

AValiação da Saúde Oral e sua Relação com o Perfil Total de Proteínas da Saliva (SalivaPrint) – Variação com a Idade e Género

Marta André¹, Eduardo Esteves², Bruna Correia¹, Mónica Fernandes², Nuno Rosa²

¹Universidade Católica Portuguesa, Institute of Health Sciences (ICS), Viseu, Portugal;

²Universidade Católica Portuguesa, Center for Interdisciplinary Research in Health (CIIS), Institute of Health Sciences (ICS), Viseu, Portugal;

SALIVA

COMO MEIO DE DIAGNÓSTICO

Nos últimos anos, o trabalho de investigação em torno da saliva tem vindo a aumentar, levando ao desenvolvimento de **novas tecnologias** através das quais foram identificados uma vasta gama de potenciais **biomarcadores salivares**. Essa informação tem sido reunida e armazenada numa base de dados: **SalivaTecDB** (<http://salivatec.viseu.ucp.pt/salivatec-db/>)¹.

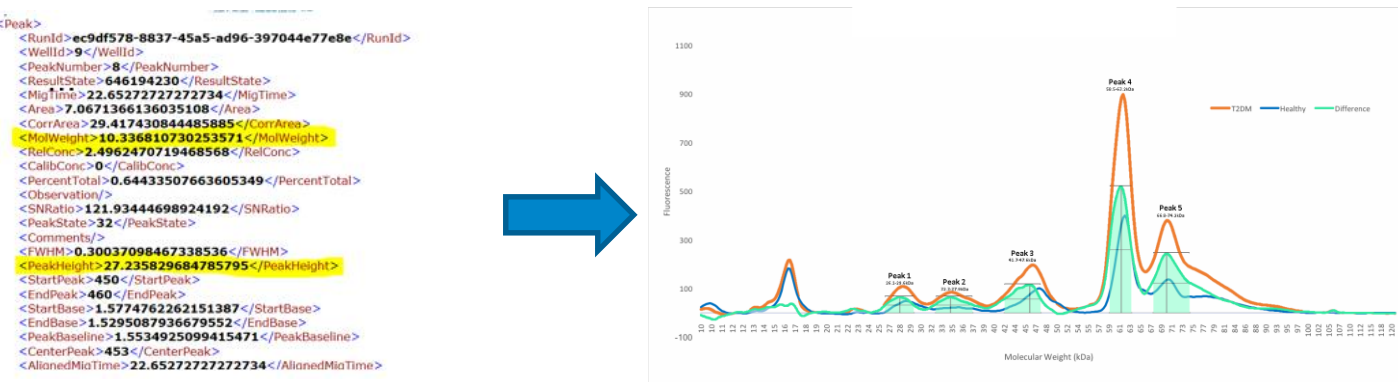


SALIVAPRINT

No SalivaTec está a ser desenvolvida uma estratégia que em vez de procurar identificar biomarcadores específicos, visa identificar um perfil total de proteínas na saliva que reflita um determinado estado fisiológico/patológico: **SalivaPrint**². Esta estratégia baseia-se na técnica de electroforese capilar em chips miniaturizados (Experion, BioradTM).

SALIVAPRINT TOOL KIT

Foi desenvolvido um script que permite transformar os dados brutos de electroforese capilar através de um único processo, em que a separação, coloração, deteção e quantificação de proteínas são executadas automaticamente, produzindo perfis: **SalivaPrint Tool Kit**³.



FATORES QUE INFLUENCIAM O SALIVAPRINT

O potencial do SalivaPrint para o diagnóstico só pode ser totalmente explorado definindo quais são os fatores que influenciam o perfil total de proteínas da saliva (Idade, Género, Saúde oral). As cáries dentárias e as doenças periodontais são as doenças orais com maior prevalência na saúde oral e por isso são um bom indicador deste fator.



CÁRIE DENTÁRIA

Destruição localizada dos tecidos duros orais, quando suscetíveis a subprodutos ácidos da fermentação bacteriana dos hidratos de carbono presentes na alimentação.

Doença inflamatória crónica que afeta mais de 50% dos adultos em todo o mundo. Traduzindo-se num processo patológico resultante da interação das bactérias com os mecanismos de defesa do hospedeiro.

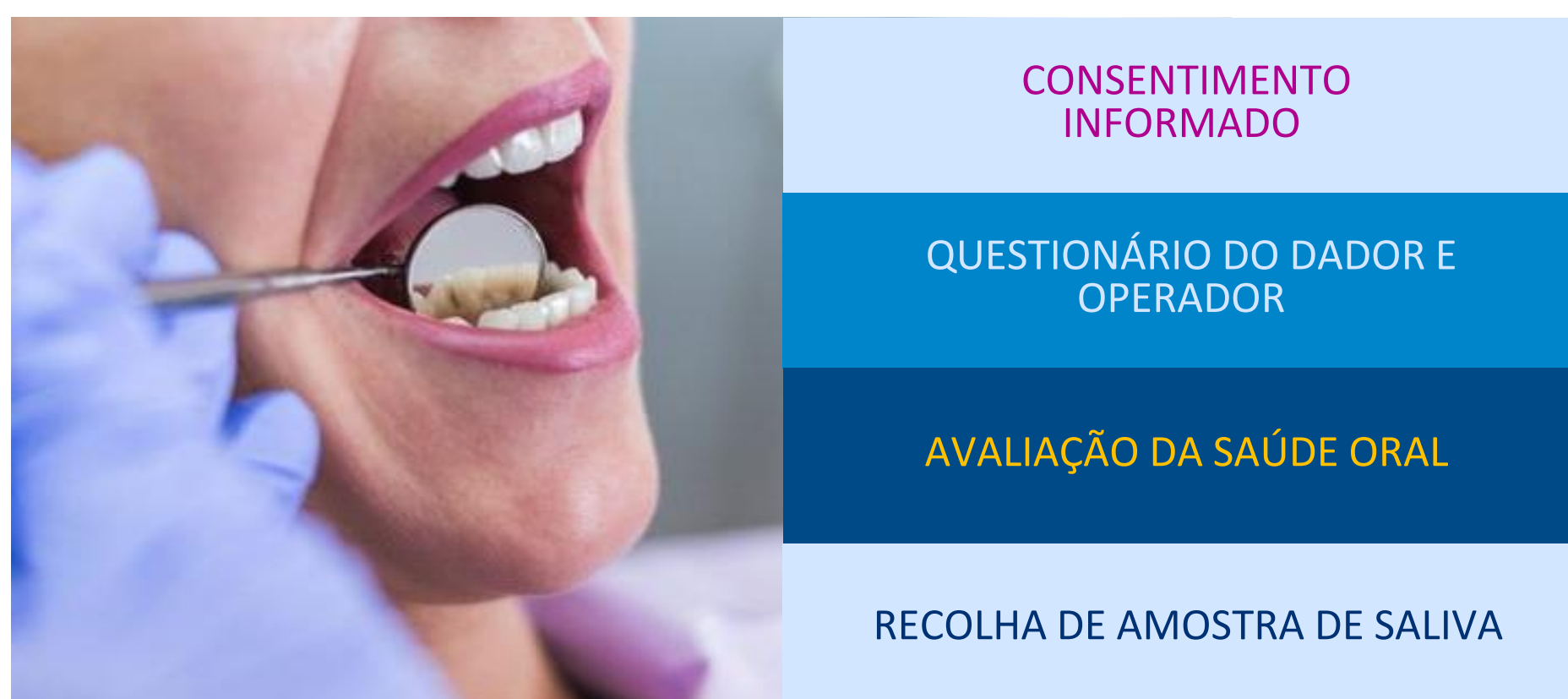
DOENÇAS PERIODONTAIS

OBJETIVOS

1. Verificar se há variação do SalivaPrint com a idade e com o género
2. Verificar se o perfil de proteínas da saliva por electroforese capilar (SalivaPrint) se relaciona com a saúde oral
3. Verificar se há relação dos parâmetro físico-químicos da saliva com os índices de saúde oral (CPOD e PSR)

MATERIAIS E MÉTODOS

- Foi recolhida saliva não estimulada de indivíduos do género feminino e masculino, saudáveis sistémicos e orais dos 7 aos 50, e um grupo dos 25-50 anos com patologia oral, seguindo o método estabelecido no SalivaTec⁴.
- Foi feita a determinação dos fatores físico-químicos, e dos perfis totais de proteínas por electroforese capilar em micro-chips de acordo com o método estabelecido no SalivaTec⁴.
- Foi determinada a área da meia altura dos principais picos identificados nos perfis electroforéticos. As diferenças nas áreas foram utilizadas para comparar os perfis utilizando os testes³.

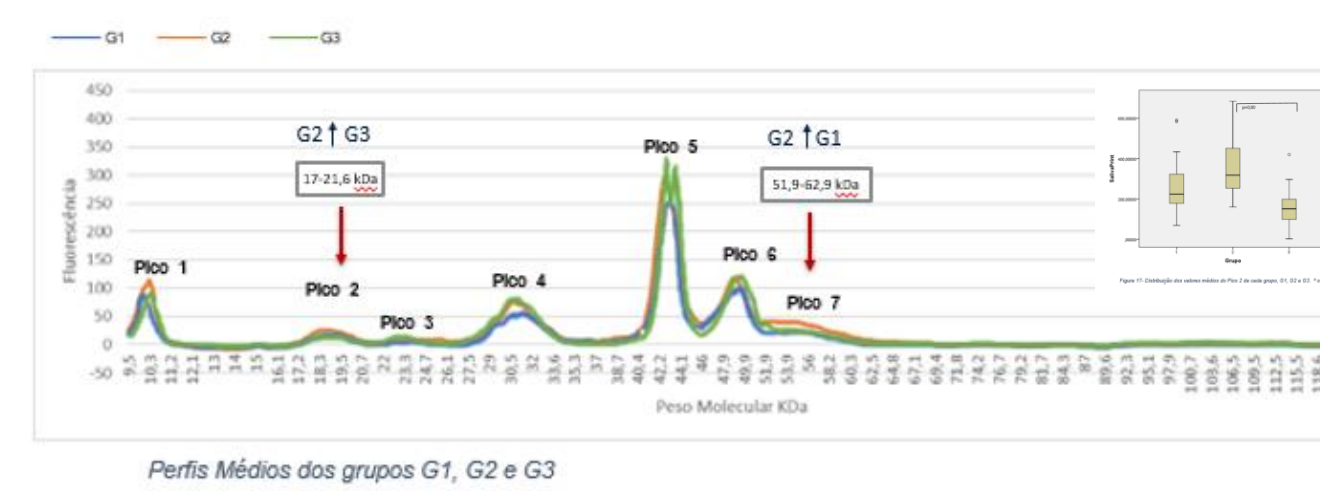


MÉTODO DE RECOLHA DA SALIVA

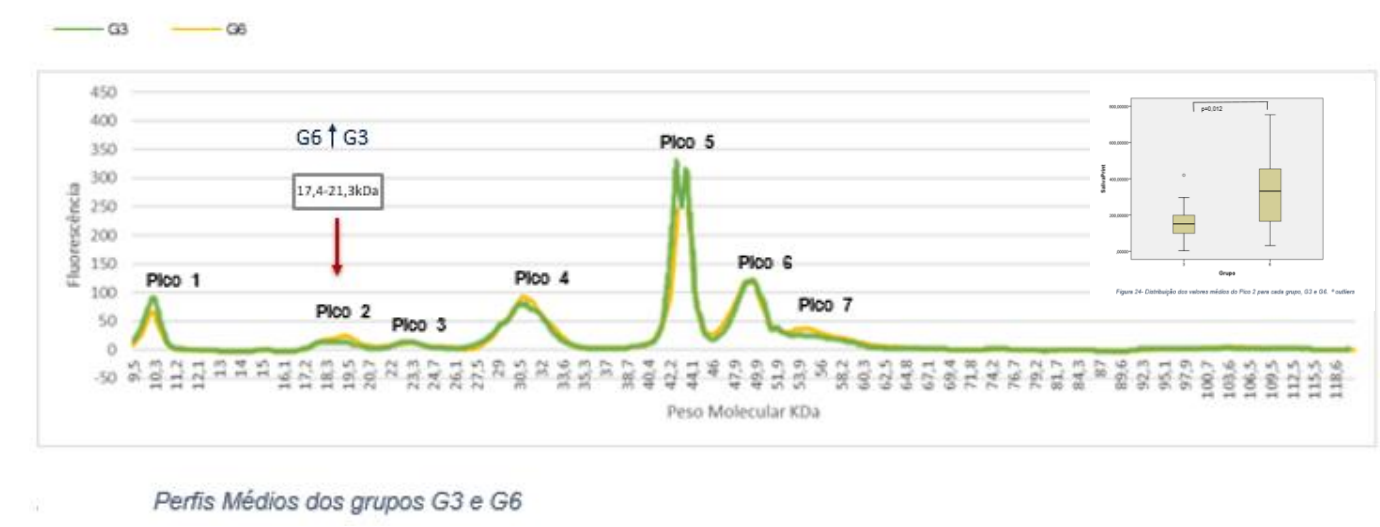
1. Rinse mouth with water for 30s
2. Wait for 1 min
3. Place 2 cotton rolls under the tongue for 2 min
4. Remove the cotton rolls with sterile gloves or forceps
5. Place the rolls on a 15ml sterile tube
6. Store at -80°C

RESULTADOS

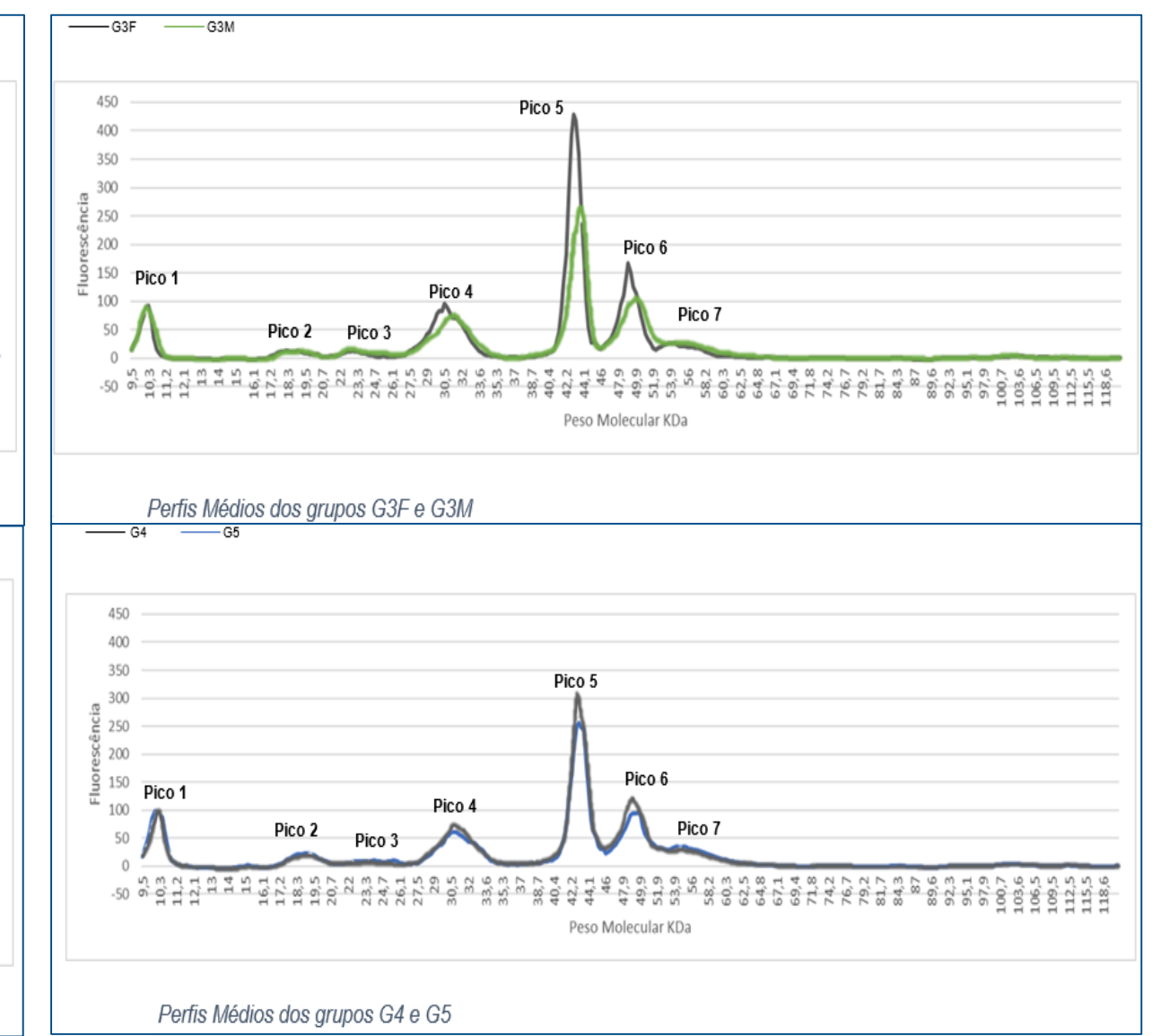
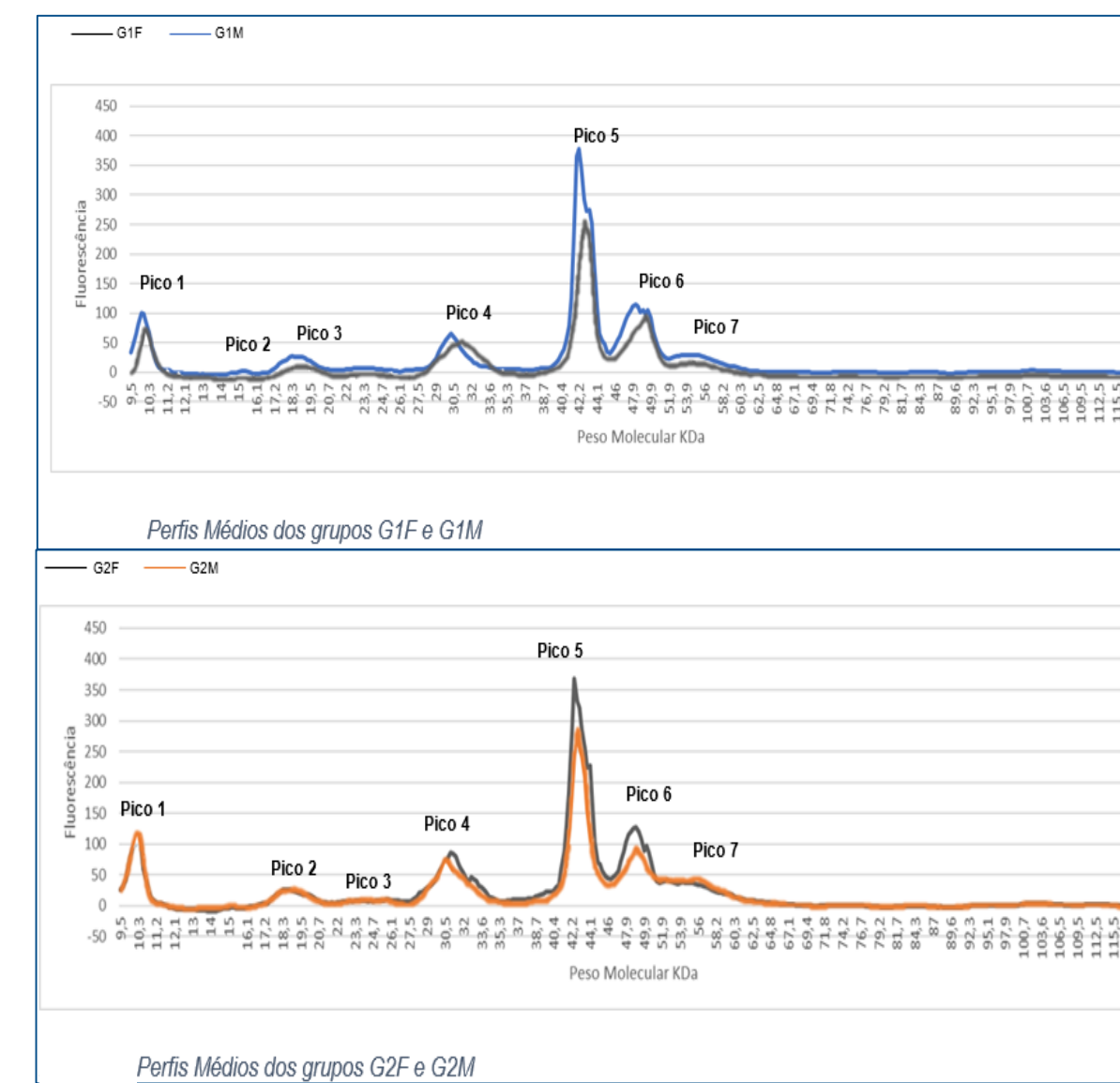
INFLUÊNCIA DA IDADE NO PERFIL SALIVAPRINT



INFLUÊNCIA DA SAÚDE ORAL NO PERFIL SALIVAPRINT

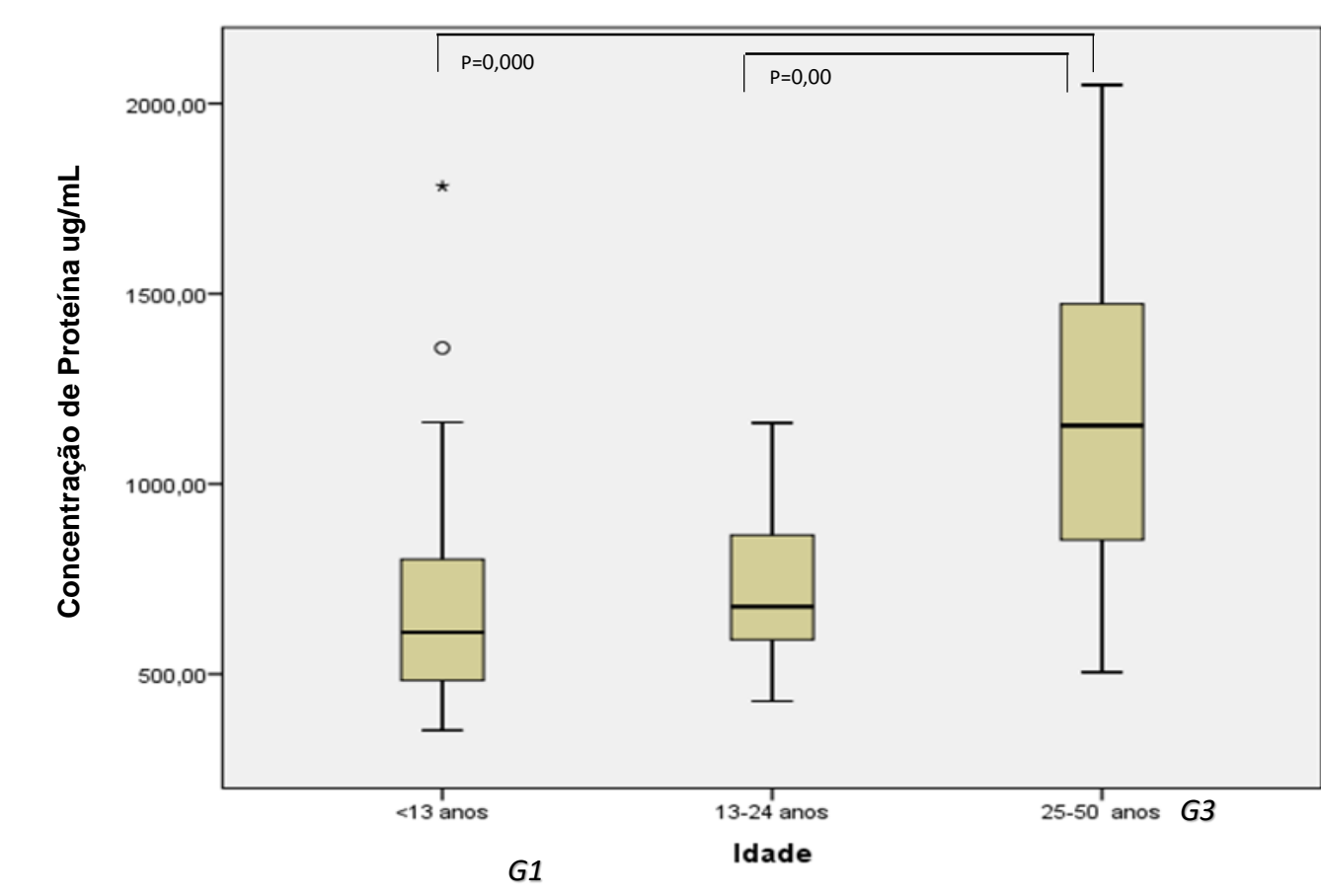


INFLUÊNCIA DO GÉNERO NO PERFIL SALIVAPRINT



A análise estatística mostrou que existem alterações significativas do SalivaPrint com a idade e com a saúde oral mas não com o género.

VARIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA SALIVA COM OS FATORES EM ANÁLISE CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA E IDADE

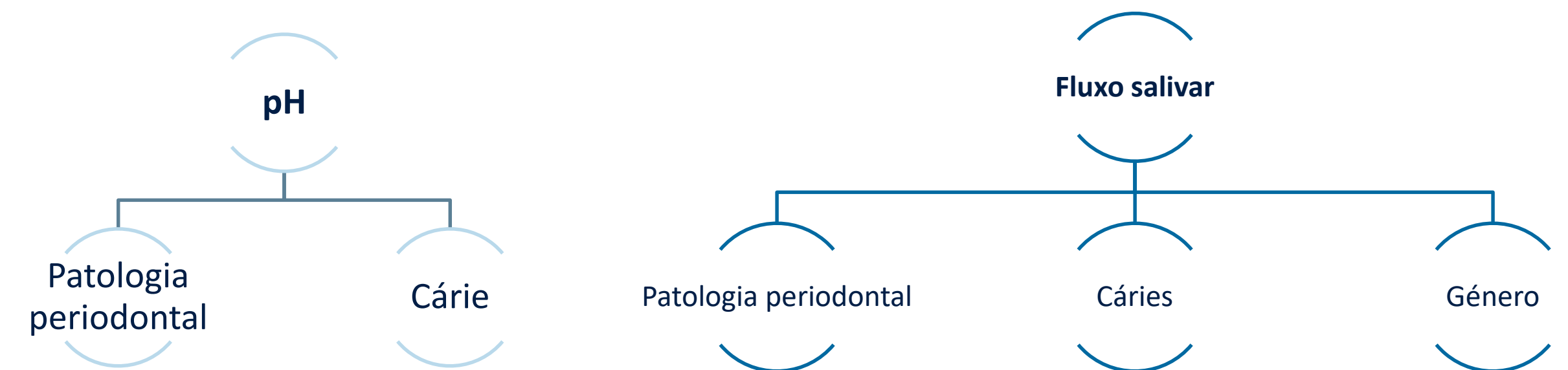


Comparações múltiplas da concentração da proteína total nos diferentes grupos de faixa etária G1, G2 e G3; * e ° outliers

A concentração total de proteína difere com a idade.

Também foi feita análise relativamente ao género no entanto, não existem alterações significativas relativamente à concentração de proteína.

PH E FLUXO SALIVAR



O pH e o fluxo, não diferem, em indivíduos com patologia periodontal nem com a presença de cárie.

CONCLUSÃO

- Uma vez que se observaram diferenças no SalivaPrint de pessoas saudáveis, dependendo da idade e da sua saúde oral, é importante ter esses factores em conta na comparação com indivíduos doentes para isolar o efeito da doença dos efeitos de outros parâmetros.
- Este tipo de trabalhos, é essencial para encontrar formas menos invasivas de diagnóstico que tenham em conta toda a variabilidade molecular e fisiológica do indivíduo.

Referências

1. Arrais JP, Rosa N, Mato J, Coelho ED, Amaral D, Correia MJ, et al. OralCard: A bioinformatic tool for the study of oral proteome. Arch Oral Biol [Internet]. 2013 Jul 1 [cited 2019 May 19];58(7):762–72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003989213000041>
2. Eduardo J, Esteves, Cruz IN, Silva MS, Fernandes MF, Rosa NR, Correia MJ, et al. DMT2-SalivaPRINT: A protein profiling strategy for Diabetes Mellitus Type 2 applications. submited
3. Cruz I, Esteves E, Fernandes M, Rosa N, Correia MJ, Arrais JP, et al. SalivaPRINT Toolkit – Protein profile evaluation and phenotype stratification. J Proteomics. 2018;171(June):81–6.
4. Rosa N, Marques J, Esteves E, Fernandes M, Mendes VM, Afonso Á, et al. Protein Quality Assessment on Saliva Samples for Biobanking Purposes. Biopreserv Biobank. 2016;14(4):289–97.