



# IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES SALIVARES DE DOENÇA PERIODONTAL EM PACIENTES COM GENGVITE

SERRA, B.<sup>1</sup>; ESTEVES, E.<sup>1</sup>; FERNANDES, M.<sup>1</sup>; ROSA, N.<sup>1</sup>; BARROS, M.<sup>1</sup>; CORREIA, M. J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA DO CENTRO REGIONAL DAS BEIRAS

## OBJECTIVOS

Este estudo experimental tem como principal objectivo a quantificação *in vivo* de biomarcadores salivares em pacientes com Gengivite. Esta investigação pretende também contribuir para a validação do uso da saliva como um meio de diagnóstico da Doença Periodontal fiável, prático e económico. A Gengivite é uma condição inflamatória reversível gerada pelo hospedeiro em resposta à disbiose bacteriana que ocorre no biofilme dentário<sup>1</sup>. Através das Tecnologias Ómicas e da Biomedicina Computacional é possível quantificar biomarcadores que medeiam este tipo de resposta. Entre eles encontram-se a quimiocina CCL3, associada à resolução do processo inflamatório<sup>2,3</sup>, e a CCL13, associada ao processo inflamatório crónico<sup>4,5</sup>. Com a sua quantificação pretende-se avaliar se a presença destas quimiocinas na saliva pode ser relacionada com a existência de inflamação periodontal, a sua extensão, o potencial de progressão da doença e se permitem o diagnóstico salivar diferencial da Doença Periodontal.

## MÉTODOS

Depois de aceitarem participar no estudo através assinatura de um consentimento informado, 48 indivíduos foram submetidos ao preenchimento de um “Questionário do Dador” sobre história médica, hábitos alimentares, estilo e qualidade de vida. Aplicando os critérios de inclusão, foram excluídos 5 indivíduos: 3 usavam aparelho ortodôntico, 2 tinham tomado antibiótico há menos de 3 meses. No total, ficaram elegíveis para o estudo 43 indivíduos. Depois de preenchido o questionário, procedeu-se à colheita de amostras de saliva, de acordo com o protocolo estabelecido pelo SalivaTec. As amostras foram de imediato armazenadas a -80°C, e a equipa do SalivaTec efectuou posteriormente a sua análise e processamento laboratoriais. Os participantes foram depois submetidos a exame clínico e diagnóstico Periodontal, e consoante os parâmetros clínicos de PD (*periodontal depth*), BOP (*bleeding on probing*), IP (índice de placa) e CAL (*clinical attachment loss*), foram estabelecidos dois grupos de estudo: S (Saudáveis), se PD<3mm, BOP<10% e CAL=0mm; e G (Gengivite), PD ≤3mm, BOP≥10%, CAL=0mm. As amostras de saliva foram submetidas a um controlo de qualidade, através do estabelecimento de um perfil de proteínas de cada amostra obtido por electroforese capilar, com recurso ao Equipamento *Experion™ Automated Electrophoresis Station* (BioRad). Este processo permitiu seleccionar as melhores amostras para proceder à quantificação das quimiocinas CCL3 e CCL13 que foi realizada por tecnologia Multiplex, segundo instruções do Fabricante (Kits utilizados: Bio-Plex Pro™ Human Chemokine MIP-1α/CCL3 Set #171-BK44MR2, Bio-Plex Pro™ Human Chemokine MCP-4/CCL13, Set #171-BK39MR2).

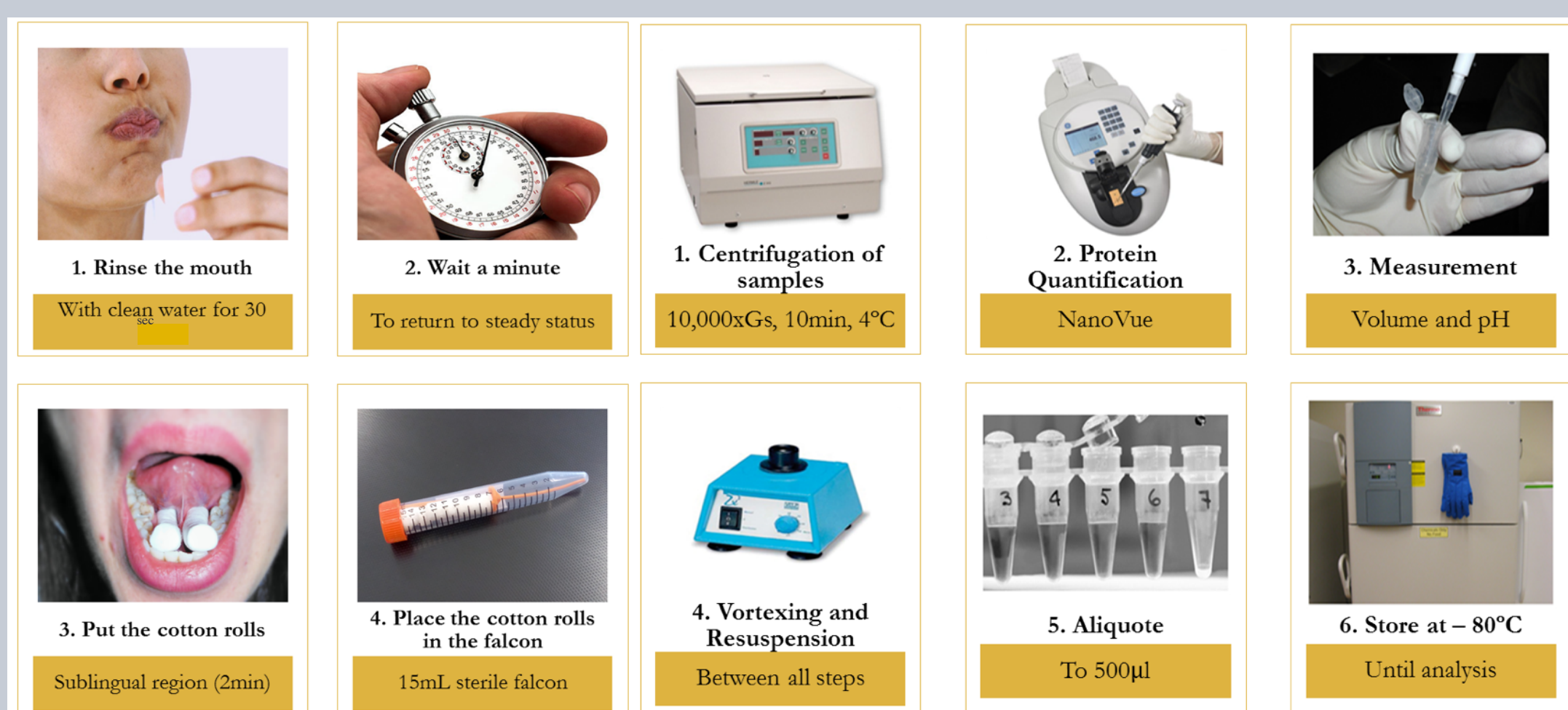


Figura 1. Protocolo de recolha, armazenamento e processamento das amostras de Saliva do SalivaTec.

## CONCLUSÕES

Com esta investigação foi possível detectar estas moléculas, pela primeira vez, em saliva de pacientes periodontalmente Saudáveis e pacientes com Gengivite. A presença e quantificação da CCL3 e CCL13 em indivíduos do grupo G indica que existe um processo inflamatório a decorrer, contudo não dá informação sobre a sua gravidade (se é fisiológico ou patológico), nem sobre o potencial de progressão de um estágio agudo fisiológico (Gengivite) para um estágio patológico/destrutivo (Periodontite). Devido às baixas concentrações obtidas, os resultados preliminares deste estudo não permitem, para já, propor a utilização das CCL3 e CCL13 como biomarcadores para avaliar o potencial de progressão da Doença Periodontal em pacientes com Gengivite. Para isso seriam necessárias, no mínimo, duas amostragens de saliva, colhidas em períodos de tempo diferentes, para fazer comparações e atribuir significados mais precisos aos valores encontrados. É importante notar que a caracterização dos indivíduos deste estudo, através dos dados clínicos obtidos no Questionário do Dador, é de grande importância para compreender o significado das concentrações das quimiocinas presentes na saliva, permitindo “olhar” para os pacientes como um todo e não se cingir apenas à cavidade oral. No futuro, o diagnóstico salivar constituirá uma ferramenta essencial na prática clínica dos Médicos Dentistas (e não só), pois permitirá estabelecer uma relação precisa entre os resultados moleculares orais e o estado de saúde oral e sistémica dos indivíduos.

## RESULTADOS

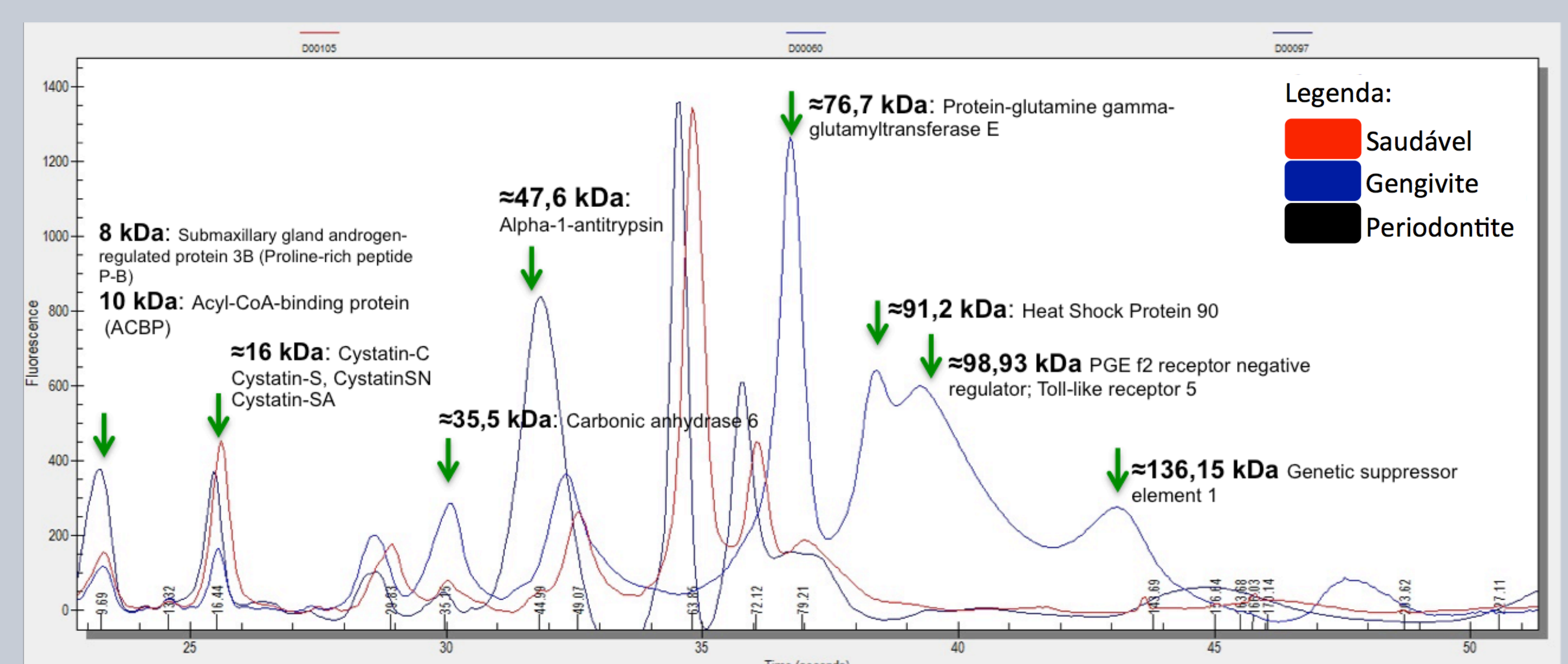


Figura 2. Perfil de proteínas (Electroferograma), que representa o indivíduo de cada grupo de estudo com maior expressão de proteínas na amostra de saliva. As proteínas (setas verdes) são expressas em função do tempo de migração. O indivíduo representado pelo grupo Periodontite provém de outro estudo<sup>6</sup> e foi acrescentado a este gráfico apenas para comparação.

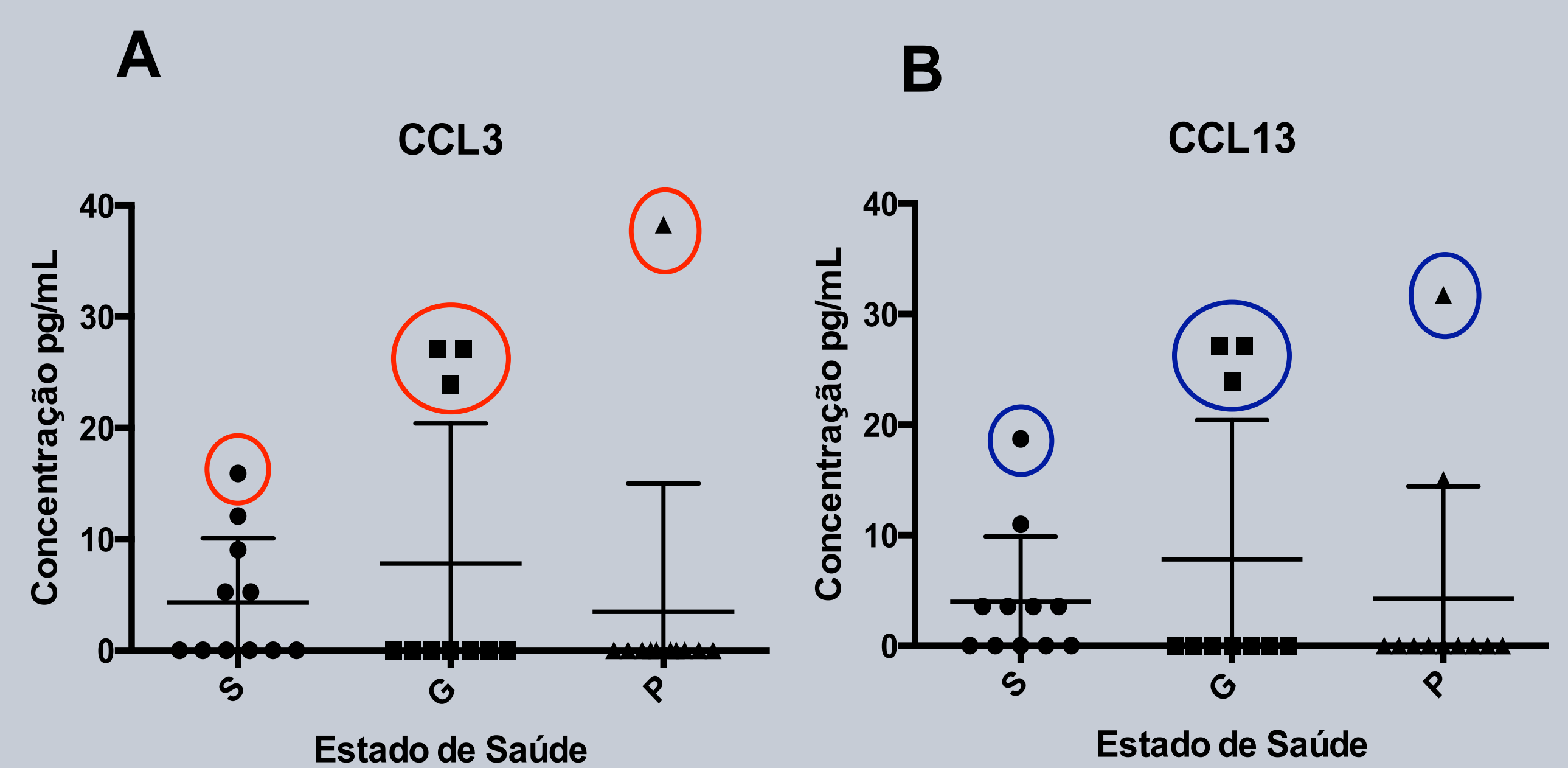


Figura 3 (A e B). Quantificação da CCL3 e CCL13 em amostras de saliva nos grupos S e G. Os resultados do grupo P (Periodontite), de Hortênsio (2015)<sup>6</sup>, foram adicionados posteriormente apenas para comparação dos valores obtidos. Aplicando o teste não paramétrico de comparações múltiplas de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ), constatou-se que as diferenças nas concentrações das quimiocinas não são estatisticamente significativas, contudo, existem indivíduos que se destacam dentro de cada grupo de estudo (círculos vermelhos e azuis), com concentrações mais elevadas destas moléculas. Estes resultados fazem crer que, numa condição inflamatória como a Gengivite, este tipo de moléculas estão presentes na saliva. Ao analisar os dados clínicos recolhidos no Questionário do Dador, verificou-se que um dos indivíduos do grupo G, pertencente aos círculos azul e vermelho, tinha tomado Aeries® 5mg (desloratadina) nos últimos 30 dias. Este medicamento é indicado para o tratamento de rinite alérgica e urticária, e a concentração elevada das quimiocinas neste indivíduo pode ser explicada não só pela condição inflamatória oral diagnosticada (Gengivite) mas também pela condição inflamatória sistémica existente. Os restantes indivíduos pertencentes aos círculos não apresentavam doenças sistémicas nem toma de medicamentos nos últimos 30 dias.

Coeficiente de Correlação de Pearson		
	IP	BOP
CCL3	$r=0,215$ ( $p=0,3483$ )	$r=0,374$ ( $p=0,0947$ )
CCL13	$r=0,054$ ( $p=0,8156$ )	$r=0,400$ ( $p=0,0719$ )

Tabela 1. Coeficiente de Correlação de Pearson entre os parâmetros clínicos IP e BOP e as concentrações de CCL3 e CCL13. O valor de “r” representa o declive da recta, e o valor de “p” a significância estatística. Quanto mais próximo de 1 for o valor de “r”, mais forte é a correlação entre as variáveis. Neste caso, a correlação linear obtida é fraca.