, em que o risco periodontal possa ser identificado antes que um dano clínico extenso tenha ocorrido. É essencial que o teste de diagnóstico tenha alta especificidade e sensibilidade. A sensibilidade de um teste define sua

capacidade de identificar adequadamente os pacientes com a doença. (RATHNAYAKE et al., 2017).

Os biomarcadores foram definidos por um grupo de pesquisadores (2001) como “alterações celulares, bioquímicas, moleculares ou genéticas pelas quais um processo normal, anormal ou simplesmente biológico pode ser reconhecido ou monitorado”. Os biomarcadores indicam saúde, doença e/ou resposta à terapia e também devem ser comprovadamente válidos em estudos clínicos. Um dos principais desafios no campo da periodontia é descobrir um biomarcador ideal de diagnóstico/prognóstico periodontal que deve ser capaz de identificar a atividade da doença atual, diferenciar locais ativos de inativos, prever mais progressão da doença e, por último, monitorar a resposta a terapia periodontal (SLOTS, 2013). Dessa forma, revisões nas últimas duas décadas analisaram biomarcadores no FCG (ARMITAGE, 2004; BARROS et al., 2016; WASSALL e PRESRAW, 2016).

2.1.FCG como fonte de biomarcadores para periodontite

2.1.1.Composição FCG

O FCG é um fluido fisiológico e um exsudato inflamatório que origina-se dos vasos sanguíneos no tecido conjuntivo gengival, subjacentes ao revestimento epitelial do espaço dentogengival, permeado pelo tecido mole doente da bolsa periodontal (GRIFFITHS, 2003). A composição do FCG é uma combinação complexa de moléculas provenientes do sangue, tecidos do hospedeiro e biofilme subgengival, que inclui leucócitos, proteínas, enzimas, produtos de quebra de tecido, mediadores inflamatórios e citocinas produzidos localmente em resposta ao biofilme bacteriano (ARMITAGE, 2004). Consequentemente, o FCG é considerado a fonte mais promissora de indicadores de doenças bioquímicas, pois oferece um grande potencial que reflete a resposta contínua gerada pelas células e tecidos no periodonto (BARROS et al., 2016). A tabela 1 mostra os principais componentes celulares e moleculares do FCG (Adaptada de BARROS et al., 2016).

Tabela 1. Principais componentes celulares e moleculares do FCG (Adaptado de BARROS et al., 2016).

Bactéria	Biofilme gengival	Inicia a resposta imune do hospedeiro.
Células epiteliais	Epitélios sulcular e juncional	Representa a elevada renovação do epitélio.
Leucócitos	Plexo de vasos sanguíneo gengival	Neutrófilos estão envolvidos na imunidade inata. Monócitos, macrófagos e linfócitos estão envolvidos na imunidade mediada por células.
Eritrócitos	Vasos sanguíneos gengivais	Resulta de danos a pequenos vasos sanguíneos e capilares.
Fosfatase alcalina	Fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos e neutrófilos	Desempenha um papel na geração de superóxido e na primeira linha de defesa.
Catepsina B	Macrófagos	Enzima ativa na proteólise.
Colagenase-2 (MMP-8)	Neutrófilos	Enzima ativa associada à degradação de colágeno.
Gelatinase (MMP-9)	Neutrófilos	Hidrólise da matriz intercelular.
Elastase de neutrófilos	Neutrófilos	Clivagem de elastina, colágeno e proteoglicanas.
Elastase de macrófagos (MMP-12)	Macrófagos	Clivagem de elastina, colágeno e proteoglicanas.
Telopectídeo Carboxiterminal de Colágeno tipo I	Fragmento de colágeno tipo I do osso	Altamente correlacionado com a remodelação óssea.
Interleucina 1 beta	Macrófagos	Regula reações imunes e inflamatórias. Estimula a reabsorção óssea.
Interleucina 4	Basófilos	Anti-inflamatório. Inibição do macrófago Diferenciação da célula T helper 2.
Interleucina 6	Células-T, macrófagos e osteoblastos	Regulador do crescimento de células T e B. Estimula a formação de osteoclastos.
Interleucina 8	Macrófagos e células epiteliais	Recrutamento e ativação de neutrófilos
Interferon gama	Leucócitos e linfócitos	Ativação dos macrófagos. Supressão das células T helper 2.
IgA	Células do plasma	Neutralização do antígeno
IgG	Células do plasma	Neutralização do antígeno
IgM	Células do plasma	Neutralização do antígeno

Lactoferrina	Neutrófilos e células acinares	Antibacteriana. Cria um ambiente ferro-limitado.
Lisozima	Neutrófilos e macrófagos	Hidrólise de peptidoglicanos da parede celular bacteriana.
Osteoprotegerina	Osteoblastos	Receptor competitivo que inativa RANKL, impedindo a sua ligação ao RANK (diminuindo a ação dos osteoclastos). (BUDANELI e KINANE, 2011) Inibe a formação de osteoclastos
Osteocalcina	Osteoblastos, odontoblastos e condrócitos (BUDANELI e KINANE, 2011)	Mineralização. Homeostase de íons de cálcio no organismo.
Prostaglandina E2	Todas as células	Efeitos pró-inflamatórios e imuno-regulatórios.
TGF alfa	Macrófagos e ceratinócitos	Regulação do reparo tecidual, proliferação celular, quimiotaxia, diferenciação e síntese de matriz.

2.1.2.Métodos de coleta de FCG

Os métodos de coleta de FCG podem ser divididos em abordagens intracrevicular e extracrevicular. A técnica escolhida dependerá do objetivo do estudo, uma vez que cada técnica tem suas próprias vantagens e desvantagens.

2.1.2.1.Métodos de lavagem gengival

Nesta técnica, o sulco gengival é perfundido com um volume fixo de uma solução isotônica, como a solução salina balanceada de Hanks. O fluido coletado representa uma diluição do fluido crevicular contendo ambas as células e proteínas plasmáticas solúveis. A técnica de lavagem é particularmente valiosa para a coleta de células da região do sulco gengival. A principal desvantagem desta técnica é que nem todo o fluido pode ser recuperado durante o procedimento. Dessa forma, é impossível medir com precisão o volume e a composição do FCG, pois não se pode determinar o fator de diluição preciso (GRIFFITHS, 2003).

2.1.2.2. Tubos capilares ou micropipetas

Após o isolamento e secagem de um local, tubos capilares de diâmetro interno conhecido são inseridos na entrada do sulco gengival. O FCG migra para o tubo por ação capilar. Como o diâmetro interno é conhecido, o volume do fluido coletado pode ser determinado com precisão pela medição da distância que o FCG migrou. Esta técnica parece ser ideal, pois fornece uma amostra não diluída do FCG. No entanto, para poder coletar um volume razoável do fluido, isso pode exigir que o tempo de coleta de um local individual exceda 30 minutos. Outra complicação dessa técnica é a dificuldade de remover a amostra completa dos tubos, pois o conteúdo teria que ser removido através de um jato de ar ou, mais usualmente, por centrifugação do tubo (GRIFFITHS, 2003).

2.1.2.3. Tiras de papel de filtro absorvente

Uma tira de papel absorvente (Periopaper®) é colocada na entrada do sulco gengival e o fluido migra para a mesma por ação capilar. Existem variações consideráveis na aplicação do método de coleta da tira de papel. As principais variações dizem respeito não apenas ao método e ao momento da coleta da amostra, mas também aos meios de estimar o volume de amostra coletada. As vantagens da técnica são que ela é rápida e fácil de usar, pode ser aplicada em sítios individuais e, possivelmente, é menos traumática quando usada corretamente (GRIFFITHS, 2003).

2.1.3. Medição de volume e biomarcadores do FCG

O Periotron® é um instrumento utilizado por centros de pesquisa em todo o mundo. Para um cálculo acurado do volume do FCG, as fitas Periopaper® devem ser transferidas imediatamente após a coleta da amostra do FCG para o equipamento a fim de reduzir a evaporação da amostra. A maioria dos pesquisadores considerou que o Periotron® é mais preciso dentro da faixa de aproximadamente 0,1 a 1,2µl (GRIFFITHS, 2003).

Os volumes de FCG geralmente aumentam com o aumento da inflamação no periodonto, de modo que o volume de FCG por si só funciona como indicador geral de inflamação. O volume do FCG também é útil para calcular os níveis de concentração de

biomarcadores na amostra. Dessa forma, hoje em dia, os autores tendem a coletar o FCG por um período fixo (geralmente 30s) e expressam o conteúdo total de biomarcadores em uma amostra de 30s (por exemplo, picograma por 30s) ou a concentração calculada a partir do ensaio (por exemplo, picograma/ml por 30s de amostra). No entanto, é importante notar que volumes muito baixos de FCG podem ter um efeito dramático nas concentrações de biomarcadores no FCG. Isso teria um grande impacto, especialmente em estudos que estão avaliando os níveis de citocinas presentes no FCG antes e depois da terapia periodontal. Em tais casos, o volume do FCG no Periopaper® poderia ser muito baixo ou, até mesmo, indetectável pelo dispositivo Periotron®. Além disso, estudos de calibração são necessários para otimizar a coleta e processamento de amostras de FCG para garantir uma análise ótima e precisa. Os métodos utilizados devem ser totalmente relatados em detalhes, para que a metodologia possa ser reproduzida por outros pesquisadores.

2.1.4. Marcadores biológicos periodontais no fluido gengival

O principal interesse no FCG como fonte de marcadores biológicos é a natureza específica do local da amostra, contendo uma vasta gama de moléculas derivadas do hospedeiro que representam indicadores de risco relevantes da atividade da doença. Inicialmente, esse fluido apenas confirmava os estados de saúde e doença, e mais recentemente, está sendo utilizado como uma potencial ferramenta prognóstica (BARROS et al., 2016). Isso facilita o rastreamento de pacientes com periodontite em estudos epidemiológicos e permite a estimativa da atividade da periodontite.

Até agora existem mais de 90 componentes diferentes no FCG que foram investigados como marcadores diagnósticos e prognósticos da progressão da doença periodontal. Conforme revisado por CHAPPLE (2009), os biomarcadores derivados do hospedeiro no FCG incluem fosfatase alcalina, beta-gluconidase e catepsina B, os quais demonstraram 77% de acurácia diagnóstica na predição da atividade futura da doença periodontal. Além disso, MMPs-8 e -9, elastase neutrofílica e dipeptidil peptidases foram correlacionadas com a identificação e a atividade da doença periodontal (CHAPPLE, 2009). No entanto, evidências estabelecidas na literatura atual destacam que biomarcadores específicos e sensíveis ainda são necessários para um

diagnóstico consistente, prognóstico e monitoramento clínico da destruição do tecido periodontal (BUDUNELI e KINANE, 2011).

2.1.4.1. Mediadores inflamatórios: citocinas e quimiocinas

Numerosos estudos sugeriram que a interleucina-1beta (IL-1 β), IL-2, IL-6, IL-8, IL-17 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no FCG são biomarcadores inflamatórios confiáveis em pacientes com diferentes doenças periodontais e diminuíram acentuadamente após raspagem e alisamento radicular

Um dos biomarcadores mais estudados no FCG é a IL-1 β , que é uma potente citocina de reabsorção óssea. Estudos anteriores demonstraram que a IL-1 β estava elevado em sítios ativos da doença periodontal e diminuiu após a terapia periodontal. Portanto, esse biomarcador pode ser usado como uma ferramenta de laboratório para avaliar a atividade da doença periodontal (CIFCIBASI et al., 2015).

As proteínas quimiotáticas de monócitos (MCP, do inglês *monocyte chemotatic protein*) são quimiocinas importantes que promovem o recrutamento de células inflamatórias e estão envolvidas na destruição periodontal. Investigações anteriores mostraram que a MCP-1 e a MCP-4 aumentaram progressivamente com a progressão da doença periodontal e diminuíram após o tratamento. Portanto, tais proteínas podem ser propostas como biomarcadores potenciais da gravidade da doença. Em recente metanálise, Stadler et al. (2016) compararam os níveis de citocinas/quimiocinas no FCG entre indivíduos saudáveis e pacientes com periodontite crônica, antes e após a terapia periodontal não cirúrgica. Evidências de diferenças significativas entre saúde periodontal e doença foram observadas para mediadores pró-inflamatórios incluindo IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-17, Interferon gama e MCP-1. No entanto, os autores concluíram que estudos longitudinais ainda são necessários para uma melhor compreensão do valor preditivo desses biomarcadores em relação ao aumento do risco de progressão da doença.

2.1.4.2. Enzimas Derivadas do Hospedeiro

As metaloproteinases da matriz (MMPs) e o inibidor tecidual das metaloproteinases da matriz (TIMPs) são uma família de proteinases envolvidas na

degradação do colágeno durante a destruição do tecido periodontal. A análise da MMP-8 no FCG provou ser um biomarcador que ajuda na detecção precoce de periodontite, sendo uma ferramenta útil no monitoramento da progressão da doença. Outras MMPs também foram investigadas, incluindo MMP-3, MMP-13 e TIMP-1. Os níveis desses biomarcadores no FCG aumentaram significativamente em locais periodontalmente ativos e, portanto, foram considerados como tendo um papel no diagnóstico da gravidade da doença (PAWAR e MEHTA, 2015).

Em um estudo de coorte de 12 meses, Kinney et al. (2014) avaliaram biomarcadores do FCG incluindo MMP-8, MMP-9, osteoprotegerina e IL-1 β . Os autores relataram níveis significativamente elevados com alta sensibilidade em pacientes que apresentavam progressão da doença periodontal. **2.1.4.3. Marcadores de estresse oxidativo**

Um grande conjunto de evidências mostra que o estresse oxidativo definido por um excesso de espécies reativas de oxigênio e o esgotamento dos níveis de antioxidantes no FCG estão no centro da destruição do tecido periodontal. Estudos avaliaram marcadores de estresse oxidativo no FCG de pacientes com periodontite crônica e observaram que a terapia periodontal não-cirúrgica melhorou significativamente o equilíbrio redox nesses pacientes (GHALLAB, et al., 2016). Em uma recente revisão sistemática Da Silva et. al. (2018) concluíram que a terapia periodontal reduziu os níveis dos biomarcadores de estresse oxidativo e esses valores foram similares àqueles encontrados em indivíduos periodontalmente saudáveis.

Ultimamente, a melatonina tem recebido considerável atenção devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e imunológicas. Recentemente, achados consistentes relataram que a melatonina pode ser considerada um biomarcador útil para monitorar a gravidade da doença periodontal e que biomarcadores de estresse oxidativo no FCG também poderiam ser usados para diferenciar pacientes com periodontite crônica e agressiva (GHALLAB et al., 2016).

2.1.5. Métodos de análise de biomarcadores no FCG

Vários métodos têm sido utilizados para detecção e quantificação de marcadores biológicos em amostras de FCG, incluindo o bioensaio, o radioensaio e o ensaio

de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) No campo do diagnóstico periodontal, as tecnologias baseadas em ELISA são quase universalmente usadas em pesquisas para análise de biomarcadores baseados em fluidos. ELISA são imunoenaios usados para detectar a presença de um anticorpo monoclonal adsorvido em placas de microtitulação que se ligam ao antígeno teste. A intensidade da cor é determinada por varredura de densidade óptica da placa e a quantidade do antígeno teste é determinada por comparação com uma curva padrão conforme especificação do fabricante.

ELISA é a ferramenta diagnóstica bioquímica mais sensível, bem estabelecida e amplamente usada na pesquisa periodontal. As técnicas baseadas em ELISA parecem ser mais econômicas porque são mais simples. As principais vantagens dos testes ELISA incluem alta produtividade e alta reprodutibilidade, além de permitir a detecção de antígenos usando amostras extremamente pequenas.

Dada a natureza complexa da doença periodontal, a identificação de um único marcador diagnóstico sensível e específico para detecção e predição de doenças parece ilusória. Portanto, a análise da combinação de marcadores pode fornecer uma avaliação mais precisa do paciente periodontal e pode ser útil na identificação de biomarcadores que predizem a progressão (GHALLAB, 2018).

Mesmo após o desenvolvimento de métodos altamente sofisticados e quase 30 anos de pesquisa, nenhum marcador adequado resultou em grandes mudanças conceituais no campo do diagnóstico periodontal (ARMITAGE, 2013). A maioria dos estudos que investigam a relação entre biomarcadores no FCG e estudos de doenças periodontais foram transversais. Dessa forma, os estudos apenas relataram associações de biomarcadores com a presença de doença periodontal, o que meramente reflete o histórico de atividade da doença em vez dos processos atuais. Além da presença de poucos estudos longitudinais medindo o valor do biomarcador na progressão da doença, outro dilema que os periodontistas estão enfrentando é como detectar a progressão da doença periodontal clinicamente. Até o momento, a partir das evidências disponíveis, não há uma maneira clínica confiável de medir a progressão da doença.

Além disso, estudos na literatura apresentam muitas limitações metodológicas com um pequeno tamanho da amostra, o que dificulta a obtenção de conclusões adequadas. Conseqüentemente, isso diminui o poder estatístico do estudo e a probabilidade de estabelecer qualquer relação causal entre os biomarcadores analisados e a doença periodontal questionando sua validade externa e interna (RATHNAYAKE et al., 2017).

Direções futuras envolvem a análise proteômica a qual é uma abordagem que estuda diretamente os principais componentes funcionais dos sistemas bioquímicos, ou seja, as proteínas. Wilkins et al. (1996) introduziu a palavra “proteoma”, que era uma fusão de duas palavras que são “proteína” e “genoma”. O proteoma é o complemento proteico do genoma e a proteômica é a análise da porção do genoma que é expressa. O valor dos biomarcadores tem sido reconhecido e amplamente explorado usando métodos proteômicos.

Avanços na tecnologia proteômica baseada na análise do proteoma do FCG podem ter um valor prognóstico e diagnóstico conclusivo, levando à identificação de novos biomarcadores de saúde e de progressão da doença periodontal. Considerando que a composição protéica do FCG pode refletir a fisiopatologia da progressão da doença periodontal, os perfis de proteínas do FCG obtidos de indivíduos aparentemente saudáveis podem ser explorados como padrões e podem servir como referência para a identificação de biomarcadores de doenças periodontais através de análises proteômicas.

Com relação à expressão gênica, a periodontite crônica é considerada uma doença genética complexa. Embora existam desafios para desenvolver testes diagnósticos clinicamente relevantes para doenças periodontais, foi constatado que os polimorfismos genéticos que contribuem para a suscetibilidade à doença não são individualmente deterministas da mesma. Dessa forma, diversos polimorfismos genéticos têm sido estudados para avaliar a associação com periodontite crônica, incluindo genes de ILs, receptor de vitamina D e gene TNF- β (KINANE e HART, 2003). No entanto, nenhum desses estudos forneceu fortes marcadores diagnósticos ou prognósticos para identificar pacientes dentro da população geral que estão em risco de desenvolver doença periodontal. Em um estudo mais abrangente, Demmer et al. (2008)

analisaram todo o genoma para mostrar a expressão gênica diferencial de sítios periodontais saudáveis e doentes e observaram milhares de genes desregulados na doença em comparação com a saúde. Ainda assim, a aplicabilidade desses dados em testes de diagnóstico é limitada. Cabe ressaltar que o entendimento da relação entre genética e progressão da doença periodontal forneceu, de fato, informações valiosas para a identificação de biomarcadores de doenças que poderiam ter um valor diagnóstico potencial.

O uso da análise proteômica e da expressão gênica permitirão avanços significativos tanto no diagnóstico quanto no tratamento das doenças periodontais. O desenvolvimento da engenharia de tecidos, da administração de medicamentos, da terapia genética e dos biofármacos apresentarão novas oportunidades terapêuticas.

9. Conclusão

De acordo com a análise dos trabalhos científicos pode-se inferir que os biomarcadores devem ser validados em estudos futuros, considerando diferentes condições periodontais, bem como mudanças relacionadas à terapia periodontal.

Existem evidências científicas sugerindo a utilização de mais de um biomarcador na determinação da atividade inflamatória da doença periodontal. Dessa forma, há um grande potencial na investigação da associação entre biomarcadores os quais são conhecidos por influenciar a previsão e a progressão de doenças periodontais. Conseqüentemente, uma associação promissora seria a da IL-1 com a MMP-8, por serem consideradas as principais citocinas para determinar a atividade inflamatória no periodonto.

No presente momento não é possível depender unicamente de biomarcadores para o diagnóstico da doença periodontal. Portanto, os biomarcadores podem ser usados como um método adjuvante para os parâmetros clínicos que ainda são considerados os métodos mais confiáveis para o diagnóstico e monitoramento da progressão da doença periodontal.

Além disso, o uso dos mediadores inflamatórios como marcadores de risco para futura destruição periodontal apresenta como principais fatores dificultadores a

sensibilidade da técnica de coleta e o custo para a análise do material coletado que deverá ser enviado para laboratórios especializados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000* 1997;14:33-53.
2. Griffiths GS. Formation, collection and significance of gingival crevice fluid. *Periodontol 2000* 2003;31:32-42.
3. Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2003;31:167-80.
4. Offenbacher S, Heasman PA, Collins JG. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol* 1993; 64(5 Suppl):432-44.
5. Sahingur SE, Cohen RE. Analysis of host responses and risk for disease progression. *Periodontol 2000*. 2004; 34: 57-83.
6. Slots J. Periodontology: past, present, perspectives. *Periodontol 2000*. 2013; 62 (1): 7-19.
7. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000* 2009; 50: 52-64.
8. Rathnayake N, Gieselmann DR, Heikkinen AM, Tervahartiala T, Sorsa T. Salivary Diagnostics-Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. *Diagnostics (Basel)*. 2017 Jan 20;7(1).
9. Armitage GC. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. *Periodontol 2000* 2004; 34:109-19.
10. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000* 2016; 70(1):53-64.
11. Chapple IL. Periodontal diagnosis and treatment--where does the future lie? *Periodontol 2000* 2009; 51: 9-24.

12. Cifcibasi E, Koyuncuoglu C, Ciblak M, Badur S, Kasali K, Firatli E, Cintan S. Evaluation of Local and Systemic Levels of Interleukin-17, Interleukin-23, and Myeloperoxidase in Response to Periodontal Therapy in Patients with Generalized Aggressive Periodontitis. *Inflammation* 2015; 38(5): 1959-68.
13. Stadler AF, Angst PD, Arce RM, Gomes SC, Oppermann RV, Susin C. Gingival crevicular fluid levels of cytokines/chemokines in chronic periodontitis: a meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2016; 43(9): 727-45.
14. Pawar DD, Mehta DS. Effect of phase 1 periodontal therapy on gingival crevicular fluid levels of matrix metalloproteinases-3 and -13 in chronic periodontitis patients. *J Investig Clin Dent* 2015; 6(2): 118-24.
15. Kinney JS, Morelli T, Oh M, Braun TM, Ramseier CA, Sugai JV, Giannobile WV. Crevicular fluid biomarkers and periodontal disease progression. *J Clin Periodontol* 2014; 41(2): 113-120.
16. Ghallab NA, Hamdy E, Shaker OG. Malondialdehyde, superoxide dismutase and melatonin levels in gingival crevicular fluid of aggressive and chronic periodontitis patients. *Aust Dent J* 2016; 61(1): 53-61.
17. da Silva JC, Muniz FWMG, Oballe HJR, Andrades M, Rösing CK, Cavagni J. The effect of periodontal therapy on oxidative stress biomarkers: A systematic review. *J Clin Periodontol* 2018; 45(10): 1222-1237.
18. Ghallab NA. Diagnostic potential and future directions of biomarkers in gingival crevicular fluid and saliva of periodontal diseases: Review of the current evidence. *Arch Oral Biol* 2018; 87: 115-124.
19. Armitage GC. Learned and unlearned concepts in periodontal diagnostics: a 50-year perspective. *Periodontol 2000* 2013; 62(1): 20-36.
20. Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, Ou K, Golaz O, Sanchez JC, Yan JX, Gooley AA, Hughes G, Humphery-Smith I, Williams KL, Hochstrasser DF. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology (N Y)* 1996; 14(1): 61-5.