



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TNF-ALFA: UM POSSÍVEL BIOMARCADOR ORAL NA DOENÇA
PERIODONTAL ASSOCIADA AO TABAGISMO**

Trabalho submetido por
Catarina Azevedo Albuquerque
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**TNF-ALFA: UM POSSÍVEL BIOMARCADOR ORAL NA DOENÇA
PERIODONTAL ASSOCIADA AO TABAGISMO**

Trabalho submetido por
Catarina Azevedo Albuquerque
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professora Doutora Fernanda de Mesquita

e coorientado por
Prof. Doutora Alexandra Bernardo

Setembro de 2020

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida com paixão, perder com classe e vencer com ousadia. Porque o mundo pertence a quem se atreve... E a vida é muito bela para ser insignificante”. –

Augusto Branco

AGRADECIMENTO

À minha orientadora, Professora Doutora Fernanda de Mesquita, pela preocupação constante, pelo carinho e compreensão que teve para comigo durante todo o percurso de realização deste trabalho,

À minha coorientadora, Prof. Doutora Alexandra Bernardo, pela disponibilidade, paciência e dedicação que foram fundamentais para a concretização desta monografia,

Em especial, aos meus pais, porque sem eles nada disto seria possível. Por todo o amor e apoio incondicional que me deram ao longo destes 5 anos, sem nunca duvidarem de mim.

À minha irmã, Madalena, que é completamente o meu espelho. Por me ter ensinado a saber ter mais paciência e empatia pelo próximo.

Ao meu namorado, Diogo, por todo o amor, carinho, paciência e compreensão. Por me fazer acreditar mais em mim e por estar sempre lá.

À minha amiga Raquel, pela amizade, apoio, carinho, gargalhadas e constante partilha e cumplicidade durante esses cinco anos. Sem ela não teria sido tão fácil.

À minha parceira de Box, Tânia, com quem muito aprendi nestes últimos dois anos.

A todos os meus colegas e amigos que, de alguma maneira, contribuíram para este percurso. Porque a aprendizagem e crescimento vem do contacto com todos os que passam na nossa vida.

A todos, o meu obrigada.

RESUMO

Enquadramento: A doença periodontal é um preocupante problema de saúde pública que tem vindo a exigir tanto a sua melhor compreensão como a investigação de novos métodos, como os biomarcadores, capazes de auxiliar no seu diagnóstico e consequente terapêutica. O papel do TNF- α e do tabagismo na destruição dos tecidos periodontais tem tornado estes dois componentes potenciais fatores no desenvolvimento e prognóstico da periodontite. A associação de hábitos tabágicos, doença periodontal e produção de citocinas tem sido explorada com o objetivo de avaliar a relação entre o TNF- α e a doença periodontal associada ao hábito tabágico.

Objetivo: Esta revisão bibliográfica tem como objetivo fazer o levantamento bibliográfico conciso de estudos que caracterizem a relação entre o TNF- α e a doença periodontal associada ao hábito tabágico de forma a avaliar o papel do TNF- α como o potencial biomarcador na doença periodontal associada ao tabagismo.

Resultados: Nesta monografia foram incluídos 10 artigos publicados entre 1998 e 2019. Os artigos analisados sugerem existir uma relação entre o TNF- α e a doença periodontal. Contudo, na análise da associação desta relação com o hábito tabágico, verifica-se que número de trabalhos de investigação é ainda reduzido.

Conclusão: O TNF- α é um promissor candidato a biomarcador da doença periodontal. A sua associação com o tabagismo aparenta ser importante no desenvolvimento da periodontite, assim como do seu prognóstico. Por este motivo, torna-se essencial a realização de mais estudos que analisem esta relação, e que possam contribuir para uma maior robustez dos resultados, permitindo assim sustentar a utilização do TNF- α na doença periodontal associada ao tabagismo.

Palavras-chave: Doença Periodontal, TNF- α , Fator de Necrose Tumoral, Tabagismo

ABSTRACT

Background: Periodontal disease is a worrying public health problem that has demanded both its better understanding and the investigation of new methods, such as biomarkers, capable of assisting in its diagnosis and consequent therapy. The role of TNF- α and smoking in the destruction of periodontal tissues has made these two components potential factors in the development and prognosis of periodontitis. The association of smoking habits, periodontal disease and cytokine production has been explored to assess the relationship between TNF- α and periodontal disease associated with smoking.

Objective: This literature review aims to make a concise bibliographic survey of studies that characterize the relationship between TNF- α and periodontal disease associated with smoking in order to assess the role of salivary TNF- α as the potential biomarker in smoking associated periodontal disease.

Results: In this monograph, 10 articles published between 1998 and 2019 were included. The analyzed articles suggest that there is a relationship between TNF- α and periodontal disease. However, when analyzing the association of this relationship with smoking, it appears that the number of research studies is still small.

Conclusion: TNF- α is a promising candidate for the biomarker of periodontal disease. Its association with smoking appears to be important in the development of periodontitis, as well as its prognosis. For this reason, it is essential to carry out more studies that analyze this relationship, and that can contribute to a greater robustness of the results, thus allowing to sustain the use of TNF- α in periodontal disease associated with smoking.

Keywords: Periodontal Disease, TNF- α , Tumor Necrosis Factor Alpha, Smoking

INDÍCE GERAL

INTRODUÇÃO -----	13
1. Epidemiologia da doença periodontal -----	13
2. Doença Periodontal e Biomarcadores -----	21
3. Doença Periodontal e Tabagismo -----	28
4. Objetivo -----	29
DESENVOLVIMENTO -----	31
1. O TNF- α como biomarcador da doença periodontal -----	31
2. Associação entre o tabagismo e a doença periodontal -----	37
CONCLUSÃO -----	43
BIBLIOGRAFIA -----	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Prevalência da periodontite nos Estados Unidos de acordo com a idade. National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2014 (N=10.683). <i>Adaptado de Eke et al. 2018</i>	14
Figura 2 Valores da Prevalência da Doença Periodontal em Portugal, Espanha, China, Estados Unidos da América, América Latina e África do Sul	18
Figura 3 Características ideais de um biomarcador da doença periodontal. <i>Adaptado de Buduneli 2019</i>	22
Figura 4 Via de sinalização da morte celular por apoptose induzida pelo TNF. <i>Adaptado de Holbrook et al. 2019</i>	25
Figura 5 Via de sinalização da proliferação, expressão celular e sobrevivência celular mediada pelo TNF. <i>Adaptado de Chu et al. 2013</i>	26
Figura 6 Efeito do tabaco nos tecidos periodontais. <i>Adaptado de Grover et al. 2013</i> ..	28
Figura 7 Mecanismos pelos quais o TNF- α pode eventualmente contribuir para a perda de tecido periodontal. <i>Adaptado de Graves & Cochran 2003</i>	31

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Artigos sobre a prevalência da periodontite em distintas regiões da Índia. Adaptado de Chandra et. al, 2016.....	18
Tabela 2 Relação entre a perda de inserção clínica (CAL) e os hábitos tabágicos na população chinesa com idades compreendidas entre os 35 e os 44 anos. Adaptado de Sun et al., 2018.	19
Tabela 3 Resumo das Condições e Doenças Periodontais e Peri-Implantares de 2018 de acordo com a Academia Americana de Periodontologia e a Federação Europeia de Periodontologia. Adaptado de G. Caton et al., 2018; Ii & Iii, 2020; Steffens & Marcantonio, 2018.....	21
Tabela 4 Classificação da Periodontite por estadio. Adaptado de G. Caton et al., 2018; Ii & Iii, 2020; Steffens & Marcantonio, 2018.....	22
Tabela 5 Classificação da periodontite em relação ao Grau. Adaptado de G. Caton et al., 2018; Ii & Iii, 2020 e Steffens & Marcantonio, 2018	22
Tabela 6 Valores do TNF, em pg por número de localizações afetadas, nos diferentes grupos determinados. H- Grupo de controlo; MAgP -Periodontite Agressiva Moderada; SAgP- Periodontite Agressiva Severa; MCP- Periodontite Crónica Moderada; SCP- Periodontite Crónica Severa. Adaptado de Zhang et al. 2016.....	30
Tabela 7 Os níveis de TNF nos grupos estudados. Adaptado de Martu et al. 2014.....	31
Tabela 8 Níveis de TNF em cada um dos grupos analisados no estudo de Lavu et al. 2017	31
Tabela 9 comparação da concentração do TNF- α nos diferentes grupos analisados. Adaptado de Varghese et al. 2015	32
Tabela 10 Estudos que investigaram a relação entre o TNF e a doença periodontal. ...	33
Tabela 11 Comparação dos níveis médios do TNF-alfa entre os grupos de estudo e o grupo de controlo. Adaptado de Gupta et al. 2016.....	38
Tabela 12 Estudos que analisaram a relação entre o TNF-alfa e a doença periodontal associada ao hábito tabágico.....	39

LISTA DE SIGLAS

AAP Academia Americana de Periodontologia

APAF1 Fator ativador da protease apoptótica 1 (*Apoptotic Protease Activating Factor 1*)

AP-1 Proteína ativadora 1 (*Activator protein 1*)

AP-2 Proteína ativadora 1 (*Activator protein 2*)

ATF2 Fator ativador da transcrição 2 (*Activation transcription factor 2*)

Bid Agonista de morte de domínio de interação BH3 (*BH3-interacting domain death agonist*)

PIP Perda de Inserção Clínica

c-IAP1 Proteína inibidora da apoptose celular 1 (*Celular inhibitor of apoptoses protein 1*)

c-IAP2 Proteína inibidora da apoptose celular 2 (*Celular inhibitor of apoptoses protein 2*)

DD Domínio de morte (*Death Domain*)

DGH Directorate-General of Health

EFP Federação Europeia de Periodontologia

FADD Proteína de Domínio de Morte Associado ao Fas (*Fas-associated death domain protein*)

GBD Global Burden of Disease

HOIL-1 Ligase-1 de ubiquitina IRP2 oxidada por hemóxida (*Haem-oxidized irp2 ubiquitin ligase-1*)

HOIP Proteína de Interação Hoil 1 (*Hoil-1 interacting protein*)

IKK Inibidor do fator nuclear kappa β (Inhibitor of nuclear factor kappa β)

IL-1 Interleucina 1

IL-11 Interleucina 11

IL-17 Interleucina 17

IL-1 β Interleucina 1 beta

IL-6 Interleucina 6

JNK *c-jun N-terminal kinase*

LUBAC Complexo linear de montagem da ubiquitina (*The linear ubiquitin assembly complex*)

MAgP Periodontite Agressiva Moderada

MAPK Proteína Quinase Ativada por Mitogénio (*Mitogen-activated protein kinase*)

MCP Periodontite Crónica Moderada

MMP Metaloproteinase

NF- κ B fator Nuclear kappa β

OMS Organização Mundial de Saúde

P38 Proteína Quinase p38 ativada por Mitogénio (*p38 mitogen-activated protein kinase*)

PGE2 Prostaglandina E2

RIP1 Serina/Treonina Quinase 1 (*Serine/Treonine kinase 1*)

SAGP Periodontite Agressiva Severa

SCP Periodontite Crónica Severa

TACE Enzima Conversora de TNF- α

TBid Forma Truncada do Bid apoptogénico (*Bid Truncated Apoptogenic Form*)

TNFR1 Recetor de TNF 1 (TNF receptor 1)

TNFR2 Recetor de TNF 2 (TNF receptor 2)

TNF- α Fator de Necrose Tumoral alfa

TAK1 Proteína quinase ativada por mitogénio (*Mitogen-activated protein kinase*)

TRADD Proteína de Domínio de Morte Associada ao Recetor de TNF 1 (*TNF- α Receptor Type 1-Associated Death Domain Protein*)

TRAF Fator Associado ao Recetor de TNF- α (TNFR-associated factor)

TRAF1 Fator Associado ao Recetor de TNF- α 1 (TNFR-associated factor 1)

TRAF2 Fator Associado ao Recetor de TNF- α 2 (TNFR-associated factor 2)

INTRODUÇÃO

A doença periodontal, também conhecida como a “doença da gengiva”, é, atualmente, um sério e preocupante problema de saúde pública (Butt et al., 2019). Foi reportada pela Organização Mundial de Saúde como uma das doenças mais prevalentes no mundo (Global Burden of Disease Study, 2017) contribuindo, significativamente, para o vasto espectro de doenças inflamatórias crônicas como a mais comum e importante condição da cavidade oral (Cardoso et al., 2018). O seu impacto na qualidade de vida, associada à saúde oral, é significativo, pois, não só origina a perda dentária, como compromete a normal função mastigatória, altera o paladar e o olfato, promove a halitose e conduz ainda a défices nutricionais (Butt et al., 2019).

Para além da sua influência nas condições benignas acima mencionadas, a periodontite possui ainda um importante papel no aumento do risco e mortalidade de diversas doenças sistémicas como a diabetes, a doença respiratória crónica, a artrite reumatoide, a doença cardiovascular e o cancro (Nazir, 2018).

Igualmente associada a graves complicações durante a gestação, a periodontite pode originar infeções, pré-eclâmpsia, parto prematuro e baixo peso neonatal (Nazir, 2018; Srinivas & Parry, 2012; Tettamanti et al., 2017).

A necessidade de se adquirir estratégias de prevenção e controlo da doença periodontal tem vindo a ser contínua. A redução na sua prevalência e incidência revela-se essencial na diminuição de doenças sistémicas associadas. Deste modo, o estudo epidemiológico da doença periodontal demonstra ser significativo na sua prevenção (Nazir, 2018).

1. Epidemiologia da doença periodontal

A periodontite afeta cerca de 20 a 50% da população mundial (Nazir, 2018), apresentando diferentes valores nos diversos países do mundo (Sun et al., 2018). A utilização de uma incorreta classificação e de diferentes metodologias aparenta ser a razão para esta variação (Nazir, 2018). Porém, apesar dos valores apresentados da prevalência da periodontite possuírem falhas no seu cálculo, o seu estudo continua a ser essencial (Nazir, 2018). Por este motivo, neste trabalho foi realizada uma análise geográfica da prevalência da periodontite em diversas regiões do mundo.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA

O estudo de Eke et al. sobre a prevalência da periodontite na população dos Estados Unidos da América, durante os anos de 2009 e 2014, contou com uma amostra de 10.683 indivíduos (51% do sexo feminino e 49% do sexo masculino) com idade igual ou superior a 30 anos. Foi realizado o diagnóstico através do exame periodontal completo à cavidade oral. Na análise dos resultados foi possível verificar uma prevalência de 42% de indivíduos com periodontite, representado 7.8% a periodontite severa e 34.4% a periodontite leve ou moderada (**Figura 1**). Foi igualmente possível observar uma maior prevalência total de periodontite no sexo masculino (50.2%), em indivíduos com diabetes (59.9%) e em fumadores habituais (62.4%).

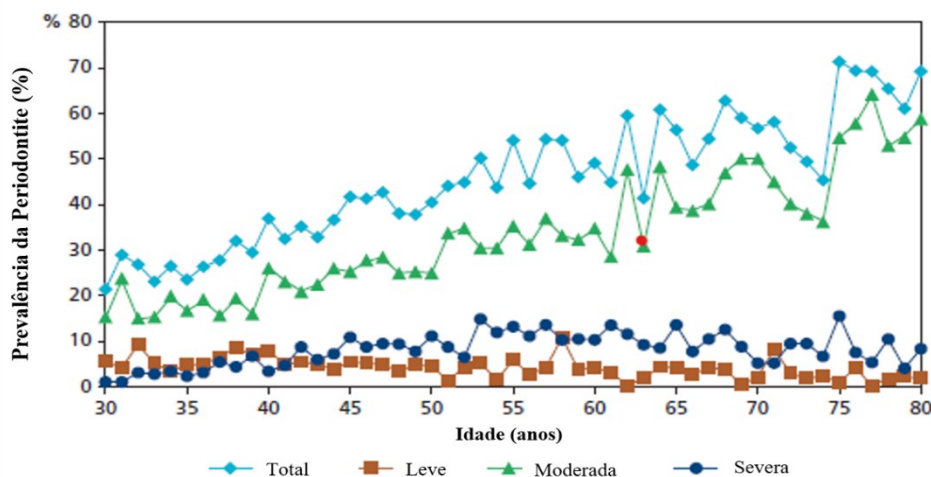


Figura 1 Prevalência da periodontite nos Estados Unidos de acordo com a idade. National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2014 (N=10.683). Adaptado de Eke et al. 2018

AMÉRICA LATINA

A América Latina apresenta diversas características que contribuem para o aumento da prevalência da doença periodontal. A predominância do sexo masculino, o baixo nível de escolaridade, o estado socioeconómico, os hábitos tabágicos e a obesidade representam fatores de risco significativos para o desenvolvimento da periodontite, sendo os mais comuns a deficiente higiene oral e o baixo nível socioeconómico (Romito, 2020).

Em média, cerca de 34.7% da população jovem da América Latina possui gengivite, inflamação gengival que precede a periodontite. Esta percentagem é mais elevada na

Colômbia (77%) e na Bolívia (73%) e menos elevada no México (23%). Na população adulta os valores são bastante elevados e preocupantes alcançando uma percentagem de 96.5% de indivíduos com inflamação gengival nas regiões do Brasil, Argentina e Chile e de 100% na Jamaica, República Dominicana e Porto Rico (Carvajal et al., 2020; Romito, 2020). A prevalência da perda de inserção clínica é de 32.6% em valores iguais ou superiores a 3mm e de 59.3% em valores iguais ou superiores a 4mm nos jovens entre os 15 e os 18 anos podendo-se afirmar que a prevalência da doença periodontal na América Latina é elevada (Carvajal et al., 2020; Romito, 2020). O sexo masculino, o baixo nível socioeconômico e os hábitos tabágicos são fatores que, no estudo em análise, contribuíram significativamente para o aumento da percentagem da prevalência da doença periodontal, sendo importantes fatores de risco (Caffesse, 2015).

ÁFRICA

O estudo epidemiológico da doença periodontal, realizado por Chikte et al., no continente africano, contou com uma amostra de 951 indivíduos residentes na África do Sul. A esta amostra foi determinado o diagnóstico periodontal através da medição da profundidade de sondagem e da perda de inserção clínica. Na análise dos resultados foi possível observar uma prevalência superior a 40.1% de indivíduos com perda de inserção clínica ≥ 5 mm. A elevada prevalência da periodontite nos indivíduos da África do Sul revelou ser semelhante a outros países africanos como o Quênia e a Tanzânia, que apresentaram uma prevalência acima dos 50%. A prevalência da perda de inserção gengival determinada no estudo foi igualmente semelhante aos valores apresentados no Uganda e no Sudão. Deste modo, apesar das limitações apresentadas no estudo de Chikte et al., é possível concluir que o continente africano apresenta uma elevada prevalência da doença periodontal (Chikte et al., 2019).

ÍNDIA

A Índia representa cerca de 17.31% da população mundial sendo considerado o segundo país mais populoso do mundo. 72% do número total da população reside em meio rural, não tendo acesso a cuidados de saúde adequados. Estima-se que existam cerca de 2% de dentistas disponíveis para 72% da população, podendo ser a razão pela qual a doença

periodontal afeta cerca de 95% da população indiana, sendo que apenas 50% utiliza métodos de higiene oral como a escovagem, e apenas uma pequena percentagem de 2% visita o dentista. (Chandra et al., 2016; Shewale et al., 2016)

Chandra et al. realizou uma pesquisa literária sobre o estudo epidemiológico da doença periodontal na população Indiana. Para tal, reuniu todos os artigos que documentaram a prevalência da doença periodontal em diversas regiões do país, conforme retrata a tabela abaixo indicada (**Tabela 1**).

Tabela 1 Artigos sobre a prevalência da periodontite em distintas regiões da Índia. *Adaptado de Chandra et. al, 2016*

Autor	Tamanho da Amostra	Idade	Localidade	Prevalência (%)
D. Goswami, 2014	438	15-64	Kamrup, Assam	85.2%
Bansal M. et al., 2015	500	15-74	Varanasi, Uttar Pradesh	96.30%
S fotedar et al., 2014	351	21-70	Shimla, Himachal, Pradesh	75.1%
S. Sanadhya et al., 2015	1200	30-49	Udaipur, rajasthan	51.1 % rural 43.1% urbana

CHINA

A China é outro dos países mais populosos do mundo. Contudo, a informação sobre o estado periodontal da população chinesa é escassa. Estudos anteriores reportaram uma prevalência de 30% em meio rural e 19% em meio urbano de perda de inserção clínica \geq 3mm em indivíduos com idades compreendidas entre os 35 e os 44 anos (Sun et al., 2018)

Devido à limitação dos estudos encontrados sobre a prevalência da periodontite na população da China, Sun et al. desenvolveu uma pesquisa que teve como objetivo analisar o estado periodontal da população chinesa. Para tal foi utilizada uma amostra de 4.410 indivíduos com idades entre os 35 e os 44 anos. Para a determinação do diagnóstico periodontal foi examinada a cavidade oral de cada indivíduo através da medição da profundidade de sondagem e da perda de inserção clínica, da avaliação da hemorragia à sondagem e determinação da percentagem de cálculo depositado. Os resultados apresentaram uma prevalência de 87.4% e 96.7% de hemorragia à sondagem e presença de cálculo, respetivamente. Uma prevalência de 45.8% em bolsas entre os 4 e os 6mm e 6.9% em bolsas com valores \geq a 6mm foi igualmente observada. A perda de inserção

clínica $\geq 3\text{mm}$ afetou 33.2% da amostra. Pôde-se concluir que, na população chinesa, a prevalência da doença periodontal é bastante elevada em indivíduos entre os 35 e os 44 anos, sendo mais acentuada em indivíduos fumadores, quando comparada a indivíduos não fumadores (**tabela 2**).

Tabela 2 Relação entre a perda de inserção clínica (CAL) e os hábitos tabágicos na população chinesa com idades compreendidas entre os 35 e os 44 anos. *Adaptado de Sun et al., 2018.*

Hábitos tabágicos	N	N(PIC > 3mm)	Prevalência (%)
Fumador	1.458	594	40.7
Nunca fumou	2.952	869	29.4

PIC – Perda de Inserção Clínica

ESPANHA

Na Europa foi analisado o estudo de Carasol et al., o qual teve por objetivo determinar a prevalência da condição periodontal na população adulta espanhola. O projeto decorreu entre 2008 e 2011 e compreendeu uma amostra de 5130 trabalhadores divididos de acordo com o sexo, faixa etária e ocupação. O diagnóstico periodontal foi realizado com base nos critérios da OMS sendo utilizado o Índice Periodontal Comunitário e medida a perda de inserção clínica. Os resultados permitiram verificar que a percentagem de indivíduos com bolsas periodontais foi de 38.4% e que a prevalência da periodontite em Espanha, apesar da amostra não representar toda a população, é elevada.

PORTUGAL

Em Portugal, Machado et al., através da utilização da base de dados do *Institute for Health Metrics and Evaluation* pertencente ao *Global Burden Disease (GBD)* e ao *Directorate-General of Health (DGH)*, realizou um estudo onde foram analisados diversos artigos sobre a evolução da prevalência da doença periodontal, no período entre 2004 e 2017. De acordo os valores obtidos na base de dados do GBD e do DGH foi possível concluir que a prevalência da doença periodontal em Portugal é elevada, apresentando uma

percentagem de 10.8% em indivíduos com idades compreendidas entre os 35 e os 44 anos e de 15.3% em indivíduos com idades entre os 65 e os 75 anos.

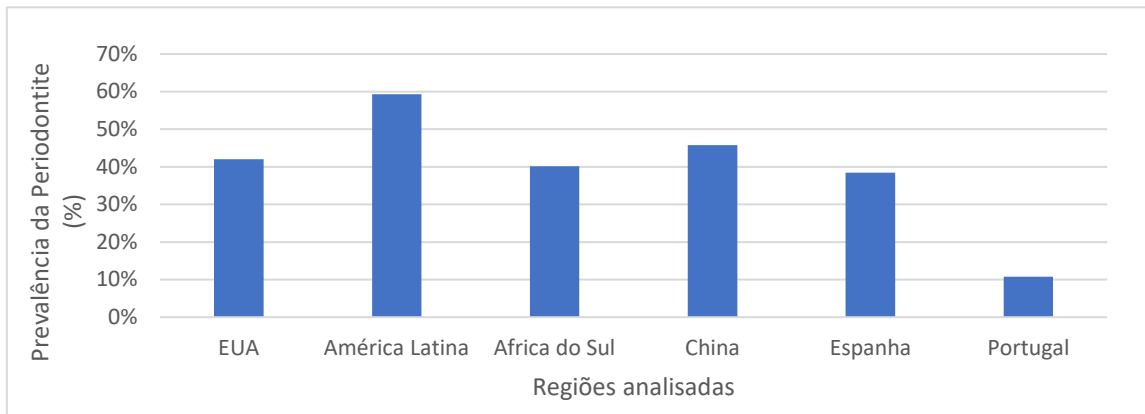


Figura 2 Valores da Prevalência da Doença Periodontal em Portugal, Espanha, China, Estados Unidos da América, América Latina e África do Sul

Apesar dos métodos utilizados para o cálculo da prevalência da periodontite não serem semelhantes, esta apresentou-se elevada em todas as áreas geográficas acima analisadas, **Figura 2**. Por este motivo, a contínua necessidade da sua melhor compreensão tem conduzido à realização de diversos estudos que visam elucidar sobre a sua etiologia, história e patogénese. Contudo, o avanço no seu conhecimento tem vindo a exigir uma classificação mais clara e objetiva da periodontite de modo a permitir estudos e investigações mais precisas sobre a mesma (G. Caton et al., 2018).

Foi então que, em 2017, surgiu a nova classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares pela Academia Americana de Periodontologia (AAP) e pela Federação Europeia de Periodontologia (EFP), em Chicago, nos Estados Unidos, que veio colmatar as limitações existentes na classificação de 1999 (Jepsen, 2018; Steffens & Marcantonio, 2018). Esta, apesar de classificar a periodontite em crónica ou agressiva, e considerar a sua extensão como leve, moderada ou severa, demonstrou possuir algumas limitações como a ausência de conhecimento biológico suficiente para diferenciar os dois tipos de periodontite e a falta de uma caracterização precisa da sua extensão e gravidade (Ii & Iii, 2020)

Foi então analisada e lançada uma nova classificação que dividiu o diagnóstico da doença periodontal em Saúde Periodontal, Condições e Doenças Gengivais; Periodontite; e Outras Condições que afetam o periodonto (G. Caton et al., 2018), **tabela 3**.

Tabela 3 Resumo das Condições e Doenças Periodontais e Peri-Implantares de 2018 de acordo com a Academia Americana de Periodontologia e a Federação Europeia de Periodontologia. *Adaptado de G. Caton et al., 2018; Li & Iii, 2020; Steffens & Marcantonio, 2018*

CONDIÇÕES E DOENÇAS PERIODONTAIS			
Saúde Periodontal, Condições e Doenças Gengivais		Periodontite	Outras Condições que Afetam o Periodonto
i.	Saúde Periodontal e Gengival	i. Periodontite	i. Manifestações Periodontais de Doenças Sistêmicas
ii.	Gengivite Induzida por placa	ii. Doenças Periodontais Necrosantes	ii. Abscessos Periodontais e Lesões Endo periodontais
iii.	Doença Gengival não induzida por placa	iii. Periodontite como manifestação de doenças sistêmicas	iii. Condições e Deformidades Muco gengivais
			iv. Forças Oclusais Traumáticas
			v. Fatores Relacionados com dentes e Próteses
CONDIÇÕES E DOENÇAS PERI-IMPLANTARES			
Saúde Peri-Implantar	Mucosite Peri-Implantar	Peri-Implantite	Deficiências nos Tecidos Peri-Implantares Moles e Duros

Para além destes novos três diagnósticos possíveis, a nova classificação da periodontite introduziu também dois novos conceitos que se revelaram bastante importantes na caracterização individual da doença periodontal: o estadió e o grau. O estadió, representado na **tabela 4**, indica a extensão e gravidade da condição periodontal, enquanto que o grau representa o risco de progressão da doença de acordo com os fatores de risco associados, assim como do grau de destruição observado (**tabela 5**) (G. Caton et al., 2018; Steffens & Marcantonio, 2018).

Tabela 4 Classificação da Periodontite por estadio. *Adaptado de G. Caton et al., 2018; Ii & Iii, 2020; Steffens & Marcantonio, 2018*

		ESTADIO I	ESTADIO II	ESTADIO III	ESTADIO IV
GRAVIDADE	Perda de inserção periodontal	1-2 mm	3-4 mm	≥ 5 mm	≥ 5mm
	Perda óssea radiográfica	1/3 coronal (< 15 %)	1/3 coronal (15% - 30%)	Extensão ao terço médio	Extensão ao terço apical
	Perda dentária	Sem perda dentária por razões periodontais		≤ 4 dentes perdidos pela periodontite	≥ 5 dentes perdidos pela periodontite
COMPLEXIDADE	Local	PS máxima ≤ 4mm	PS máxima ≤ 5mm	PS 6-7 mm	PS ≥ 8mm
		Perda óssea maioritariamente horizontal			
				Perda óssea vertical ≥ 3mm Lesão de furca grau II ou III 21-28 dentes remanescentes Defeito de crista moderado	Disfunção mastigatória Colapso de mordida, migração ou apinhamento dentário < 20 dentes remanescentes Defeito de crista grave
Extensão e distribuição	Em cada estágio definir a extensão como localizada ou generalizada				

Tabela 5 Classificação da periodontite em relação ao Grau. *Adaptado de G. Caton et al., 2018; Ii & Iii, 2020 e Steffens & Marcantonio, 2018*

		GRAU A	GRAU B	GRAU C
Evidência direta	Perda óssea radiográfica ou de inserção	Nenhuma perda nos últimos 5 anos	< 2mm em 5 anos	≥ 2 mm em 5 anos
Evidência indireta	Perda óssea vs. idade	< 0,25	0,25-1,0	>1,0
	Fenótipo	Depósitos densos de biofilme com pouca destruição	Destruição proporcional à quantidade de depósitos de biofilme	A destruição excede o que seria expectável em relação aos depósitos de biofilme encontrados
Fatores Modificadores	Tabagismo	Não Fumador	< 10 cig./dia	≥ 10 cig./dia
	Diabetes	Sem diabetes	HbA1c < 7% com diabetes	HbA1c > 7% com diabetes

Como foi acima mencionado, o estadió representa a gravidade da doença periodontal e pode ser considerado como estadió I, II, III ou IV consoante a gravidade e complexidade apresentadas (**tabela 4**). É caracterizado pela perda de inserção clínica, que se revela essencial nesta classificação. Contudo, na ausência deste aspeto clínico é a perda óssea radiográfica que deve ser tida em consideração. Para além destes dois conceitos, o estadió deve ainda contemplar a extensão da doença ao longo da cavidade oral, podendo ser classificada como localizada (que afeta até 30% dos dentes) ou generalizada (que afeta mais de 30% dos dentes) (Steffens & Marcantonio, 2018). Já o grau é definido pelo risco existente de progressão da doença periodontal e o seu possível efeito na saúde sistémica. Numa primeira avaliação, todos os pacientes devem ser considerados como incluídos no grau B, ou seja, a progressão deve ser considerada moderada, sendo possível alterar o grau para A, baixa progressão, ou grau C, rápida progressão, através da verificação de evidências diretas ou indiretas da progressão da doença. (Steffens & Marcantonio, 2018).

A nova classificação da doença periodontal tem vindo a ser considerada essencial perante o contínuo progresso e desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico promissores que visam determinar e quantificar o risco periodontal individual através da identificação e quantificação de biomarcadores específicos (Buduneli, 2019a).

2. Doença Periodontal e Biomarcadores

O biomarcador foi definido em 1998 pelo *Health Biomarkers Definitions Working Group* como “uma substância que é medida objetivamente e avaliada como um indicador do normal processo biológico, patológico ou da resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica”. É um elemento utilizado como referência do estado biológico e é uma medida objetiva na avaliação da atividade patológica (Pavan A., 2015; Strimbu & Tavel, 2010). A necessidade atual da existência de um bom biomarcador periodontal exige que este possua algumas características fundamentais (**figura 3**) para que seja assim o considerado. (Buduneli, 2019a, 2019b; Pavan A., 2015).

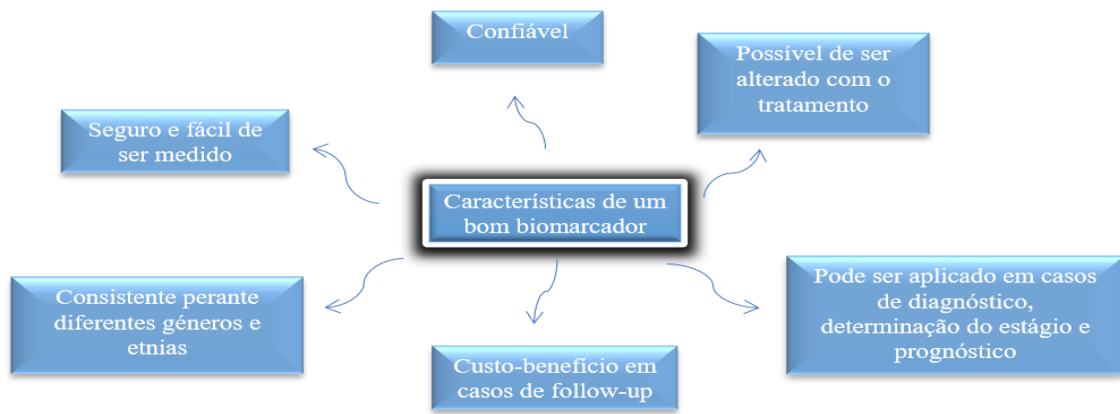


Figura 3 Características ideais de um biomarcador da doença periodontal. *Adaptado de Buduneli 2019*

A procura de um bom biomarcador periodontal capaz de auxiliar na determinação do diagnóstico e prognóstico da doença periodontal, tem vindo a ser um dos maiores desafios encontrados na área da Periodontologia. A possibilidade de identificar a atividade atual da doença, prever a sua futura progressão e ainda monitorizar a resposta terapêutica têm sido as funções consideradas ideais para um bom biomarcador da doença periodontal (Ghallab, 2018).

A iniciação e progressão da doença periodontal estão associadas a múltiplos fatores etiológicos. A microbiota oral e a resposta imune do hospedeiro apresentam-se como os mais importantes promotores da periodontite através da ação dos microrganismos periodonto patogénicos que, em associação à resposta do hospedeiro, conduzem à inflamação gengival e consequente destruição tecidual (Ghallab, 2018; Pan et al., 2019). A desregulação do normal funcionamento do processo inflamatório e imune contribui consequentemente para uma maior suscetibilidade individual para o desenvolvimento da doença periodontal. Por esta razão, existe a necessidade de uma maior compreensão dos eventos moleculares e celulares deste complexo sistema (Ghallab, 2018).

A inflamação gengival (gengivite), processo que precede a periodontite, ocorre em resposta à deposição de placa bacteriana. É caracterizada pelo aumento inicial do fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular e pelo influxo de neutrófilos e macrófagos do sangue periférico para o sulco gengival. A sua progressão para um processo inflamatório origina a destruição dos tecidos periodontais através da hiperatividade dos leucócitos, citocinas, eicosanoídes e metaloproteinases da matriz (MMPs), conduzindo ao aparecimento da periodontite (Gupta et al., 2016). A deposição de células T e B na

localização afetada promove a produção, pelas mesmas, de citocinas como a interleucina-1 (IL-1), a interleucina-6 (IL-6) e o TNF-alfa (Taba Jr et al., 2005).

As citocinas são moduladoras chave da homeostase e do processo inflamatório (Pan et al., 2019). Conhecidas como moléculas de sinalização, participam ativamente na comunicação celular. Através da ligação citocina-recetor na célula-alvo, as citocinas controlam ainda o crescimento, a mobilidade, a diferenciação, a proliferação e a migração celular assim como a angiogénese e a apoptose de múltiplas células. São produzidas por diversas células como os macrófagos, os linfócitos B, os linfócitos T, os mastócitos, as células endoteliais, os fibroblastos e diversas células do estroma (Martu et al., 2019; Tawfig, 2016)

Existem três citocinas proinflamatórias que se acredita terem um papel fundamental na destruição tecidual periodontal: a interleucina-1 (IL-1), a IL-6 e o fator de necrose tumoral alfa (Tawfig, 2016).

A IL-1 estimula a proliferação de células como queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais encontradas nos tecidos de suporte periodontal. É responsável por acentuar a síntese de colagenase, fibronectina e prostaglandina E21 pelos fibroblastos, sendo possível afirmar a importância da IL-1 na manutenção da homeostase dos tecidos periodontais (Tawfig, 2016).

A IL-6 é reconhecida por ser um importante regulador da resposta imune, da hematopoiese, da resposta de fase aguda e da inflamação. A sua síntese e secreção depende das citocinas IL-1 β e TNF- α . A IL-6 é responsável pela transição entre a fase aguda e a fase crónica da inflamação. Acentua a proliferação da célula T e aceleração da reabsorção óssea, aumentando a formação de osteoclastos (Tawfig, 2016).

2.1. Fator de Necrose Tumoral (TNF- α)

O TNF- α é uma citocina proinflamatória secretada por diversos tipos de células, essencialmente macrófagos, em resposta a diferentes estímulos como bactérias, parasitas, vírus, citocinas e mitogénos (Gomes et al., 2016). Desde a sua identificação em 1975, por Carwells et al. (Barbara et al., 1996) e o seu isolamento e caracterização em 1984, o TNF- α tem vindo a ser considerado uma potente citocina inflamatória responsável por diversas funções em diferentes tipos celulares (Holbrook et al., 2019). Inicialmente

descoberto como um fator sérico indutor da morte celular em células tumorais foi proposto como um promissor alvo no tratamento do cancro. Contudo, mais tarde, demonstrou ser um potencial alvo no tratamento de doenças inflamatórias (Holbrook et al., 2019).

Inicialmente produzido como uma proteína transmembranar (mTNF) de 26 kDa, constituída por 233 aminoácidos, a molécula de TNF- α expressa-se na superfície celular (Holbrook et al., 2019). Quando necessário, a mTNF é clivada pela enzima conversora de TNF (TACE) originando a sua forma solúvel (sTNF), uma molécula de 17 kDa com 157 aminoácidos que é posteriormente libertada no plasma sanguíneo (Holbrook et al., 2019). Em indivíduos saudáveis, o TNF- α não é detetado no plasma. Contudo, na presença de condições inflamatórias e infecciosas, a sua concentração sérica aumenta, estando proporcionalmente ligada à gravidade do processo infeccioso (Bradley, 2008).

Apesar de ambas as formas existentes do TNF- α possuírem a mesma estrutura trimétrica quando ativas, as duas configurações desta citoquina apresentam diferentes atividades biológicas (Bradley, 2008) que dependem da ligação a um dos dois tipos de recetores de TNF: o TNFR1 ou o TNFR2. O TNFR1 é expresso em todos os tecidos do organismo humano, já o TNFR2 é encontrado maioritariamente nas células do sistema imune, nos neurónios e nas células endoteliais (Holbrook et al., 2019). Apesar de ambos os recetores de TNF- α possuírem estruturas extracelulares semelhantes nos seus pontos de ligação, as suas configurações intracelulares apresentam-se distintas. O TNFR1 possui uma cauda citoplasmática que contém um domínio de morte (DD – Death Domain) associado que o permite recrutar a molécula do domínio de morte associado ao TNFR1, a molécula TRADD. Já o TNFR2, por outro lado, não apresenta o domínio de morte e recruta, por sua vez, as proteínas do fator associado ao TNFR (TRAF) 1 e 2 (Holbrook et al., 2019).

Enquanto que ambas as vias de sinalização dos recetores de TNF 1 e 2 ativam o fator nuclear kappa B (NF- κ B) e induzem a resposta de sobrevivência celular, o recetor de TNF 1 possui igualmente a capacidade de induzir a morte celular (Holbrook et al., 2019).

Quando o TNF se liga ao TNFR1 provoca uma alteração na sua conformação conduzindo à interação da proteína de domínio de morte associado ao recetor de TNF 1 (TRADD) (**Figura 4**). Esta, por sua vez, recruta a proteína do domínio de morte associado ao Fas (FADD) e a Serina/Treonina Quinase 1 (RIP1) (Zelová & Hošek, 2013). Tanto o FADD como o RIP1 vão posteriormente interagir com a pro-caspase 8 resultando na sua

clivagem e posterior ativação (Chu, 2013). A caspase 8 ativa medeia a clivagem da proteína pro-apoptótica Bid originando a sua forma truncada (tBid) que se desloca para a mitocôndria provocando a redução do seu potencial membranar e consequente liberação do citocromo C. Este último mencionado, juntamente com o fator ativador da protease apoptótica, liga-se à pro-caspase 9 formando um complexo apoptótico que ativa outras caspases como a caspase 3 e a caspase 7 resultando na apoptose celular (Chu, 2013).

Na **figura 4** encontra-se resumida a cascata de sinalização da morte celular por apoptose mediada pelo TNF- α .

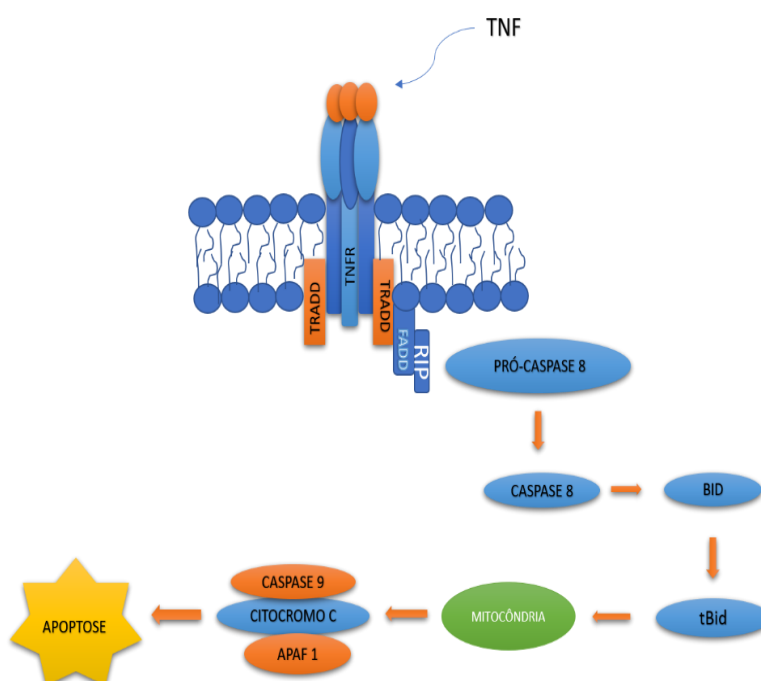


Figura 4 Via de sinalização da morte celular por apoptose induzida pelo TNF. *Adaptado de Holbrook et al. 2019*

Para além da sua função na apoptose celular, o TNF- α é também conhecido pelos seus efeitos tanto na indução da expressão de genes pro-inflamatórios, como na proliferação e diferenciação de diferentes células do sistema imunológico em diversos estados patológicos (Holbrook et al., 2019).

Na via de sinalização da proliferação e sobrevivência celular mediada pelo TNF- α , este liga-se ao TNFR1 provocando uma alteração na sua conformação de modo a que o seu

domínio de morte possa interagir com a molécula TRADD (Chu, 2013). Esta, por sua vez, recruta os fatores associados ao TNFR (TRAFs), incluindo o TRAF 2 e o TRAF5, assim como as proteínas inibidoras da apoptose celular 1 e 2 (c-IAP1/2) formando, deste modo, o complexo de sinalização do recetor de TNF (TNF-RSC) (**Figura 5**). As moléculas c-IAP1/2 não só são importantes na ativação do complexo IKK como são igualmente críticas na ativação dos componentes ao longo da via de sinalização da proteína quinase ativada por mitogénio (MAPK), incluindo a JNK e a proteína quinase p38 ativada por mitogénio (p38) (Chu, 2013).

Na via de sinalização da IKK, o complexo LUBAC, que inclui o HOIL-1, o HOIP e o Sharpin, é recrutado pelo TRADD, pela TRAF 2/5 e pelo c-IAP1/2. O LUBAC não só é importante para a estabilização do complexo TNF-RSC como também adiciona cadeias lineares ubiquitinadas tanto à proteína que interage com o recetor (RIP1) como à subunidade da IKK, IKK γ , que traz ambos o RIP1 como o IKK γ para o TNF-RSC. Isto resulta na formação do complexo IKK γ /IKK α/β e do complexo TAK1/TAB1/2 (proteína 1 e 2 ligante ao TAK1) (Chu, 2013).

O RIP1 ubiquitinado aciona o TAK1 que posteriormente ativa a IKK α e a IKK β . A IKK β , uma quinase major, conduz à ubiquitinação e degradação da molécula I κ B α e consequentemente ao deslocamento da NF- κ B ao núcleo. Esta, por sua vez, induz a transcrição de mais de 200 genes dependentes da NF- κ B que incluem os genes de sobrevivência celular, das citocinas pró inflamatórias, das quimiocinas, dos fatores de crescimento e do próprio TNF- α . O TAK1 ativa igualmente o JNK e o p38 resultando na fosforilação do c-jun e do ATF2 e a consequente conformação do complexo c-jun/ATF2, recrutando a proteína ativadora 1 e 2 (AP-1/2). A AP-1 é outro fator de transcrição crítico e tem funções semelhantes ao NF- κ B (Chu, 2013).

3. Doença Periodontal e Tabagismo

Como já mencionado anteriormente, o hábito tabágico é reconhecido atualmente como um fator de risco significativo para o desenvolvimento da doença periodontal (Kanmaz et al., 2019). A contínua exposição ao fumo do tabaco é responsável por originar alterações nos tecidos periodontais e nos biomarcadores salivares, estando associado ao aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (Kanmaz et al., 2019).

As substâncias contidas no cigarro são as responsáveis por amplificar a sinalização colinérgica anti-inflamatória, reduzir a capacidade de resposta dos anticorpos, suprimir as funções das células imunes, promover o desequilíbrio entre osteoblastos e osteoclastos e comprometer a remodelação tecidual (Buduneli & Scott, 2018). O tabaco é também responsável pela alteração da normal resposta imune do hospedeiro, que conduz, por sua vez, à alteração da capacidade de migração dos neutrófilos do sangue periférico para as paredes dos capilares (Heikkinen et al., 2015), criando um desequilíbrio na concentração das citocinas pró-inflamatórias.

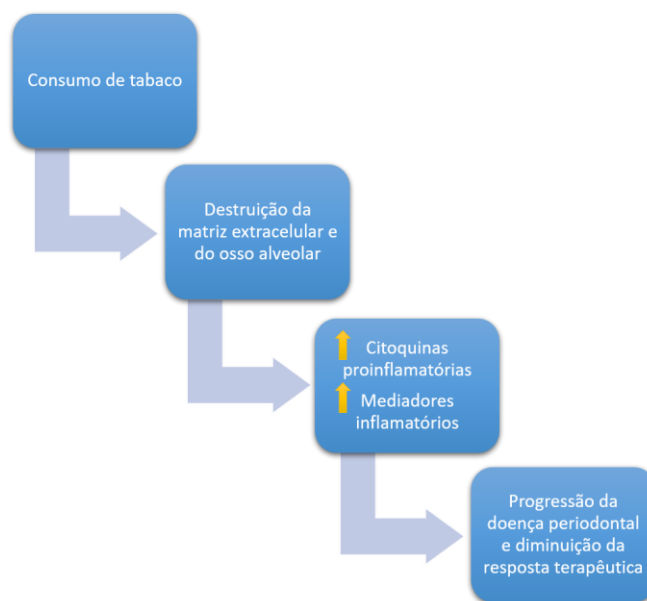


Figura 6 Efeito do tabaco nos tecidos periodontais. *Adaptado de Grover et al. 2013*

Os efeitos adversos e progressivos do tabagismo na doença periodontal consolidam o seu importante papel na destruição tecidual. A relação existente entre ambos parece causar um grande desequilíbrio no normal funcionamento da resposta imune do hospedeiro alterando os níveis de citocinas inflamatórias.

4. Objetivo

O efeito do tabaco na doença periodontal é desde há muito tempo conhecido. O seu papel na produção de citocinas aquando a evolução da periodontite propõe a existência de uma relação entre o TNF- α , os hábitos tabágicos e a periodontite. Este trabalho tem por objetivo realizar uma revisão bibliográfica concisa da evidência disponível sobre a relação entre o TNF- α (como biomarcador) e periodontite relacionada aos hábitos tabágicos.

DESENVOLVIMENTO

1. O TNF- α como biomarcador da doença periodontal

O TNF- α é uma citocina proinflamatória produzida por diversos tipos celulares em resposta a múltiplos estímulos incluindo bactérias, parasitas, vírus e citocinas (Gomes et al. 2016). Responsável por regular a resposta imunológica do hospedeiro, esta citocina conduz inúmeros processos biológicos como a regulação da produção de diferentes mediadores inflamatórios (ex. quimiocinas, metaloproteínas da matriz e prostaglandinas), a ativação de células endoteliais e a sua interação com os leucócitos, a adesão dos monócitos, a remodelação óssea, os processos oxidativos, entre outros (Gomes et al., 2016; Noh et al., 2013), **figura 7**.

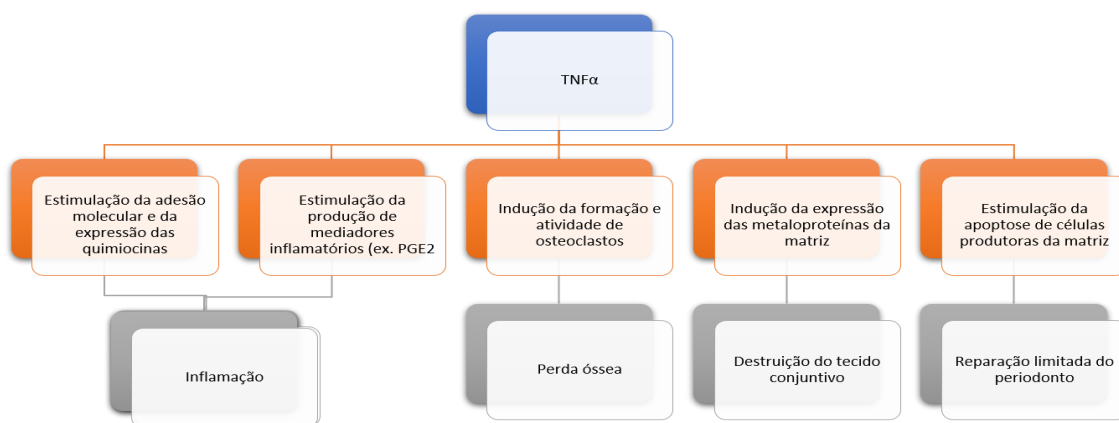


Figura 7 Mecanismos pelos quais o TNF- α pode eventualmente contribuir para a perda de tecido periodontal. *Adaptado de Graves & Cochran 2003*

O fator de necrose tumoral alfa encontra-se envolvido, através de diferentes vias de sinalização, no processo inflamatório local e sistémico. A desregulação da normal resposta do hospedeiro, mediada pelo TNF- α , conduz à patogénese de múltiplas doenças, incluindo a doença periodontal (Gomes et al., 2016).

Tendo em consideração o papel do TNF- α no desenvolvimento e manutenção de diversas doenças inflamatórias, é expectável o seu efeito na mediação do desenvolvimento, progressão e manutenção da doença periodontal. Por esta razão, diversos estudos analisaram a possível relação entre o TNF- α e a doença periodontal colocando a hipótese desta citocina poder vir a ser um potencial biomarcador (Gomes et al., 2016).

Zhang et al. realizou um estudo onde pretendeu avaliar a possível relação acima mencionada. Para tal, reuniu as amostras de fluido crevicular de indivíduos com periodonto saudável (grupo de controlo), com periodontite crónica e de indivíduos com periodontite agressiva. Após a determinação das concentrações do TNF- α através do teste ELISA foi possível observar volumes mais elevados desta citocina associados à presença da doença periodontal, **tabela 6**. Para além da diferença observada entre os grupos, também se verificou um aumento do TNF- α em relação à forma severa de ambos os tipos de periodontite apresentados, sugerindo o papel desta citocina na condição inflamatória periodontal.

Tabela 6 Valores do TNF, em pg por número de localizações afetadas, nos diferentes grupos determinados. H- Grupo de controlo; MAgP -Periodontite Agressiva Moderada; SAgP- Periodontite Agressiva Severa; MCP- Periodontite Crónica Moderada; SCP- Periodontite Crónica Severa. *Adaptado de Zhang et al. 2016.*

Grupo	TNF- α (pg/número de localizações)
H	1.65/32
MAgP	2.69/29
SAgP	6.42/24
MCP	2.79/28
SCP	6.29/24

Contrariamente a Zhang et al., Martu et. al. utilizou como meio de recolha o sangue venoso periférico. Contudo, os resultados apresentados confirmaram a associação observada no estudo anteriormente analisado: os valores do TNF- α apresentaram-se igualmente mais elevados no grupo com periodontite crónica e no grupo com periodontite agressiva quando comparados ao grupo de controlo. Como é possível verificar na **tabela 7**, o grupo com periodontite crónica manifestou quase o dobro do valor médio de TNF- α quando comparado ao grupo de controlo. Já o grupo que apresentou os valores mais elevados foi o grupo que possuía periodontite agressiva, reforçando-se a possível correlação, observada no estudo de Zhang et al. entre o estado inflamatório da doença e o nível da citocina avaliada.

Tabela 7 Os níveis de TNF nos grupos estudados. *Adaptado de Martu et al. 2014*

Grupo	Nº da amostra	Valor médio do TNF	Desvio	Valor mínimo sérico do TNF- α (pg/ml)	Valor máximo sérico do TNF- α (pg/ml)
Controlo	15	1,3	0,54	0	2,4
Periodontite Crónica	16	2,4	1,21	0	4,8
Periodontite Agressiva	11	3,2	0,72	0	5,7

Já Zahraa et al. só considerou dois grupos: o grupo com periodontite crónica e o grupo de controlo. Porém, os resultados foram semelhantes aos estudos anteriormente analisados. Os 50 indivíduos com periodontite apresentaram valores significativamente mais elevados de TNF- α quando comparados aos 25 indivíduos que fizeram parte do grupo de controlo, ou seja, que possuíam um periodonto saudável.

Mantendo a comparação do estudo de Zahraa et al., Lavu et al. considerou igualmente apenas dois grupos: o grupo de controlo e o grupo com periodontite crónica. Contudo, o meio de recolha utilizado foi semelhante ao estudo de Zhang et al. As duas variáveis, apesar de utilizadas em simultâneo, ao contrário dos outros estudos analisados, confirmaram a possível relação entre o TNF- α e a doença periodontal, observando-se, como se pode verificar na **tabela 8**, valores superiores da citocina analisada no grupo com periodontite quando comparado ao grupo sem periodontite.

Tabela 8 Níveis de TNF em cada um dos grupos analisados no estudo de *Lavu et al. 2017*

<i>Citoquina</i>	Grupo de controlo (n=40)	Periodontite Crónica (n=41)
<i>TNF-α pg/mL</i>	1,18 \pm 0,892	2,17 \pm 1,56

Varghese et al. considerou os mesmos grupos que o estudo de Martu et al.: o grupo saudável, o grupo com periodontite crónica e o grupo com periodontite agressiva. Os resultados observados permitiram verificar valores mais elevados do TNF- α salivar em ambos os grupos com periodontite quando comparado ao grupo de controlo, **tabela 9**.

Tabela 9 comparação da concentração do TNF- α nos diferentes grupos analisados. *Adaptado de Varghese et al. 2015*

Grupo	Média (pg/ml)
Controlo	2.15
Periodontite Crónica	12.92
Periodontite Agressiva	7.93

Por fim, o estudo de Afacan et al. apresentou uma peculiaridade quando comparado aos restantes estudos: a avaliação das concentrações do TNF- α foi realizada através de dois meios de recolha distintos: a saliva e o fluido crevicular. Também a amostra foi dividida de maneira distintas dos restantes estudos analisados. Foram considerados quatro grupos: o grupo com periodontite agressiva generalizada, o grupo com periodontite crónica, o grupo com apenas gengivite e o grupo com saúde gengival. Porém, na análise das concentrações, os resultados não foram semelhantes aos grupos já mencionados: a concentração de TNF- α no fluido crevicular estava mais elevada no grupo de controlo quando comparado aos restantes. Também o nível da citocina salivar se apresentou semelhante em todos os grupos analisados.

Na **tabela 10** encontram-se resumidos todos os artigos analisados nesta monografia.

Tabela 10 Estudos que investigaram a relação entre o TNF e a doença periodontal.

Estudo	N	Grupos	Fluido estudado	Variáveis estudadas	Resultados
<i>Zhang et al. 2016</i>	40	G I – Controlo G II – Periodontite Crónica G III -Periodontite Agressiva	Fluido crevicular	- Profundidade de sondagem (PS) - Hemorragia à sondagem - índice de placa - Recessão gengival - Perda de inserção clínica (CAL) - Mobilidade dentária	O TNF apresentou valores significativamente mais elevados em indivíduos com periodontite.
<i>Martu et al. 2014</i>	42	G I – controlo G II – Periodontite Crónica G III – Periodontite agressiva	Sangue Venoso Periférico	- Profundidade de sondagem - CAL - Hemorragia à Sondagem - Recessão gengival - Mobilidade dentária - Envolvimento de furca - Supuração	O TNF- α apresentou valores mais elevados nos pacientes com periodontite crónica (2,4 pg/ml) e periodontite agressiva (3,2 pg/ml) quando compactado ao grupo de controlo (1,3 pg/ml).
<i>Zahraa et al. 2012</i>	75	G I – controlo G II – Pacientes com periodontite	Sangue	- Profundidade de sondagem - CAL - Hemorragia à sondagem - índice de placa	Os valores de TNF apresentaram-se bastante mais elevados nos pacientes com periodontite crónica (1,52 pg/ml) quando comparados ao grupo controlo (0,52 pg/ml)
<i>Lavu et al, 2017</i>	81	G I – controlo G II – Periodontite Crónica	Fluido Crevicular	- Perda de inserção Clínica - Perda óssea radiográfica - Presença de dentes naturais - Profundidade de sondagem - Hemorragia à sondagem	Os níveis de TNF- α foram bastante mais elevados no grupo com periodontite crónica (2,17 pg/mL) quando comparados ao grupo de controlo (1,18 pg/mL)
<i>Varghese et al., 2015</i>	75	G I – Grupo de controlo G II – Periodontite crónica generalizada G III – Periodontite Agressiva generalizada	Saliva	-Profundidade de sondagem - Perda de inserção Clínica - Índice de placa - Índice Gengival	As concentrações do TNF- α foram mais elevadas no grupo com periodontite crónica (12.92 pg/ml) e no grupo com periodontite agressiva (7.23 pg/ml) quando comparado ao grupo de controlo (2.15 pg/ml)
<i>Afacan et al., 2019</i>	87	G I - Grupo de controlo G II – Periodontite Crónica G III – Periodontite Moderada G IV – Gengivite	Fluido Crevicular e Saliva	- Profundidade de sondagem - CAL - Hemorragia à sondagem - Índice de placa -Índice Gengival	O TNF-alfa salivar apresentou valores semelhantes em todos os grupos considerados. Já no fluido crevicular, a concentração estava mais elevada no grupo de controlo do que nos outros três.

O diagnóstico da doença periodontal é tradicionalmente realizado através da medição da profundidade de sondagem, hemorragia à sondagem e perda de inserção clínica. Contudo, inúmeros estudos têm vindo a ser concretizados com o objetivo de desenvolver novos métodos tecnológicos capazes de auxiliar na identificação, deteção e diagnóstico periodontal (Gomes et al., 2016).

A deteção precoce da periodontite é um dos fatores mais importantes a ser considerado no sucesso terapêutico. Por este motivo, diversos investigadores têm-se comprometido a desenvolver novos biomarcadores que permitam a deteção antecipada do risco periodontal evitando a progressão da destruição tecidual do periodonto (Ghallab, 2018).

Os possíveis biomarcadores periodontais podem ser divididos em: marcadores da inflamação, marcadores da destruição periodontal e marcadores da reabsorção óssea. A IL-1 β , a IL-6 e o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) são biomarcadores envolvidos na inflamação periodontal (Buduneli, 2019).

A IL-1 β contribui para o desenvolvimento do processo inflamatório, sendo o resultado de diversos estímulos inflamatórios e infecciosos. O estudo de Gomes et al. demonstrou existir uma elevada correlação entre esta citocina e os parâmetros clínicos considerados, sugerindo o promissor papel da IL-1 β no auxílio da avaliação da resposta individual à terapêutica periodontal. A possível participação desta citocina na iniciação, extensão e progressão da doença periodontal contribui para que esta seja considerada um futuro biomarcador da doença periodontal passível de ser detetado tanto na saliva como no fluido crevicular (Gomes et al., 2016)

A IL-6 tem vindo a ser caracterizada pelo seu importante papel na inflamação crónica. É produzida essencialmente no tecido inflamado através da ativação celular pelos microrganismos periodontopatogénicos. Esta ocorrência tem sido considerada e alguns estudos têm encontrado uma associação entre a profundidade de sondagem e a concentração de IL-6 encontrada no fluido crevicular, estando a sua elevada concentração associada a uma menor resposta ao tratamento periodontal não cirúrgico (Tawfig, 2016).

Tanto a IL-1 β como a IL-6 foram as primeiras citocinas a serem descobertas no contexto inflamatório dos tecidos periodontais. Estão essencialmente associadas à migração celular e à osteoclastogénese, ação através da qual os osteoclastos promovem a reabsorção óssea (Buduneli, 2019).

O TNF- α é uma potente citocina que regula desde a migração celular à destruição tecidual. Regula positivamente as citocinas IL-1 β e IL-6 e contribui para a degradação da matriz extracelular assim como da reabsorção óssea através das metaloproteinases da matriz e da molécula RANKL (Buduneli, 2019). É considerado um possível mediador inflamatório associado à gravidade e progressão da doença periodontal, podendo ser importante na determinação do diagnóstico individual periodontal mais adequado (Gomes et al. 2016)

Por ser um promissor biomarcador da doença periodontal, neste trabalho foram analisados alguns estudos que analisaram a relação entre o TNF- α e a doença periodontal.

Na análise dos mesmos foi possível constatar que cinco dos seis artigos considerados demonstraram existir uma forte correlação existente entre as concentrações de TNF- α e a doença periodontal. Valores mais elevados do TNF- α foram encontrados nos grupos com periodontite quando comparado ao grupo de controlo. Contudo, no estudo de Afacan et al. os valores de TNF- α salivar apresentaram-se semelhantes em toda a amostra. Já no fluido crevicular, a concentração de TNF- α foi bastante mais elevada no grupo de controlo quando comparado aos grupos com periodontite e gengivite. A possível explicação para este resultado poderia estar no facto do volume crevicular em indivíduos saudáveis ser inferior ao volume apresentado por indivíduos com periodontite (Afacan et al. 2019).

Também se observou o potencial da saliva e do fluido crevicular como meios de diagnóstico de possíveis biomarcadores periodontais. A comparação do estudo de Martu et al. com o estudo de Lavu et al. demonstrou que, apesar de terem sido utilizados diferentes meios de recolha, no primeiro o sangue e no segundo o fluido crevicular, os valores apresentados foram semelhantes tanto no grupo com periodontite como no grupo de controlo. Deste modo, pode-se concluir que a determinação da concentração do TNF- α pode ser realizada através dos fluidos orais (Gomes et al., 2016).

O TNF- α aparenta ser um possível biomarcador periodontal apresentando uma forte correlação o processo inflamatório periodontal. Para além do futuro contributo para a deteção, diagnóstico e terapêutica periodontal, o TNF- α pode igualmente auxiliar na identificação da suscetibilidade individual para a doença periodontal em diabéticos e fumadores (Gomes et al., 2016).

2. Associação entre o tabagismo e a doença periodontal

Como é do conhecimento geral, o tabagismo é considerado um dos mais importantes fatores de risco ambientais não só associados ao aparecimento da periodontite como também ao seu prognóstico (Al-Ghurabi, 2013).

As vias pelas quais o tabaco afeta a incidência e a progressão da periodontite ainda não estão bem definidas. Contudo, algumas hipóteses foram colocadas sobre a ação do tabaco na destruição periodontal. Esta inclui o seu efeito na microbiota oral, na resposta imunológica do hospedeiro e na diminuição da capacidade de cicatrização do periodonto (Leite et al., 2018). O consumo de tabaco pode conduzir ainda a uma alteração da composição do biofilme subgengival, aumentando a prevalência dos microrganismos patogénicos periodontais. Para além desta alteração, o tabagismo tem vindo a ser igualmente implicado no atraso do recrutamento dos neutrófilos e na sua migração para os tecidos periodontais comprometendo a resposta imunológica aguda. Este processo contribui para o aumento do limite de agressão necessário para que o tecido periodontal inicie a cascata de inflamação (Leite et al., 2018)

Quando se fuma, os monócitos e os linfócitos presentes na boca, vias aéreas e pulmões são expostos a elevadas concentrações do fumo, ao qual se dá o nome de “exposição aguda ao fumo”. Os níveis de substâncias como a nicotina e a cotinina, metabolitos do cigarro, apresentam-se significativamente mais elevados no fluido crevicular quando comparado à saliva, quer na exposição aguda, quer na exposição crónica ao fumo do tabaco. Também componentes tóxicos do tabaco como os metabolitos da nicotina, as nitrosaminas e o monóxido de carbono podem penetrar o epitélio gengival e a mucosa oral participando na sua destruição (Ryder et al., 2002).

O consumo de tabaco está também associado a parâmetros periodontais clínicos mais debilitados como uma maior profundidade de sondagem, perda de inserção clínica, perda de osso alveolar e percentagem de perda dentária quando comparado a indivíduos não fumadores (Gupta et al., 2016). Contudo, alguns estudos demonstraram que fumadores que possuem periodontite apresentam valores de hemorragia à sondagem mais baixos quando comparados aos não-fumadores. Este facto poderia ser explicado pela influência da nicotina, componente importante do cigarro, na vasoconstrição local que origina uma

redução no fluxo e consequente camuflagem da inflamação, vermelhidão e hemorragia gengival (Gupta et al., 2016).

É hoje aceite que o tabaco altera a resposta imunológica do hospedeiro, incluindo a função vascular, a atividade dos monócitos assim como dos neutrófilos, a expressão das moléculas de adesão, a produção de anticorpos assim como a secreção de citocinas e outros mediadores inflamatórios (Al-Ghurabi, 2013). Contudo, o consumo de tabaco tem sido interligado à ativação de uma complexa cascata inflamatória que conduz à produção de um número variado de potentes citocinas e quimiocinas que, por sua vez, contribuem para o desenvolvimento da doença periodontal. Por este motivo, a influência do consumo de tabaco na produção de citocinas, como o TNF- α , tem vindo a ser investigado (Al-Ghurabi, 2013).

Al-Ghurabi realizou o seu estudo tendo como principal objetivo verificar a atividade de cinco diferentes citocinas, incluindo o TNF- α , na doença periodontal crónica e avaliar a influência do tabaco nas concentrações destas mesmas citocinas. Para concretização do estudo, 60 indivíduos com periodontite crónica (30 fumadores e 30 não fumadores) e 30 indivíduos foram recrutados. A amostra de sangue foi recolhida e foi posteriormente separado o plasma sanguíneo para posterior análise através do método ELISA. Os resultados demonstraram não haver uma diferença significativa do fator de necrose tumoral alfa tanto entre o grupo de controlo e o grupo com periodontite como entre o grupo fumador e o grupo não fumador. Os resultados permitiram observar que os parâmetros clínicos periodontais analisados (Índice de Placa, Profundidade de Sondagem e Perda de Inserção Clínica) se apresentaram bastante mais elevados no grupo com periodontite quando comparado ao grupo saudável e no grupo de fumadores quando comparado ao grupo de não fumadores. Já as concentrações de TNF- α não demonstraram apresentar diferenças significativas entres os grupos analisados.

Em contrapartida, Boström et al., 1998 apresentou no seu estudo concentrações mais elevadas do TNF- α em ambos os grupos de fumadores e ex-fumadores quando comparado ao grupo não-fumador. Contudo, contrariamente ao apresentado no estudo de Al-Ghurabi et al., neste estudo não se observou diferença nos parâmetros periodontais entre os três grupos analisados.

Tendo por objetivo confirmar o ser estudo anterior, Boström et al. voltou em 1999 a avaliar a relação entre o consumo de tabaco e as citocinas IL-6 e o TNF- α na doença periodontal. Desta vez o estudo contou com uma amostra de 108 indivíduos com idades compreendidas entre os 30 e os 81 anos. A condição periodontal considerada foi a mesma do estudo de 1998, periodontite de moderada a severa com profundidade de sondagem maior ou igual a 6mm. Também os grupos considerados foram semelhantes aos apresentados no artigo anterior: fumadores, ex-fumadores e não fumadores. Foram novamente determinados o índice de placa e gengival e a profundidade e hemorragia à sondagem. Confirmando os valores obtidos no seu estudo anterior, a concentração de TNF- α avaliada a partir do fluido crevicular manteve-se bastante mais elevada nos grupos de fumadores e ex-fumadores quando comparada ao grupo de não fumadores. Nos parâmetros clínicos analisados não houve diferenças significativas entre os grupos.

Também Gupta et al. quis avaliar a relação acima mencionada. Para tal, 80 indivíduos com idades entre os 30 anos foram recrutados do departamento de Periodontologia e de Saúde Pública Dentária. O estudo realizou-se num período de 1 ano de novembro de 2013 a dezembro de 2014 e três grupos foram formados: o grupo controlo, o grupo de pacientes com periodontite e fumadores e o grupo de pacientes com periodontite e não fumadores. Os mesmos parâmetros periodontais anteriormente referidos foram utilizados. Os resultados demonstraram a existência de valores mais elevados de TNF- α no grupo fumador com periodontite quando comparados aos outros dois grupos considerados no estudo, **tabela 11**.

Tabela 11 Comparação dos níveis médios do TNF-alfa entre os grupos de estudo e o grupo de controlo. Adaptado de Gupta et al. 2016.

Grupos	Média (ng/ml)
Grupo de controlo	6.43
Periodontite + não-fumador	7.96
Periodontite + fumador	24.32

Na **tabela 12** encontram-se resumidos os artigos analisados nesta monografia.

Tabela 12 Estudos que analisaram a relação entre o TNF-alfa e a doença periodontal associada ao hábito tabágico

Estudo	Amostra	Grupos	Fluído estudado	Metodologia	Resultados
Al- Ghurabi 2013	90	G I - Controlo G II – Periodontite Crónica e fumador G III – Periodontite Crónica e não fumador	Plasma sanguíneo	Método ELISA	O TNF- α não apresentou valores com diferença estatisticamente significativa entre o grupo de controlo e ambos os grupos com periodontite e entre o grupo fumador e o não fumador.
Boström et al. 1999	108	Os três grupos possuíam periodontite de leve a moderada e foram apenas divididos em fumadores atuais, ex-fumadores e em pessoas que nunca fumaram	Fluido Crevicular	Método ELISA	A concentração do TNF- α apresentou-se numa média de 61.0 pg/ml e de 51.0 pg/ml em fumadores e ex-fumadores, respetivamente, estando significativamente mais elevado quando comparado ao grupo não fumador que apresentou uma média de apenas 12.0 pg/ml.
Boström et al. 1998	41	Os três grupos possuíam periodontite de leve a moderada e foram apenas divididos em fumadores atuais, ex-fumadores e em pessoas que nunca fumaram	Fluido crevicular	Método ELISA	Verificou-se um aumento dos valores de TNF- α associados à doença periodontal relacionada ao tabagismo. O grupo de fumadores e ex-fumadores apresentaram uma média da concentração do TNF- α de 45.0 pg/ml e de 27.0 pg/ml, respetivamente, já o grupo não fumador apenas apresentou uma média de 3.0 pg/ml, sendo este valor bastante abaixo dos valores apresentados pelo grupo de fumadores e de ex-fumadores.
Gupta et al., 2016	80	G I – Controlo G II – Periodontite G III – Periodontite + fumador	Saliva	ELISA	A média dos valores de TNF- α apresentou-se bastante superior no grupo fumador com periodontite (24.32 ng/ml) quando comparado ao grupo não fumador com periodontite (7.96 ng/ml) e ao grupo de controlo (6.43 ng/ml)

O papel do TNF- α na doença periodontal tem vindo a ser confirmado por diversos estudos. Contudo, a normal secreção de citocinas aparenta ser influenciada por alguns fatores ambientais, sendo o tabaco um dos mais importantes fatores que contribuem para este processo (Al-Ghurabi, 2013). Por este motivo, surgiu o interesse de se avaliar, por parte de alguns autores, a relação entre o TNF- α e a doença periodontal quando associada ao tabagismo.

Na análise realizada neste trabalho, alguns estudos confirmaram a existência desta relação apresentando valores de TNF- α mais elevados em grupos fumadores e ex-fumadores com periodontite quando comparado ao grupo não fumador com a mesma condição patológica, como foi o caso de ambos os estudos de Boström et al. e do estudo de Gupta et. al. Contudo, contrariamente aos resultados apresentados por estes estudos, Al-Ghurabi demonstrou não existir uma relação entre a citocina e o tabagismo aquando o desenvolver da doença periodontal. Apesar dos valores do TNF- α se terem apresentado superiores nos indivíduos fumadores com periodontite, o valor estatístico apresentado da comparação entre os grupos, não se apresentou significativo.

Porém, o estudo de Gupta et al. considerou três grupos, ao contrário dos estudos de Boström et al.: o grupo de controlo, o grupo apenas com periodontite e o grupo com periodontite e fumador. Esta distinção permitiu isolar e verificar a possível influência do tabaco no TNF- α em pacientes com periodontite. Verificou-se então valores mais elevados da citocina associados ao hábito tabágico, pois o grupo com periodontite e fumador foi o grupo que apresentou uma maior concentração do TNF- α quando comparado aos restantes.

Apesar da existência de poucos estudos comparativos, o fluido crevicular e a saliva aparentam ser os meios de diagnóstico mais promissores. Contudo, o contraste de resultados observados no estudo de Al-Ghurabi sugere a relevância de, no futuro, se estudar a diferença de resultados entre estes meios e o sangue.

CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre o TNF- α , como possível biomarcador da doença periodontal associada ao tabagismo.

A análise bibliográfica efetuada tornou evidente o papel do TNF- α , assim como o do hábito tabágico, na destruição dos tecidos periodontais e consequente progressão da doença periodontal. A existência desta relação levou à investigação, por parte de diversos autores, da possível associação entre o TNF- α e a doença periodontal e posteriormente da sua relação com o tabagismo. Dos seis artigos analisados que tiveram por objetivo avaliar a primeira relação mencionada, apenas um concluiu não existir uma relação entre o TNF- α e a doença periodontal. A possibilidade do TNF- α ser um biomarcador da doença periodontal foi considerado pelos restantes cinco estudos analisados, concluindo todos que existe uma evidente relação entre a citocina analisada e a periodontite.

Também foram analisados quatro artigos que exploraram o papel do TNF- α como possível biomarcador da doença periodontal e a relação entre o TNF- α e o hábito tabágico. Nesta análise, dois estudos afirmaram existir uma relação entre as três variáveis estudadas. Contudo, outros dois estudos demonstraram não existir uma relação entre os mesmos três componentes. A diferença observada nos resultados apresentados pelos quatro estudos poderia ser eventualmente explicada pela utilização de diferentes metodologias para a concretização das investigações, assim como das variáveis consideradas.

Apesar da relação entre TNF- α com a periodontite associada ao tabagismo ainda permanecer por esclarecer, existe forte evidência sugestiva do papel do TNF- α um futuro e promissor biomarcador da doença periodontal. A escassa informação sobre esta relação não permite retirar uma conclusão clara do papel do tabagismo no TNF- α quando o desenvolvimento da doença periodontal. Deste modo, o contínuo estudo do papel do TNF- α na doença periodontal quando associada ao tabagismo revela-se essencial para o melhor conhecimento da periodontite. Por este motivo conclui-se ser fundamental a existência de novas investigações que possam contribuir para o esclarecimento desta eventual relação.

BIBLIOGRAFIA

- Afacan, B., Öztürk, V. Ö., Paşalı, Ç., Bozkurt, E., Köse, T., & Emingil, G. (2019). Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 α , VEGF, and TNF- α levels in periodontal health and disease. *Journal of Periodontology*, *90*(7), 788–797. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0412>
- Algate, K., Haynes, D. R., Bartold, P. M., Crotti, T. N., & Cantley, M. D. (2016). The effects of tumour necrosis factor- α on bone cells involved in periodontal alveolar bone loss; osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. *Journal of Periodontal Research*, *51*(5), 549–566. <https://doi.org/10.1111/jre.12339>
- Al-Ghurabi, B. H. (2013). Impact of smoking on the IL- 1B, IL -8, IL-10, IL-17 and TNF- α production in chronic periodontitis patients. *Journal of Asian Scientific Research*, *3*(5), 462–470.
- Alshammari, A. K. S., & Wahi, M. M. (2019). A Narrative Review of the Prevalence of Periodontitis in Saudi Arabia: A Proposal for a National Oral Health Research Agenda for Vision 2030. *The Open Dentistry Journal*, *13*(1), 171–176. <https://doi.org/10.2174/1874210601913010171>
- Anazetti, M. C., & Melo, P. S. (2007). Morte Celular por Apoptose: uma visão bioquímica e molecular. *Metrocamp Pesquisa*, *1*(1), 37–58
- Båge, T., Kats, A., Silva Lopez, B., Morgan, G., Nilsson, G., Burt, I., Korotkova, M., Corbett, L., Knox, A. J., Pino, L., Jakobsson, P. J., Modéer, T., & Yucel-Lindberg, T. (2011). Expression of prostaglandin E synthases in periodontitis: Immunolocalization and cellular regulation. *American Journal of Pathology*, *178*(4), 1676–1688. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.12.048>
- Barbara, J. A. J., Van Ostade, X., & Lopez, A. F. (1996). Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α): The good, the bad and potentially very effective. *Immunology and Cell Biology*, *74*(5), 434–443. <https://doi.org/10.1038/icb.1996.73>
- Barbosa, P. H., Carneiro, F., Martelli, A., & Trigo, E. L. (2018). Via de sinalização do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), síntese e liberação no exercício físico. *Archives of Health Investigation*, *7*(3), 91–95. <https://doi.org/10.21270/archi.v7i3.2290>

- Boström, L., Linder, L. E., & Bergström, J. (1998). Clinical expression of TNF- α in smoking-associated periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *25*(10), 767–773. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1998.tb02368.x>
- Boström, L., Linder, L. E., & Bergström, J. (1999). Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *26*(6), 352–357. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.1999.260604.x>
- Bouziane, A., Hamdoun, R., Abouqal, R., & Ennibi, O. (2020). Global prevalence of aggressive periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, *47*(4), 406–428. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13266>
- Bradley, J. R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology*, *214*(2), 149–160. <https://doi.org/10.1002/path.2287>
- Buduneli, N. (2019a). Biomarkers in periodontal health and disease: Rationale, benefits, and future directions. In *Biomarkers in Periodontal Health and Disease: Rationale, Benefits, and Future Directions*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-37317-7>
- Buduneli, N. (2019b). Biomarkers in Saliva and Serum Samples for Periodontal Disease and Interactions with Systemic Health. *Current Oral Health Reports*, *6*(1), 31–36. <https://doi.org/10.1007/s40496-019-0207-5>
- Buduneli, N., & Scott, D. A. (2018). Tobacco-induced suppression of the vascular response to dental plaque. *Molecular Oral Microbiology*, *33*(4), 271–282. <https://doi.org/10.1111/omi.12228>
- Butt, K., Butt, R., & Sharma, P. (2019). The burden of periodontal disease. *Dental Update*, *46*(10), 907–913. <https://doi.org/10.12968/denu.2019.46.10.907>
- Caffesse, R. G. (2015). A Latin American perspective of periodontology. *Periodontology 2000*, *67*(1), 7–12. <https://doi.org/10.1111/prd.12071>
- Carasol, M., Llodra, J. C., Fernández-Meseguer, A., Bravo, M., García-Margallo, M. T., Calvo-Bonacho, E., Sanz, M., & Herrera, D. (2016). Periodontal conditions among employed adults in Spain. *Journal of Clinical Periodontology*, *43*(7), 548–556. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12558>

- Cardoso, E. M., Reis, C., & Manzanares-Céspedes, M. C. (2018). Chronic periodontitis, inflammatory cytokines, and interrelationship with other chronic diseases. *Postgraduate Medicine*, *130*(1), 98
- Carvajal, P., Vernal, R., Reiner, D., Malheiros, Z., Stewart, B., Pannuti, C. M., & Romito, G. A. (2020). Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section II: Introduction part II. *Brazilian Oral Research*, *34*(1), e023. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0023>
- Chandra, A., Yadav, O. P., Narula, S., & Dutta, A. (2016). Epidemiology of periodontal diseases in Indian population since last decade. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*, *6*(2), 91–96. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.178741>
- Chikte, U., Pontes, C. C., Karangwa, I., Kimmie-Dhansay, F., Erasmus, R. T., Kengne, A. P., & Matsha, T. E. (2019). Periodontal disease status among adults from South Africa-Prevalence and effect of smoking. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(19). <https://doi.org/10.3390/ijerph16193662>
- Chu, W.-M. (2013). Tumor necrosis factor. *Cancer Letters*, *328*(2), 222–225. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.10.014>
- Clark, I. A. (2007). How TNF was recognized as a key mechanism of disease. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, *18*(3–4), 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2007.04.002>
- Eke, P. I., Thornton-Evans, G. O., Wei, L., Borgnakke, W. S., Dye, B. A., & Genco, R. J. (2018). Periodontitis in US Adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2014. *Journal of the American Dental Association*, *149*(7), 576-588.e6. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.04.023>
- Franco, C., Patricia, H. R., Timo, S., Claudia, B., & Marcela, H. (2017). Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms18020440>

- G. Caton, J., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L. C., Jepsen, S., S. Kornman, K., L. Mealey, B., Papapanou, P. N., Sanz, M., & S. Tonetti, M. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(March), S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>
- Ghallab, N. A. (2018). 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*, 87(December 2017), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.12.022>
- Global Burden of Disease Study 2017. (2017). Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*.
- Gomes, F. I. F., Aragão, M. G. B., Barbosa, F. C. B., Bezerra, M. M., de Paulo Teixeira Pinto, V., & Chaves, H. V. (2016). Inflammatory Cytokines Interleukin-1 β and Tumour Necrosis Factor- α - Novel Biomarkers for the Detection of Periodontal Diseases: a Literature Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Research*, 7(2), 1–10. <https://doi.org/10.5037/jomr.2016.7202>
- Graetz, C., Mann, L., Krois, J., Sälzer, S., Kahl, M., Springer, C., & Schwendicke, F. (2019). Comparison of periodontitis patients' classification in the 2018 versus 1999 classification. *Journal of Clinical Periodontology*, 46(9), 908–917. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13157>
- Grover, H., Bhardwaj, A., & Singh, Y. (2013). SMOKING AND PERIODONTAL DISEASE. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 2, 7–13. <https://doi.org/10.7897/2277-4572.02202>
- Gupta, N., Agrawal, D., Gupta, N., Khan, S., & Singh, P. (2016). Effect of smoking on potential salivary markers of periodontal disease: A clinical and biochemical study. *Journal of Indian Association of Public Health Dentistry*, 14, 377–382. <https://doi.org/10.4103/2319-5932.195846>
- Heikkinen, A., Mäntylä, P., Leppilähti, J., Rathnayake, N., Meurman, J., & Sorsa, T. (2015). *Oral Fluid Biomarkers in Smoking Periodontitis Patients and Systemic Inflammation*. <https://doi.org/10.5772/59813>

- Holbrook, J., Lara-Reyna, S., Jarosz-Griffiths, H., & McDermott, M. (2019). Tumour necrosis factor signalling in health and disease [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*, 8, 1–12. <https://doi.org/10.12688/f1000research.17023.1>
- Ii, S., & Iii, S. (2020). *Frequently Asked Questions on the 2018 Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions*. 2018–2020.
- Jaedicke, K. M., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2016). Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 70(1), 164–183. <https://doi.org/10.1111/prd.12117>
- Jepsen, S. (2018). New classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *British Dental Journal*, 225(1), 5. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2018.559>
- Kalliolias, G. D., Ivashkiv, L. B., & Program, T. D. (2016). *strategies*. 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169>
- Kanmaz, B., Lamont, G., Danaci, G., Gogeneni, H., Buduneli, N., & Scott, D. A. (2019). Microbiological and biochemical findings in relation to clinical periodontal status in active smokers, non-smokers, and passive smokers. *Tobacco Induced Diseases*, 17(March), 1–6. <https://doi.org/10.18332/tid/104492>
- Komar, K., Glavina, A., Boras, V. V., Verzak, Ž., & Brailo, V. (2018). Impact of smoking on oral health: Knowledge and attitudes of dentists and dental students. *Acta Stomatologica Croatica*, 52(2), 148–155. <https://doi.org/10.15644/asc52/2/8>
- Korte, D. L., & Kinney, J. (2016). Personalized medicine: An update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 70(1), 26–37. <https://doi.org/10.1111/prd.12103>
- Lavu, V., Venkatesan, V., Venugopal, P., Lakkakula, B. V. K. S., Paul, S. F. D., Peria, K., & Rao, S. R. (2017). Clinical Relevance of Cytokines Gene Polymorphisms and Protein Levels in Gingival Cervical Fluid from Chronic Periodontitis Patients. *Iranian Journal of Immunology: IJI*, 14(1), 51–58
- Leite, F. R. M., Nascimento, G. G., Scheutz, F., & López, R. (2018). Effect of Smoking on Periodontitis: A Systematic Review and Meta-regression. *American Journal of Preventive Medicine*, 54(6), 831–841. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2018.02.014>

- Lertpimonchai, A., Rattanasiri, S., Arj-Ong Vallibhakara, S., Attia, J., & Thakkinstian, A. (2017). The association between oral hygiene and periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *International Dental Journal*, 67(6), 332–343. <https://doi.org/10.1111/idj.12317>
- MacEwan, D. J. (2002). TNF ligands and receptors--a matter of life and death. *British Journal of Pharmacology*, 135(4), 855–875. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704549>
- Machado, V. (2019). The Prevalence of Periodontal Diseases in Portugal and Correspondent Digital National Awareness: Analysis of Data from Global Burden of Disease, Directorate-General of Health and Google Trends for the Period 2004-2017. February. <https://doi.org/10.20944/preprints201902.0123.v1>
- Madureira, D. F., Lucas De Abreu Lima, I., Costa, G. C., Lages, E. M. B., Martins, C. C., & Aparecida Da Silva, T. (2018). Tumor Necrosis Factor-alpha in Gingival Crevicular Fluid as a Diagnostic Marker for Periodontal Diseases: A Systematic Review. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 18(4), 315–331. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2018.04.001>
- Martínez-Aguilar, V. M., Carrillo-Ávila, B. A., Sauri-Esquivel, E. A., Guzmán-Marín, E., Jiménez-Coello, M., Escobar-García, D. M., & Pozos-Guillén, A. (2019). Quantification of TNF- α in Patients with Periodontitis and Type 2 Diabetes. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7984891>
- Martu, I., Goriuc, A., Luchian, I., Holban, C.C., Macovei, A.S., Tatarciuc, M., Balan, A., Martu, S. (2014). The quantification of TNF α as a marker in the assessment of the chronic and aggressive-periodontal pathology. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation*, 6(4), 92–98.
- Medler, J., & Wajant, H. (2019). Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): An overview of an emerging drug target. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 23(4), 295–307. <https://doi.org/10.1080/14728222.2019.1586886>
- Nazir, M. A. (2018). Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences*, 11(2), 72–80.
- Pan, W., Wang, Q., & Chen, Q. (2019). The cytokine network involved in the host immune response to periodontitis. *International Journal of Oral Science*, 11(3). <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0064-z>

- Parameswaran, N., & Patial, S. (2010). Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 20(2), 87–103. <https://doi.org/10.1615/critreveukargeneexpr.v20.i2.10>
- Patel, R. P., Amirisetty, R., Kalakonda, B., Penumatsa, N. V., & Koppolu, P. (2018). Influence of Smoking on Gingival Crevicular Fluid Interleukin 1 β and Interleukin-8 in Patients with Severe Chronic Periodontitis among a Rural Population in India. *Nigerian medical journal: journal of the Nigeria Medical Association*, 59(4), 33–38. https://doi.org/10.4103/nmj.NMJ_142_17
- Pavan A., J. G. and P. R. (2015). Biomarkers in periodontal disease. *Dental, Oral and Craniofacial Research*, 1(2), 48–52. <https://doi.org/10.15761/docr.1000111>
- Qu, Y., Zhao, G., & Li, H. (2017). Forward and reverse signaling mediated by transmembrane tumor necrosis factor-alpha and TNF receptor 2: Potential roles in an immunosuppressive tumor microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 8(NOV). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01675>
- Romito, G. A. (2020). Periodontal disease and its impact in Latin America. *Brazilian Oral Research*, 34(c), e028. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0028>
- Ryder, M. I., Saghizadeh, M., Ding, Y., Nguyen, N., & Soskolne, A. (2002). Effects of tobacco smoke on the secretion of interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α , and transforming growth factor- β from peripheral blood mononuclear cells. *Oral Microbiology and Immunology*, 17(6), 331–336. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2002.170601.x>
- Saha, S. P., Bhalla, D. K., Wayne, T. F., & Gairola, C. G. (2007). Cigarette smoke and adverse health effects: An overview of research trends and future needs. *International Journal of Angiology*, 16(3), 77–83. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1278254>
- Shewale, A. H., Gattani, D. R., Bhatia, N., Mahajan, R., & Saravanan, S. P. (2016). Prevalence of periodontal disease in the general population of India-A systematic review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(6), ZE04–ZE09. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/17958.7962>

- Singh, P., Gupta, N. D., Bey, A., & Khan, S. (2014). Salivary TNF-alpha: A potential marker of periodontal destruction. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18(3), 306–310. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.134566>
- Srinivas, S. K., & Parry, S. (2012). Periodontal disease and pregnancy outcomes: Time to move on? *Journal of Women's Health*, 21(2), 121–125. <https://doi.org/10.1089/jwh.2011.3023>
- STEFFENS, J. P., & 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), 189–197. <https://doi.org/10.1590/1807-2577.04704>
- Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>
- Sun, H. Y., Jiang, H., Du, M. Q., Wang, X., Feng, X. P., Hu, D. Y., Lin, H. C., Wang, B., Si, Y., Wang, C. X., Zheng, S. G., Liu, X. N., Rong, W. S., Wan, W. J., & Tai, B. J. (2018). The Prevalence and Associated Factors of Periodontal Disease among 35 to 44-year-old Chinese Adults in the 4th National Oral Health Survey. *The Chinese Journal of Dental Research: The Official Journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association (CSA)*, 21(4), 241–247. <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.a41082>
- Taba Jr, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, 49(3), 551–vi. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2005.03.009>
- Tawfig, N. (2016). Proinflammatory Cytokines and Periodontal Disease. *Journal of Dental Problems and Solutions*, 3, 012–017. <https://doi.org/10.17352/2394-8418.000026>
- Tettamanti, L., Lauritano, D., Nardone, M., Gargari, M., Silvestre-Rangil, J., Gavoglio, P., & Tagliabue, A. (2017). Pregnancy and periodontal disease: Does exist a two-way relationship? *ORAL and Implantology*, 10, 112–118. <https://doi.org/10.11138/orl/2017.10.2.112>

- Varghese, S. S., Thomas, H., Jayakumar, N. D., Sankari, M., & Lakshmanan, R. (2015). Estimation of salivary tumor necrosis factor-alpha in chronic and aggressive periodontitis patients. *Contemporary Clinical Dentistry*, 6(Suppl 1), S152-6. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.166816>
- West, R. (2017). Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates, and interventions. *Psychology and Health*, 32(8), 1018–1036. <https://doi.org/10.1080/08870446.2017.1325890>
- Whiting, R., Antoine, D., & Hillson, S. (2019). Periodontal disease and ‘oral health’ in the past: new insights from ancient Sudan on a very modern problem. *Dental Anthropology Journal*, 32(2), 30–50. <https://doi.org/10.26575/daj.v32i2.288>
- Zahraa F. Shaker, & Hashem, B. H. (2012). Study The Role of Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in Iraqi Chronic Periodontitis Patients. *J Bagh College Dentistry*, 24(1), 164–169.
- Zelová, H., & Hošek, J. (2013). TNF- α signalling and inflammation: Interactions between old acquaintances. *Inflammation Research*, 62(7), 641–651. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0633-0>
- Zhang, Q., Chen, B., Zhu, D., & Yan, F. (2016). Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. *Archives of Oral Biology*, 72, 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.08.020>
- Zhang, Y., He, J., He, B., Huang, R., & Li, M. (2019). Effect of tobacco on periodontal disease and oral cancer. *Tobacco Induced Diseases*, 17(May), 1–15. <https://doi.org/10.18332/tid/106187>