

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS DA
PERIODONTITE**

Trabalho submetido por

Margaux Françoise Ginette Vroylandt

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS DA PERIODONTITE

Trabalho submetido por

Margaux Françoise Ginette Vroylandt

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por

Doutor Carlos Monteiro

Trabalho coorientado por

Doutora Júlia Antunes

setembro de 2025

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Doutor Carlos Monteiro, o meu sincero agradecimento pelo acompanhamento dedicado, pela orientação segura e pela constante disponibilidade ao longo deste percurso. A sua partilha de conhecimento e os seus conselhos foram fundamentais para a concretização deste trabalho.

A minha coorientadora, Prof. Doutora Júlia Antunes agradeço a atenção, a colaboração e os contributos valiosos que enriqueceram de forma significativa esta tese.

Finalmente, agradeço calorosamente à **Egas Moniz School of Health & Science** por estes cinco anos maravilhosos.

Aos meus pais, muito obrigada por me terem dado a educação que fez de mim a pessoa que sou hoje e a mulher em que me estou a tornar. Estou profundamente grata por tudo. Foi graças a vocês que consegui chegar até aqui. Desde sempre acreditaram em mim, apoiaram todas as minhas escolhas e fizeram sacrifícios para que eu pudesse realizar os meus sonhos, com amor e benevolência. São um exemplo de vida e uma fonte constante de inspiração. Muito obrigada por tudo.

Aos meus irmãos, Arthur e Eloi, que sempre estiveram ao meu lado. Obrigada pelo vosso apoio incondicional, pelos vossos incentivos constantes e pela cumplicidade que me deu força para seguir em frente nos momentos mais difíceis. Estou infinitamente grata por vos ter na minha vida. A vossa confiança em mim foi um motor essencial neste percurso, e dedico-vos também uma parte desta conquista, que sem vocês não teria sido tão bonita.

À minha avó, obrigada por todo o teu carinho e incentivo, e ao meu avô, que nunca deixou de me encorajar a estudar, a seguir uma longa formação e a construir uma bela carreira. Espero que ele se orgulhasse de mim hoje, por ter realizado o meu sonho.

Aos meus amigos de França, mesmo estando longe durante estes cinco anos em Lisboa, vocês estiveram sempre presentes. Obrigada pelo vosso apoio, pelos vossos incentivos e pela vossa amizade fiel ao longo de todo este percurso.

À Ines, minha amiga, minha colega de casa, minha parceira de clínica e verdadeiro pilar durante estes cinco anos em Lisboa. Obrigada por todos os momentos partilhados, pelas gargalhadas, pelo apoio nos momentos difíceis — sem ti, esta experiência não teria sido a mesma. Este é apenas o início de uma longa e bela amizade.

Quero agradecer especialmente à Marguerite, ao Pierre e ao Louis, que conheci logo no primeiro ano. Rapidamente formámos um quarteto, como se fosse uma evidência, e espero de todo o coração que estes laços durem para a vida inteira.

Uma palavra especial para ti, Marguerite, minha cúmplice: desde a nossa chegada, passámos juntas por todas as etapas, desde o primeiro dia na residência até ao último na clínica. Estiveste presente nas gargalhadas, nas lágrimas, nas dúvidas e nas vitórias. Encontrei muito mais do que uma simples amiga — encontrei uma verdadeira irmã de coração.

Aos meus amigos de Portugal — Arthur, Marine, Corentin, Valentin, Anna, Anatole, Baptiste, Mayou, Arthur, Goms, Paul, Hermine, Emma, Thibault, Robin, Solène, Manon, Marie-Émilie, Aurore e Enguerrand — obrigada por tornarem estes cinco anos simplesmente inesquecíveis. Rimos tanto, partilhámos tanto e vivemos tanto juntos que levarei estas memórias comigo para toda a vida. Isto não é um adeus, porque sei que nos voltaremos a ver, nos quatro cantos de França.

RESUMO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte dos dentes — gengiva, ligamento periodontal e osso alveolar. Resulta de uma resposta imunológica exacerbada às bactérias da placa dentária, levando à destruição progressiva desses tecidos. Sem tratamento, pode causar mobilidade dentária e, em estádios avançados, perda dos dentes. O seu desenvolvimento envolve interações complexas entre microrganismos patogênicos, respostas inflamatórias do hospedeiro e fatores ambientais, como o tabagismo. Assim, compreender a etiologia, a patogenia, os fatores de risco e os protocolos terapêuticos é essencial para uma gestão eficaz. O diagnóstico precoce e a eliminação das causas e fatores modificáveis constituem a base da prevenção e do tratamento.

Os biomarcadores bioquímicos são moléculas mensuráveis que refletem processos biológicos, patológicos ou respostas terapêuticas. Na periodontite, incluem proteínas inflamatórias, enzimas associadas à degradação dos tecidos e outros compostos que indicam a atividade da doença. A sua análise ajuda a avaliar a gravidade, a evolução e a orientar decisões clínicas.

O fluido gengival crevicular, localizado no sulco entre dente e gengiva, é uma fonte rica em biomarcadores, contendo células, proteínas e mediadores que refletem o estado inflamatório local. A avaliação desses marcadores mostra correlação entre os seus níveis e a severidade da doença. Citocinas e enzimas específicas associam-se a quadros mais graves, fornecendo uma visão direta da destruição tecidual.

O estudo desses biomarcadores nos fluidos gengivais constitui, assim, uma estratégia promissora para monitorizar a doença e personalizar o tratamento, contribuindo para uma gestão clínica mais precisa.

Palavras-chaves: Biomarcadores bioquímicos, Periodontite, Fluido gengival, Correlação.

ABSTRACT

Periodontitis is a chronic inflammatory disease affecting the supporting tissues of the teeth, including the gingiva, periodontal ligament, and alveolar bone. It develops from an exaggerated immune response to bacteria in dental plaque, leading to the progressive destruction of periodontal structures. If left untreated, the condition can cause tooth mobility and, in advanced cases, tooth loss. Its progression results from complex interactions among pathogenic microorganisms, host immune responses, and environmental factors such as smoking. Understanding its etiology, pathogenesis, risk factors, and treatment strategies is crucial for effective management. Early diagnosis, along with the elimination of causative agents and reduction of modifiable risks, remains the cornerstone of prevention and therapy.

Biochemical biomarkers are measurable molecules that reflect biological or pathological processes and therapeutic responses. In periodontitis, these biomarkers include inflammatory cytokines, enzymes related to tissue degradation, and other mediators indicating disease activity. Their analysis offers valuable information on disease severity, progression, and response to treatment, supporting clinical decision-making.

Gingival crevicular fluid, located in the sulcus between the tooth and gingiva, is a particularly rich source of such biomarkers. It contains cells, proteins, and inflammatory mediators that closely mirror the local periodontal status. Studies reveal strong correlations between biomarker levels and disease severity: elevated cytokines and proteolytic enzymes are often linked to more advanced cases.

Therefore, the investigation of biochemical biomarkers in gingival crevicular fluid represents a promising approach for assessing disease severity, monitoring progression, and individualizing therapy, thereby enhancing the precision of periodontal disease management.

Keywords: Biochemical Biomarkers, Periodontitis, Gingival Fluid, Correlation.

RÉSUMÉ

La parodontite est une maladie inflammatoire chronique qui affecte les tissus de soutien des dents, notamment la gencive, le ligament parodontal et l'os alvéolaire. Elle résulte d'une réponse immunitaire excessive face aux bactéries de la plaque dentaire, provoquant une destruction progressive des structures parodontales. Non traitée, elle peut entraîner une mobilité dentaire et, dans les cas avancés, une perte des dents. Son développement découle d'interactions complexes entre bactéries pathogènes, réactions inflammatoires de l'hôte et facteurs environnementaux tels que le tabagisme. La compréhension de son étiologie, de sa pathogenèse, de ses facteurs de risque et des approches thérapeutiques est essentielle à une prise en charge efficace. Le diagnostic précoce, associé à l'élimination des causes et à la réduction des facteurs modifiables, demeure la base de la prévention et du traitement.

Les biomarqueurs biochimiques sont des molécules mesurables reflétant des processus biologiques, pathologiques ou thérapeutiques. Dans la parodontite, ils incluent des protéines inflammatoires, des cytokines et des enzymes liées à la dégradation tissulaire. Leur analyse permet d'évaluer la gravité, la progression et la réponse au traitement, contribuant ainsi à une meilleure orientation clinique.

Le fluide gingival créviculaire, situé entre la dent et la gencive, représente une source riche en biomarqueurs. Il contient cellules, protéines et médiateurs reflétant l'état inflammatoire local. L'augmentation de certaines cytokines et enzymes est corrélée à des formes plus sévères, fournissant une image directe des processus inflammatoires.

L'étude de ces biomarqueurs constitue ainsi une approche prometteuse pour évaluer la sévérité, suivre l'évolution et personnaliser la prise en charge de la parodontite.

Mots-clés : Biomarqueurs biochimiques, Parodontite, Fluide gingival, Corrélation.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	15
2. DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1. PERIODONTITE: DOENÇA PERIODONTAL.....	17
2.1.1. <i>Definição</i>	17
2.1.2. <i>Anatomia</i>	18
2.1.2.1. Anatomia geral	18
2.1.2.2. Anatomia do periodonto	20
2.1.3. <i>Epidemiologia</i>	23
2.1.4. <i>Patogénese da periodontite</i>	25
2.1.5. <i>Aspeto microbiológico da periodontite</i>	26
2.1.6. <i>Aspeto imunológico da periodontite</i>	28
2.1.7. <i>Fatores de risco da periodontite</i>	30
2.1.8. <i>Classificação</i>	33
2.2. BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS DA PERIODONTITE	35
2.2.1. <i>Compreensão dos biomarcadores bioquímicos</i>	35
2.2.2. <i>Relevância dos biomarcadores no contexto da periodontite</i>	36
2.2.3. <i>Tipos de biomarcadores bioquímicos na periodontite</i>	37
2.2.4. <i>Mecanismos de ação dos biomarcadores bioquímicos</i>	42
2.3. FONTES BIOLÓGICAS PARA A ANÁLISE DOS BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS NA PERIODONTITE.....	43
2.3.1. <i>Fluido Gengival Crevicular (FGC)</i>	43
2.3.1.1. Natureza e Origem do FGC	43
2.3.1.2. Composição Bioquímica.....	45
2.3.1.3. Relevância Clínica e Limites	46
2.3.2. <i>Sangue Periférico</i>	47
2.3.2.1. Papel na Periodontite	47
2.3.2.2. Biomarcadores Sanguíneos estudados.....	47
2.3.2.3. Interesse Clínico	48
2.3.3. <i>Comparação das fontes biológicas</i>	48
2.3.3.1. FGC VS Saliva VS Sangue	48
2.3.3.2. Vantagens do FGC em relação à Saliva e ao Sangue Periférico	49
2.4. IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DOS BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS	50

2.5.	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO E ANÁLISE DOS BIOMARCADORES NO FGC E NA SALIVA	50
2.5.1.	<i>Biomarcadores principais analisados com estas Técnicas</i>	53
2.5.2.	<i>Fiabilidade, sensibilidade e limites dos métodos atuais de análise dos Biomarcadores</i>	55
2.6.	CORRELAÇÃO ENTRE OS BIOMARCADORES E A GRAVIDADE DA PERIODONTITE	56
2.6.1.	<i>Estudos Clínicos</i>	57
2.6.2.	<i>Implicações clínicas: utilização dos Biomarcadores para um diagnóstico precoce e personalizado</i>	59
2.7.	PERSPETIVAS FUTURAS	60
2.7.1.	<i>Investigações em curso</i>	60
2.7.2.	<i>Aplicações potenciais na prática clínica</i>	61
2.7.3.	<i>Desafios e Limitações</i>	63
3.	CONCLUSÃO	65
4.	BIBLIOGRAFIA	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Comparação entre o periodonto saudável e o periodonto afetado pela periodontite. (Adaptado a partir de Yohan Ragné 2025).....	18
Figura 2. Anatomia geral do dente. (Ilustração adaptado a partir de Lang et al 2021).....	19
Figura 3 Anatomia gengival. (Ilustração adaptado a partir de Lang et al 2021).....	22
Figura 4 Complexo microbiano da placa dentaria. (Adaptado de Socransky et al. 1998).....	28
Figura 5 Representação esquemática da resposta inflamatória no periodonto (Adaptado a partir de Yohan Ragné 2025).....	30
Figura 6 Trajeto do Fluido Gengival Crevicular (FGC) e fatores que influenciam a permeabilidade epitelial Ilustração própria.....	45

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 Classificação atual dos estadios da doença periodontal, adaptado de (Caton JG et al., 2018).....	34
TABELA 2 Classificação atual dos graus de gravidade da doença periodontal, adaptada de (Caton JG et al., 2018).....	35
TABELA 3 comparativa das principais técnicas de análise de biomarcadores na saliva e no fluido gengival crevicular. Ilustração própria.....	52
TABELA 4 dos biomarcadores que atuam na periodontite com o seu método de detecção. Ilustração própria.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÔNIMOS E SIGLAS

AAP – *American Academy of Periodontology* (Academia Americana de Periodontologia)

aMMP-8 – *Metalopeptidase-8 ativa*

CPR – *Proteína C-reativa*

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio imunoenzimático ligado a enzima)

EFP – *European Federation of Periodontology* (Federação Europeia de Periodontologia)

FGC – *Fluído Gengival Crevicular*

Gram+ – *Bactérias Gram-positivas*

Gram- – *Bactérias Gram-negativas*

HNE – *Neutrófilos humanos (Human Neutrophil Elastase)*

IL-1 β – *Interleucina-1 beta*

IL-6 – *Interleucina-6*

IL-8 – *Interleucina-8*

IL-10 – *Interleucina-10*

IL-17 – *Interleucina-17*

IL-23 – *Interleucina-23*

JAC – *Junção amelo-cementária*

LPD – *Ligamento periodontal*

LPS – *Lipopolissacarídeos*

M1 – *Macrófagos do fenótipo M1 (pró-inflamatórios)*

MMPs – *Metaloproteinases da matriz*

OMS – *Organização Mundial da Saúde*

8-OHdG – *8-hidroxi-2'-desoxiguanosina*

OPG – *Osteoprotegerina*

PCR – *Reação em Cadeia da Polimerase*

PGE2 – *Prostaglandina E2*

RANKL – *Ligando do Receptor Ativador do Fator Nuclear Kappa-B*

TGF- β – *Fator de crescimento transformador beta (Transforming Growth Factor Beta)*

Th17 – *Linfócitos T CD4+ produtores de IL-17*

TNF- α – *Fator de necrose tumoral alfa*

Treg – *Linfócitos T reguladores*

VEGF-A – *Fator de crescimento endotelial vascular A (Vascular Endothelial Growth Factor A)*

1. INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte dos dentes, nomeadamente as gengivas, o ligamento periodontal e o osso alveolar. Resulta de uma resposta imunitária exacerbada às bactérias presentes na placa dentária, levando à destruição progressiva destas estruturas. Se não for tratada, a periodontite pode evoluir para uma maior mobilidade dentária e até para a perda dos dentes, constituindo assim um problema de saúde pública significativo. Esta patologia multifatorial baseia-se em interações complexas entre bactérias patogénicas específicas, a resposta imunitária do hospedeiro e diversos fatores ambientais, como o tabagismo, o stress ou certas doenças sistémicas.

Neste contexto, a pesquisa de biomarcadores bioquímicos representa um avanço essencial para melhorar o diagnóstico e a abordagem terapêutica da periodontite. Os biomarcadores são moléculas mensuráveis que permitem avaliar um processo biológico ou patológico. Desempenham um papel fundamental na deteção precoce da doença, no seu acompanhamento e na avaliação da resposta ao tratamento. O fluido gengival crevicular (FGC), um líquido biológico localizado no sulco gengival, é uma fonte valiosa de biomarcadores, pois contém células, proteínas e enzimas envolvidas na resposta inflamatória local. A sua análise permite obter informações precisas sobre o estado de saúde dos tecidos periodontais e acompanhar a evolução da doença.

Várias investigações demonstraram a existência de correlações entre os níveis de certos biomarcadores no FGC e a gravidade da periodontite. Entre eles, as citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 β (IL-1 β), as metaloproteínas da matriz (MMP) e outras enzimas específicas estão frequentemente associadas a uma progressão mais rápida da doença. A análise destes biomarcadores poderia permitir a identificação dos pacientes com maior risco e a adaptação das estratégias terapêuticas em conformidade.

O objetivo desta tese é avaliar os biomarcadores bioquímicos presentes nos fluidos gengivais para estabelecer correlações com a gravidade da periodontite. Ao identificar e analisar estes marcadores, seria possível melhorar o diagnóstico, compreender melhor os mecanismos fisiopatológicos da doença e otimizar os protocolos de

tratamento. Esta abordagem poderia, assim, contribuir para o desenvolvimento de uma medicina dentária mais personalizada e eficaz na gestão da periodontite.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Periodontite: Doença Periodontal

2.1.1. Definição

A periodontite é uma doença inflamatória crónica que afeta os tecidos de suporte do dente: a gengiva, o ligamento periodontal, o cimento radicular e o osso alveolar. Caracteriza-se por uma perda progressiva de inserção e por reabsorção óssea que, em fases avançadas, pode levar à perda dos dentes. Atualmente, é uma das principais causas de edentulismo nos adultos e representa um problema importante de saúde pública pela sua elevada prevalência e pelo impacto na saúde geral (Kinane, Stathopoulou, & Papapanou, 2017; Nazir, 2017; Germen et al., 2021; Relvas et al., 2022).

Este processo patológico começa com a formação de um biofilme bacteriano, conhecido como placa bacteriana. O biofilme é definido como uma comunidade de microrganismos organizada, que adere às superfícies dentárias e está integrada numa matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos. Ele contém principalmente bactérias, mas também fungos, vírus, protozoários e arqueias (Marsh & Zaura, 2017; Lamont, Koo, & Hajishengallis, 2018).

Em situação de saúde periodontal, este biofilme é dominado por bactérias comensais que vivem num ambiente aeróbio, rico em oxigénio. As espécies mais comuns são cocos e bacilos Gram positivos como *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Veillonella*, que ajudam a manter o equilíbrio microbiano e a proteger os tecidos gengivais (Lamont et al., 2018; Oliveira Monteiro et al., 2025; Figura 1).

Quando a higiene oral é insuficiente e a placa se acumula, o biofilme migra para um ambiente anaeróbio, pobre em oxigénio, localizado no sulco gengival e nas bolsas periodontais. Esta mudança ecológica provoca disbiose e favorece o crescimento de bactérias anaeróbias estritas patogénicas como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, conhecidas como o “complexo vermelho” descrito por (Socransky et al. 1998). Estas espécies estão fortemente associadas às formas graves da doença e à destruição óssea (Hajishengallis, 2015; Socransky et al., 1998).

Clinicamente, a periodontite apresenta sinais característicos: inflamação gengival, hemorragia a sondagem, formação de bolsas periodontais, perda de inserção, mobilidade dentária e reabsorção óssea visível em radiografia (StatPearls, 2022; Clinical and Radiographic, 2021).

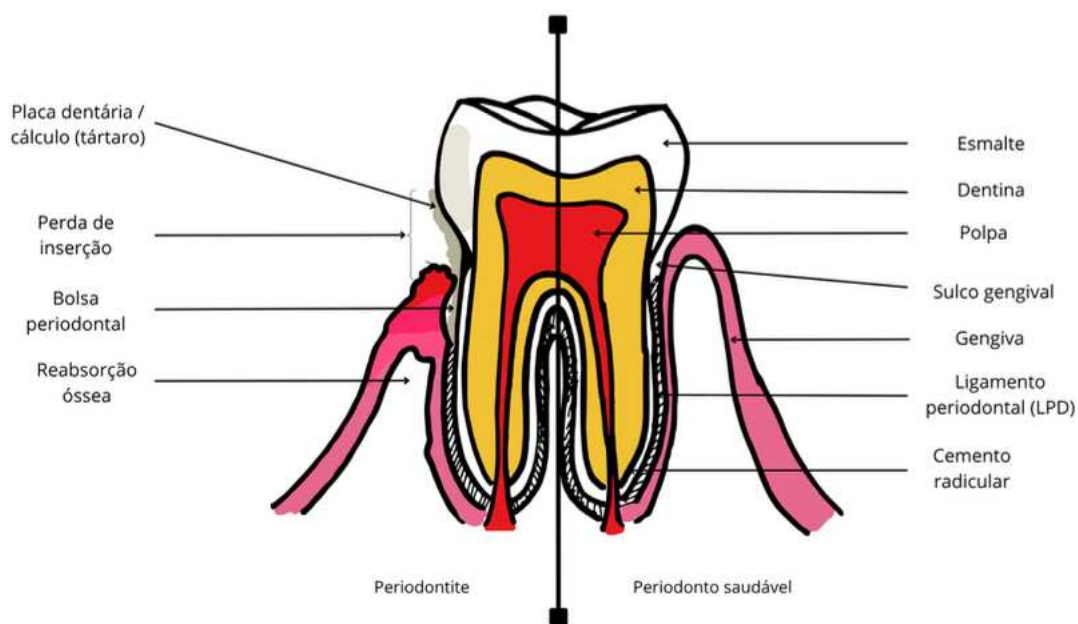


Figura 1 Comparação entre o periodonto saudável e o periodonto afetado pela periodontite. Adaptado a partir de Yohan Ragné (2025)

2.1.2. Anatomia

2.1.2.1. Anatomia geral

Os dentes são órgãos mineralizados especializados, essenciais para a mastigação, a fala e a estética. Eles são compostos por duas partes principais: a coroa, visível na boca, e a raiz, inserida no osso alveolar e responsável pela fixação do dente (Ten Cate, 2013). A junção entre a coroa e a raiz é chamada de junção amelo-cementaria (JAC).

Em termos de tecidos, cada dente é formado por quatro componentes principais (Figura 2):

Esmalte: o tecido mais mineralizado do organismo, composto por mais de 95% de hidroxiapatita. Ele cobre a coroa e protege o dente contra agressões mecânicas e químicas. É muito resistente, mas não consegue regenerar-se (Simmer & Hu, 2002).

Dentina: tecido calcificado menos mineralizado que o esmalte, formando a maior parte da estrutura do dente. Possui túbulos dentinários que transmitem estímulos mecânicos, térmicos ou químicos para a polpa (Ten Cate, 2013).

Polpa dentária: tecido conjuntivo localizado no centro do dente, contendo vasos sanguíneos, nervos e células mesenquimatosas. Tem um papel fundamental na nutrição, defesa e formação de dentina através dos odontoblastos (Goldberg, 2011).

Cemento: tecido mineralizado que cobre a raiz dentária, permitindo a inserção das fibras do ligamento periodontal. Garante a fixação do dente na sua cavidade e participa nos processos de reparação (Lang et al., 2021).

Estes tecidos funcionam em conjunto: o esmalte e a dentina dão resistência, a polpa assegura a vitalidade, e o cemento integra o dente ao sistema de suporte. Assim, o dente deve ser estudado sempre em ligação com o periodonto (osso alveolar, ligamento periodontal e gengiva), que garantem estabilidade e proteção (Fiorellini et al., 2012).

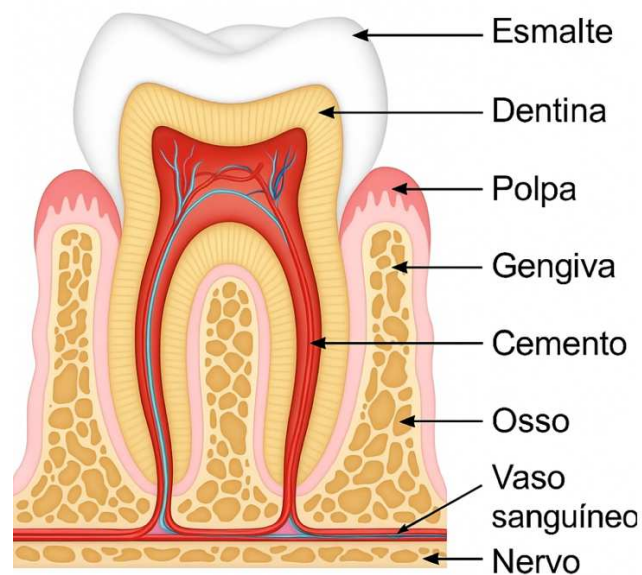


Figura 2. Anatomia geral do dente. Ilustração adaptado a partir de Lang et al (2021)

2.1.2.2. Anatomia do periodonto

O periodonto é o conjunto de tecidos que suportam e mantêm os dentes no osso alveolar. É formado por quatro componentes: o osso alveolar, o cimento, o ligamento periodontal e a gengiva (Fiorellini et al., 2012; Lang et al., 2021).

Osso alveolar

O processo alveolar corresponde à parte dos maxilares que envolve e sustenta os dentes. É constituído por três partes: uma placa cortical externa, um osso trabecular esponjoso e o osso alveolar propriamente dito, que aparece como lamina duras em radiografias (Fiorellini et al., 2012). A espessura e a forma deste osso variam consoante a região anatómica e dependem da posição, tamanho e função dos dentes. Esta dependência funcional explica porque a reabsorção óssea pode ocorrer após perda dentária ou em casos de doença periodontal (Panagakos & Davies, 2011).

Cimento

O cimento radicular é um tecido mineralizado, sem vasos sanguíneos e sem nervos, que cobre a raiz do dente. A sua principal função é permitir a fixação das fibras do ligamento periodontal (fibras de Sharpey). Diferente do osso, o cimento não sofre remodelação fisiológica, mas continua a depositar-se ao longo da vida (Lang et al., 2021).

Existem diferentes tipos de cimento:

- Cimento acelular afibrilar (na zona cervical).
- Cimento acelular com fibras extrínsecas (nas partes coronárias).
- Cimento celular com fibras mistas (nas zonas apicais e furcações).
- Cimento celular com fibras intrínsecas (mais relacionado com processos de reparação) (Fiorellini et al., 2012).

Ligamento periodontal

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo especializado que liga o cimento radicular ao osso alveolar. É composto por fibras de colagénio organizadas em feixes, formando grupos distintos: apicais, oblíquos, horizontais e alveolares. Este sistema garante a estabilização do dente, amortece as forças mastigatórias e protege as estruturas vizinhas. Também contém vasos sanguíneos e nervos, desempenhando um papel na nutrição e na propriocepção (Lang et al., 2021). Além destas fibras principais, existem

fibras gengivais (circulares, dento-gengivais, dento- periosteais e transeptais), que ajudam a manter a gengiva e os tecidos moles ao redor (Fiorellini et al., 2012). O ligamento também possui fibras elásticas especiais chamadas fibras oxitalânicas, localizadas sobretudo perto dos vasos sanguíneos. Estas participam na percepção e adaptação às forças mecânicas. A sua matriz contém glicoproteínas, proteoglicanos e várias células especializadas, como fibroblastos, cementoblastos e osteoblastos, que asseguram a manutenção e regeneração dos tecidos (Fiorellini et al., 2012).

Anatomia gengival

Gengiva marginal (livre)

A gengiva marginal é a parte terminal não aderida da gengiva, que envolve o dente como um colar. Forma a parede externa do sulco gengival, acompanhando a curvatura da junção amelo-cementaria. Em situação saudável, é firme, de cor rosa-clara, e tem cerca de 1 mm de largura. Está separada da gengiva aderida pelo sulco gengival, uma pequena depressão que marca o limite anatómico entre as duas. A profundidade do sulco, medida com uma sonda periodontal, varia normalmente entre 1,5 e 2 mm em indivíduos saudáveis (Fiorellini et al., 2012).

Gengiva aderida

A gengiva aderida está firmemente unida ao perióstio do osso alveolar e ao cemento radicular através de fibras conjuntivas. Estende-se desde o sulco gengival até à linha muco gengival. É um tecido firme, elástico e com aspeto granuloso, por vezes descrito como “casca de laranja”. A largura varia consoante a região: é mais larga na zona dos incisivos maxilares e mais estreita na dos pré-molares mandibulares. A espessura da gengiva pode variar entre 1 e 9 mm, aumentando ligeiramente com a idade (Bhatia et al., 2015).

Para melhor compreensão destas estruturas, apresenta-se de seguida um esquema ilustrativo que evidencia as diferentes partes da gengiva marginal, aderida e mucosa alveolar e a sua relação anatómica com o dente e o osso alveolar (Figura 3).

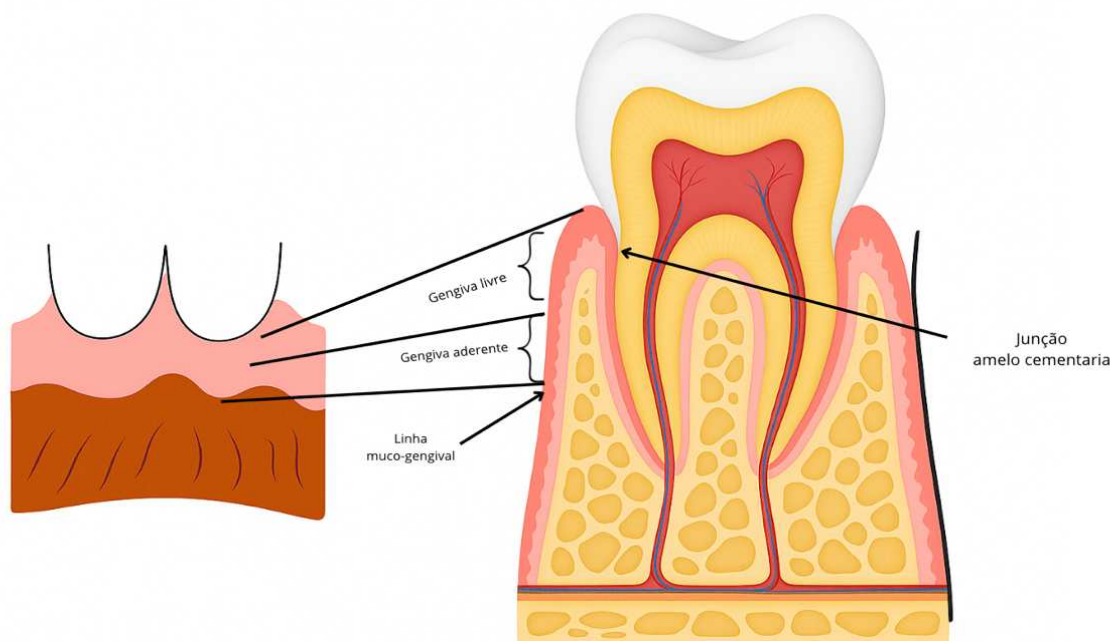


Figura 3 Anatomia gengival. *Ilustração própria.*

Gengiva papilar (interdental)

A gengiva papilar localiza-se entre dentes adjacentes, preenchendo o espaço interproximal. Tem forma piramidal nas regiões anteriores e forma côncava (denominada “col”) nos setores posteriores (Patel et al., 2024). Tem um papel essencial na proteção biológica das estruturas profundas e na estética do sorriso (Tanwar et al., 2016; Patel et al., 2024). A sua altura depende da distância entre o ponto de contacto dentário e a crista óssea, bem como da morfologia dentária e do eixo radicular (Tanwar et al., 2016).

Anatomia histológica

Epitélio oral

O epitélio oral é um tecido pavimentoso estratificado queratinizado, formado principalmente por queratinócitos. Está organizado em quatro camadas: a camada basal, responsável pela regeneração celular; a camada espinhosa; a camada granulosa; e a camada córnea, que forma uma barreira protetora graças ao acúmulo de queratina. Este epitélio reveste as superfícies expostas da cavidade oral e tem uma função essencial na proteção mecânica e contra agressões microbianas (Lang et al., 2021; Panagakos & Davies, 2011).

Epitélio sulcular

O epitélio sulcular reveste a face interna da gengiva marginal, na zona do sulco gengival. É estratificado, pavimentoso e não queratinizado, o que o torna mais permeável do que o epitélio oral. Funciona como uma interface entre o meio oral e os tecidos internos, atuando como uma membrana semipermeável que permite a passagem de líquidos e mediadores de defesa (Fiorellini et al., 2012).

Epitélio juncional

O epitélio juncional é um tecido não queratinizado, caracterizado por baixa coesão entre células. Liga a gengiva à superfície dentária através de uma lâmina basal interna (adesão ao esmalte por hemidesmossomas) e uma lâmina basal externa voltada para o tecido conjuntivo. Tem uma renovação celular rápida e desempenha um papel essencial na defesa local, facilitando a migração de células inflamatórias para o sulco (Nakamura, 2018).

Tecido conjuntivo (lâmina própria)

O tecido conjuntivo gengival, ou lâmina própria, é formado principalmente por fibras de colagénio (tipos I e III), fibroblastos, vasos, nervos e substância fundamental extracelular. Divide-se em duas zonas: a camada papilar, logo abaixo do epitélio, e a camada reticular, mais profunda e em contacto com o periosteó alveolar. Outros tipos de colagénio, como o IV, VI e XII, contribuem respetivamente para a estrutura da lâmina basal, para a flexibilidade do tecido e para a organização das fibras periodontais durante o desenvolvimento (Panagakos & Davies, 2011).

2.1.3. Epidemiologia

A periodontite é uma das doenças orais mais comuns e constitui um problema importante de saúde pública a nível mundial. De acordo com os dados do Global Burden of Disease Study 2019, a periodontite grave afeta cerca de 1 bilhão de pessoas, o que corresponde a aproximadamente 11 % da população adulta mundial, tornando-a a sexta doença mais frequente (Muñoz et al., 2021). A sua prevalência aumenta de forma significativa com a idade, sobretudo após os 40 anos, atingindo valores muito elevados nos idosos, muitas vezes associada à perda dentária (Eke et al., 2018). As formas

moderadas a graves são mais comuns em contextos de baixos rendimentos, devido ao acesso limitado a cuidados de saúde oral, à falta de educação em saúde e à maior exposição a fatores de risco como o tabaco, a diabetes ou uma higiene oral deficiente (Frencken et al., 2017; Nazir, 2017). Existem também fortes disparidades regionais: a periodontite grave é particularmente prevalente no Sudeste Asiático, em África Subsariana e na América Latina, enquanto a sua prevalência é relativamente mais baixa na Europa Ocidental e na América do Norte (Nazir, 2017).

Os fatores demográficos têm um papel essencial na manutenção desta elevada prevalência. O envelhecimento global da população e a persistência de comportamentos de risco (tabagismo, alimentação desequilibrada, stress) contribuem para o aumento esperado do número de casos nas próximas décadas (Jepsen et al., 2018). Além disso, a relação estabelecida entre periodontite e doenças sistémicas (como diabetes e doenças cardiovasculares) reforça a sua importância em saúde pública mundial (Kinane et al., 2017).

Na Europa, a prevalência continua elevada: mais de 50 % dos adultos apresentam algum tipo de doença periodontal, com valores especialmente altos em idosos e em grupos socioeconomicamente desfavorecidos (Tonetti et al., 2018; Jepsen et al., 2018). Em Portugal, vários estudos confirmam esta tendência. No norte do país, um estudo populacional mostrou que 48,6 % dos adultos apresentavam periodontite, dos quais mais de metade (51,2 %) eram casos graves de estágio III (Trindade et al., 2022). Na região metropolitana de Lisboa, outro estudo estimou a prevalência em 59,9 %, com 24 % de casos graves e 22,2 % de casos moderados (Gomide, 2022). Existem diferenças geográficas significativas: um estudo de modelação epidemiológica reportou prevalências que variam entre 41 % e 69 % consoante os municípios portugueses, mostrando a influência dos fatores socioeconómicos e ambientais (Antunes et al., 2022). Estes dados demonstram que a periodontite é em Portugal um problema relevante de saúde pública, cujo impacto é amplificado pelo envelhecimento populacional e pelas desigualdades no acesso aos cuidados de saúde.

2.1.4. Patogénese da periodontite

A patogénese da periodontite é um processo dinâmico e multifatorial, no qual intervêm o biofilme bacteriano, a resposta imunitária do hospedeiro e fatores ambientais e comportamentais. Não deve ser considerada apenas como uma infeção bacteriana simples, mas sim como uma doença inflamatória crónica resultante de um desequilíbrio persistente entre a agressão microbiana e os mecanismos de defesa dos tecidos (Hajishengallis, 2015; Kinane et al., 2017). O processo começa com a formação de um biofilme dentário, iniciado por uma película adquirida composta por glicoproteínas salivares que serve de substrato para a adesão bacteriana (Marsh, 2006). As primeiras bactérias colonizadoras, geralmente Gram-positivas aeróbias como *Streptococcus* e *Actinomyces*, criam um ambiente favorável a uma sucessão microbiana progressiva. Quando as condições locais se alteram (acumulação de resíduos, diminuição do oxigénio, higiene oral deficiente), instala-se um micróbio mais complexo e patogénico, dominado por bactérias Gram-negativas anaeróbias. Este fenómeno traduz a disbiose, em que o equilíbrio microbiano é rompido a favor de espécies com maior potencial inflamatório (Socransky et al., 1998; Teles & Wang, 2011).

Perante esta colonização, o hospedeiro desencadeia uma resposta imunitária organizada em duas vertentes:

- Imunidade inata, rápida e não específica, que mobiliza células como os neutrófilos e os macrófagos.
- Imunidade adaptativa, mais específica e duradoura, que envolve os linfócitos T e B e que regula e mantém a resposta inflamatória (Kinane et al., 2017). Quando este equilíbrio é rompido, a resposta imunitária torna-se excessiva e provoca destruição colateral dos tecidos periodontais. Clinicamente, a doença evolui muitas vezes de uma gengivite inflamação reversível limitada aos tecidos moles para uma periodontite, caracterizada pela formação de bolsas periodontais, perda de inserção clínica e reabsorção óssea irreversível (Page & Kornman, 1997). Estas bolsas criam um microambiente protegido, que favorece a persistência das bactérias patogénicas e a cronicidade da doença.

Assim, a periodontite define-se por um círculo vicioso patogénico: o desenvolvimento do biofilme estimula a inflamação, e a inflamação acelera a destruição

dos tecidos. Este processo autoalimentado explica a natureza crônica e progressiva da doença, na ausência de intervenção terapêutica (Graves, 2008; Hajishengallis, 2015).

2.1.5. Aspeto microbiológico da periodontite

A boca é um ambiente complexo onde vivem muitos microrganismos. Encontram-se principalmente bactérias, mas também fungos, vírus, protozoários e arqueias. Em conjunto, formam a microbiota oral. Em condições normais, esta microbiota está em equilíbrio com o organismo: ajuda a proteger os tecidos, impede infecções e mantém a saúde oral. Em situação fisiológica, participa na proteção contra agentes patogênicos, impede a sua colonização e contribui para a homeostasia local (Samaranayake & Matsubara, 2017).

Nos indivíduos saudáveis, predominam as bactérias Gram-positivas aeróbias, como *Streptococcus* e *Actinomyces*, bem como espécies como *Veillonella* e *Neisseria*. Estes microrganismos, chamados “comensais”, vivem em harmonia com o hospedeiro e asseguram a estabilidade microbiana (He & Shi, 2009; Lamont et al., 2020).

A periodontite aparece quando este equilíbrio é rompido, num processo chamado disbiose. A disbiose corresponde a uma alteração qualitativa e quantitativa da microbiota, em que as espécies protetoras diminuem e aumentam as espécies patogênicas (Hajishengallis, 2015). Este desequilíbrio pode ser desencadeado por fatores como higiene oral insuficiente, alterações do pH, inflamação local ou presença de tecidos ricos em nutrientes resultantes da degradação celular. Um aspeto essencial desta evolução é a transição de um meio aeróbio (rico em oxigénio) para um meio anaeróbio (pobre ou sem oxigénio).

- Em tecidos gengivais saudáveis, predominam bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, capazes de sobreviver com oxigénio.
- Durante a inflamação e a formação de bolsas periodontais, o oxigénio diminui, criando um ambiente favorável às bactérias anaeróbias estritas, que não sobrevivem na presença de oxigénio, mas que são altamente patogênicas (Berezow & Darveau, 2011). Neste contexto, ocorre a migração para espécies mais agressivas, sobretudo bactérias Gram-

negativas anaeróbias, como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola*, fortemente associadas às formas graves de periodontite (Socransky et al., 1998).

A distinção entre Gram-positivas e Gram-negativas é fundamental:

- As Gram-positivas (Gram+) têm uma parede celular espessa feita de peptidoglicano. São geralmente comensais e colonizam precocemente o biofilme.
- As Gram-negativas (Gram-) têm uma parede fina, mas com uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos (LPS). Estes LPS são endotoxinas potentes que estimulam fortemente a resposta inflamatória do hospedeiro, tornando estas bactérias cruciais na patogênese periodontal (Madigan et al., 2019).

Os trabalhos de Socransky et al. (1998) classificaram as bactérias subgingivais em complexos microbianos (Figura 4):

- Amarelo e verde: espécies geralmente comensais e pouco patogênicas.
- Laranja: espécies associadas a formas moderadas, como *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia*.
- Vermelho: espécies altamente patogênicas (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*), intimamente ligadas à periodontite grave. Estas bactérias produzem enzimas proteolíticas, toxinas e adesinas, que degradam os tecidos de suporte e perturbam as defesas do hospedeiro (Lamont et al., 2020; Sedghi et al., 2021). Utilizam também um sistema de comunicação chamado *quorum sensing*, que lhes permite coordenar a atividade, aumentar a virulência e reforçar a resistência do biofilme (Kolenbrander et al., 2002).

Além disso, fatores externos como o tabaco, má higiene oral, dieta desequilibrada ou stress agravam a disbiose e favorecem a instalação dos patogênicos. Algumas bactérias orais podem ainda passar para a corrente sanguínea ou para o intestino, estabelecendo ligações com várias doenças sistêmicas (Dubois et al., 2024; Hernández-Cabanyero & Vonaesch, 2024). Em resumo, a periodontite não é causada por uma bactéria externa, mas por um desequilíbrio interno do microbiota oral. A transição progressiva de um microbiota dominado por bactérias Gram-positivas comensais e aeróbias para um microbiota enriquecido em Gram-negativas anaeróbias patogênicas é um fator chave da patogênese. Este processo vem acompanhado de uma resposta inflamatória excessiva,

que mantém a destruição dos tecidos periodontais (Van Dyke & van Winkelhoff, 2020; Tominari et al., 2021).

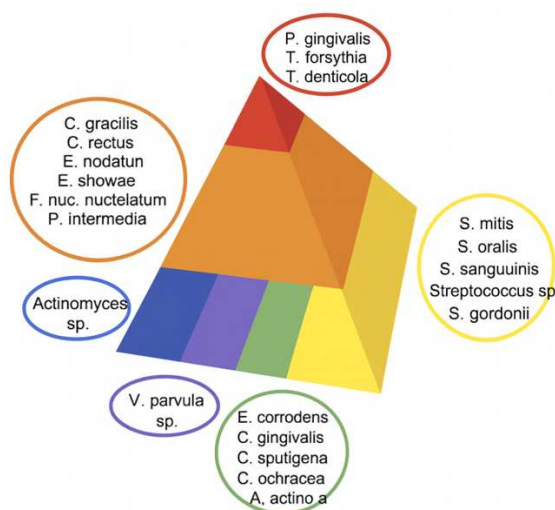


Figura 4 Complexo microbiano da placa dentária. Adaptado de Socransky et al. (1998)

2.1.6. Aspeto imunológico da periodontite

A periodontite caracteriza-se por uma resposta imunológica desproporcionada perante um biofilme bacteriano disbiótico. Não é apenas a presença das bactérias que provoca a doença, mas sim a reação excessiva e mal regulada do sistema imunitário (Hajishengallis, 2015). As citocinas estão no centro deste processo. São pequenas proteínas de sinalização, produzidas pelas células imunológicas, pelo epitélio gengival e pelos fibroblastos. A sua função é coordenar a comunicação entre células, ativar as defesas e regular a inflamação (Pan et al., 2019).

Imunidade inata: a primeira linha de defesa

Quando o biofilme se torna patogénico, as células da imunidade inata, sobretudo os neutrófilos e os macrófagos, reconhecem as bactérias através de recetores especializados, como os Toll-like receptors (TLR).

- Neutrófilos: são células fagocitárias que ingerem e destroem bactérias. Produzem radicais livres (espécies reativas de oxigénio) e enzimas proteolíticas. Estes mecanismos eliminam os patogénicos mas também podem causar danos colaterais nos tecidos saudáveis (Zhou et al., 2023).

- Macrófagos: produzem citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-23, que aumentam a dilatação dos vasos sanguíneos e recrutam outras células de defesa (Neurath & Kesting, 2024; Xu et al., 2021). Os macrófagos apresentam plasticidade funcional:

- M1 (ativação clássica): induzidos pelo IFN- γ e LPS, produzem citocinas pró-inflamatórias e mediadores microbicidas. Controlam a infecção, mas também aumentam a destruição tecidual (Murray et al., 2014; Mills, 2015).

- M2 (ativação alternativa): estimulados por IL-4, IL-10 e IL-13, produzem citocinas anti-inflamatórias (IL-10, TGF- β) e favorecem a reparação dos tecidos. Na periodontite crônica, o equilíbrio tende para M1, o que mantém a inflamação (Hajishengallis, 2015).

Imunidade adaptativa: resposta específica e duradoura

As células dendríticas captam e apresentam os antígenos bacterianos aos linfócitos T:

- Th17 (linfócitos T CD4⁺): produzem IL-17, uma citocina que amplifica a inflamação e estimula a reabsorção óssea através do sistema RANK/RANKL (Suzuki & Fagarasan, 2008 & Hajishengallis, 2008; Xu et al., 2021).

- Linfócitos T reguladores (Treg): são uma subpopulação de T CD4⁺ que expressam o fator FoxP3. Limitam respostas excessivas, libertando IL-10 e TGF- β , que travam a ativação dos macrófagos e a produção de citocinas pró-inflamatórias. Na periodontite, esta função está muitas vezes diminuída, o que impede a resolução da inflamação (Cekici et al., 2014).

- Linfócitos B: produzem anticorpos (imunoglobulinas). Normalmente neutralizam os patogênicos, mas na periodontite formam complexos imunes com antígenos bacterianos.

Estes complexos ativam o sistema complemento, que liberta mediadores pró-inflamatórios e atrai mais células de defesa, amplificando assim a inflamação e a destruição tecidual (Pan et al., 2019; Hajishengallis, 2015). Desequilíbrio entre citocinas pró- e anti-inflamatórias na periodontite, predominam as citocinas pró-inflamatórias — IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-17, IL-23. Em contraste, as citocinas anti-inflamatórias como IL-10 (reguladora da produção de citocinas pró-inflamatórias) e TGF- β (envolvida na

reparação e diferenciação dos Treg) não conseguem restaurar o equilíbrio (Cekici et al., 2014; Neurath & Kesting, 2024).

Este desequilíbrio cria um ciclo vicioso: os tecidos destruídos libertam nutrientes que alimentam as bactérias, favorecendo o seu crescimento e estimulando ainda mais a resposta inflamatória (Figura 5). Implicações clínicas e sistémicas as citocinas são hoje vistas como alvos terapêuticos potenciais. Estudos experimentais mostram que bloquear citocinas pró-inflamatórias (IL-17, IL-1, IL-6, TNF- α) reduz os danos tecidulares, enquanto aumentar a IL-10 promove a resolução da inflamação (Neurath & Kesting, 2024). O impacto vai além do periodonto: níveis elevados de IL-1, IL-6 e TNF- α no sangue estão associados a doenças sistémicas, como diabetes, patologias cardiovasculares e doenças autoimunes (Hajishengallis, 2015).

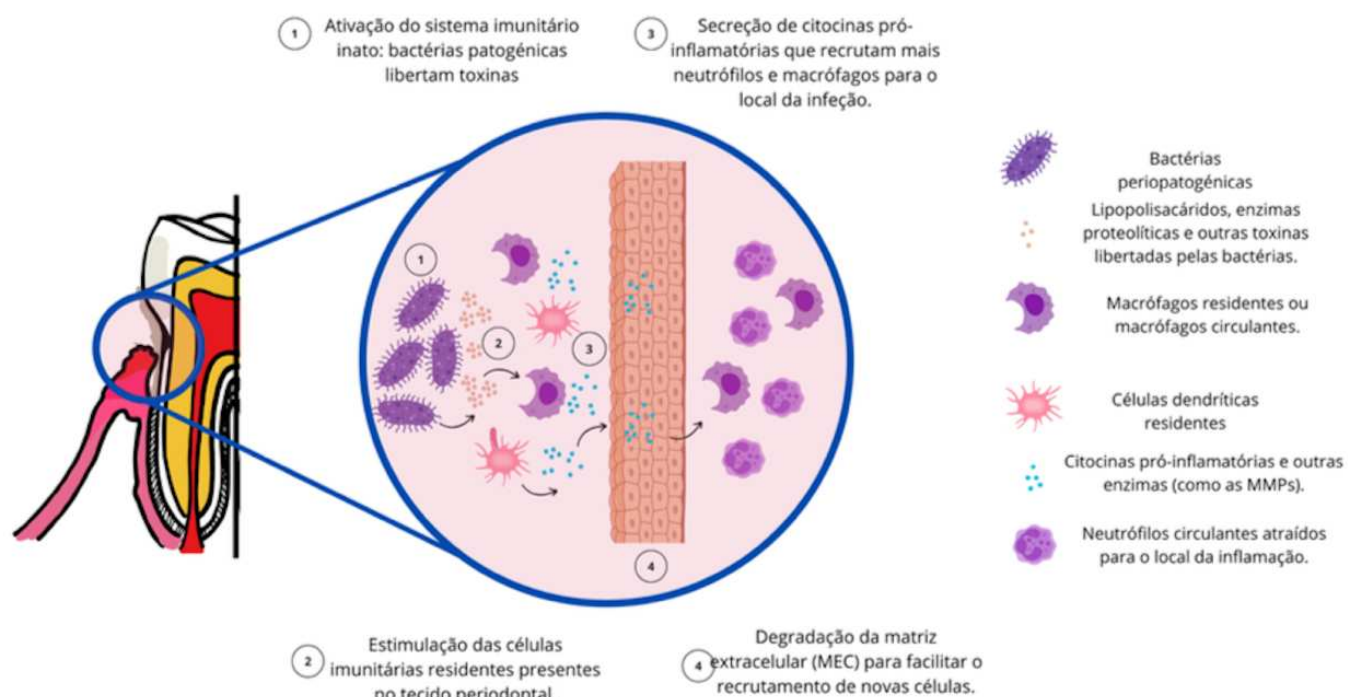


Figura 5 Representação esquemática da resposta inflamatória no periodonto Adaptado a partir de Yohan Ragné (2025)

2.1.7. Fatores de risco da periodontite

A periodontite é uma doença multifatorial, influenciada por interações complexas entre a flora bacteriana, a resposta imunológica do hospedeiro e diversos fatores de risco (Genco & Borgnakke, 2013).

Fatores de risco não modificáveis

Predisposição genética: Algumas variações genéticas aumentam a suscetibilidade individual à periodontite. Polimorfismos em genes que codificam citocinas pró-inflamatórias (como a IL-1) ou recetores de patogénicos podem alterar a resposta imunológica local, elevando o risco de destruição periodontal (Taba Jr et al., 2012). Uma meta-análise confirmou que a periodontite apresenta uma componente hereditária significativa, embora a sua expressão seja fortemente modulada pelo ambiente (Nibali et al., 2019).

Idade: O envelhecimento está associado a um enfraquecimento das defesas imunitárias e a uma exposição cumulativa a fatores de risco, o que aumenta a prevalência da periodontite nos idosos (Genco & Borgnakke, 2013).

Osteoporose: Esta patologia sistémica, caracterizada por baixa densidade mineral óssea, está ligada a uma maior perda óssea alveolar, sobretudo em mulheres pós-menopáusicas. O mecanismo baseia-se numa reabsorção óssea exacerbada em resposta à inflamação gengival (Wang & McCauley, 2016).

Doenças hematológicas: Afeções como leucemia, anemia aplásica ou alterações das linhagens mielóides podem comprometer a saúde periodontal. Afetam a função das células imunológicas, reduzem a vascularização gengival ou aumentam a suscetibilidade às infeções, contribuindo para a progressão da periodontite (Botelho et al., 2021; Timothy & Rajasekar, 2022).

Fatores de risco modificáveis

Tabagismo: O tabaco é um dos principais fatores de risco para a periodontite. A nicotina tem um efeito vasoconstritor, reduzindo o fluxo sanguíneo gengival e

mascarando sinais clínicos de inflamação, como a hemorragia. Além disso, compromete a função dos neutrófilos e altera a flora bacteriana subgengival, diminuindo a eficácia do tratamento periodontal (Mullally, 2004). Mesmo os substitutos de nicotina, como os adesivos transdérmicos, podem ter impacto negativo na saúde gengival, embora menos pronunciado que o tabaco fumado (Alayadi, 2024).

Diabetes mellitus: A diabetes mal controlada aumenta significativamente a gravidade da periodontite. A hiperglicemia crônica favorece a formação de produtos de glicação avançada (AGEs), que estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias e aceleram a destruição dos tecidos periodontais (Graves et al., 2020; Preshaw & Bissett, 2019). A relação é bidirecional: a periodontite também constitui um fator de risco para a diabetes, pois a inflamação crônica compromete a regulação glicêmica (Preshaw & Bissett, 2019).

Stress psicológico: O stress crônico perturba a resposta imunológica através de mecanismos hormonais. A elevação persistente do cortisol (hormona do stress) compromete a função dos neutrófilos e a cicatrização, favorecendo uma inflamação persistente (Akcali et al., 2013; Coelho et al., 2020).

Obesidade: A obesidade é considerada um estado pró-inflamatório crônico. O tecido adiposo liberta mediadores como TNF- α e IL-6, que promovem a reabsorção óssea alveolar e agravam as lesões periodontais (Arboleda et al., 2019).

Medicamentos:

Alguns tratamentos farmacológicos podem alterar a resposta tecidual ou a flora oral, aumentando o risco de desenvolvimento ou agravamento da periodontite. Os efeitos adversos incluem hiperplasia gengival, alterações do metabolismo ósseo, xerostomia e diminuição das defesas locais (Ciancio, 2005).

- Medicamentos que provocam hiperplasia gengival: anticonvulsivantes (ex. *fenitoína*), imunossupressores (ex. ciclosporina) e bloqueadores dos canais de cálcio (ex. *nifedipina*) (Trackman & Kantarci, 2004).
- Medicamentos que afetam o osso alveolar: bisfosfonatos (risco de osteonecrose, sobretudo após cirurgia) (Brufsky & Mathew, 2015; Chappuis et al., 2018), inibidores da bomba de prótons (alteram o metabolismo ósseo) (Lespessailles & Toumi, 2022),

diuréticos tiazídicos (alteram a homeostasia do cálcio e podem fragilizar o periodonto) (Grieff & Bushinsky, 2011).

- Medicamentos que causam xerostomia: alguns anti hipertensores, antidepressivos e anti parkinsónicos reduzem a produção de saliva, favorecendo a colonização bacteriana (Ciancio, 2005). A identificação destes fatores de risco é fundamental para uma abordagem preventiva personalizada e para melhorar o prognóstico terapêutico em periodontologia (Saleh et al., 2023).

2.1.8. Classificação

A classificação das doenças periodontais foi totalmente revista em 2017 durante o *World Workshop*, organizado em conjunto pela *American Academy of Periodontology* (AAP) e a *European Federation of Periodontology* (EFP). A nova classificação baseia-se em dois critérios principais:

- Estádio (I a IV): Refere-se à gravidade da doença, perda de inserção interproximal, perda óssea e complexidade do tratamento (Tabela 1)
- Grau (A a C): Indica a velocidade de progressão da doença, tendo em conta fatores modificáveis como o tabagismo ou a diabetes, e a proporção de destruição tecidual em relação à idade (Tonetti et al., 2018 ; Caton et al., 2018). Esta abordagem permite personalizar o diagnóstico e classificar melhor os pacientes segundo o seu prognóstico, facilitando assim decisões clínicas mais adequadas para cada caso (Tonetti et al., 2017) e (Tabela 2)

Tabela 1 Classificação atual dos estádios da doença periodontal, adaptado de (Caton JG et al., 2018)

Estádio	Descrição	Principais características
I	Periodontite inicial	<ul style="list-style-type: none"> - Perda clínica de ligação (CAL) de 1 a 2 mm - Profundidade do bolso ≤ 4 mm - Sem perda óssea interproximal ou perda óssea horizontal ligeira
II	Periodontite moderada	<ul style="list-style-type: none"> - CAL de 3 a 4 mm - Profundidade do bolso ≤ 5 mm - Perda óssea horizontal que não ultrapasse o terço médio da raiz
III	Periodontite grave com potencial perda de dentes	<ul style="list-style-type: none"> - CAL ≥ 5 mm - Perda óssea que se estende até ao terço médio ou apical da raiz - Profundidade do bolso ≥ 6 mm - Perda de até 4 dentes devido a periodontite - Possível envolvimento da furca e mobilidade dentária moderada
IV	Periodontite avançada com elevado risco de perda de dentes e necessidades de reabilitação complexas	<ul style="list-style-type: none"> - Critérios da fase III - Perda de 5 ou mais dentes devido a periodontite - Disfunção mastigatória - Migração dentária grave - Necessidades complexas de reabilitação

Tabela 2 Classificação atual dos graus de gravidade da doença periodontal, adaptada de (Caton JG et al., 2018)

Grau	Progressão da doença	Fatores de risco e considerações sistêmicas
A	Progresso lento	<ul style="list-style-type: none"> - Sem perda de fixação ou perda óssea ao longo de 5 anos - Baixa percentagem de sítios afetados - Sem fatores de risco importantes
B	Progressos moderados	<ul style="list-style-type: none"> - Perda de inserção ou perda óssea < 2 mm ao longo de 5 anos - Destruição dos tecidos em função da quantidade de placa - Presença de fatores de risco moderados (por exemplo, fumador de menos de 10 cigarros/dia, diabetes com HbA1c < 7%)
C	Progressos rápidos	<ul style="list-style-type: none"> - Perda de fixação ou perda óssea ≥ 2 mm ao longo de 5 anos - Destruição de tecido superior às expectativas em relação à quantidade de placa - Presença de fatores de risco significativos (por exemplo, fumador de mais de 10 cigarros/dia, diabetes com HbA1c ≥ 7%)

2.2. Biomarcadores bioquímicos da periodontite

2.2.1. Compreensão dos biomarcadores bioquímicos

Os biomarcadores bioquímicos representam uma classe essencial de indicadores biológicos usados no diagnóstico, no acompanhamento e no prognóstico de muitas doenças. São definidos como substâncias mensuráveis no organismo, capazes de refletir um processo fisiológico normal, uma patologia ou a resposta a uma intervenção

terapêutica (Ptolemy & Rifai, 2010). Na área biomédica, estes biomarcadores podem ser classificados segundo a sua natureza em várias categorias principais:

- Biomarcadores bioquímicos: incluem moléculas específicas como proteínas, enzimas, citocinas, metabolitos, hormonas, etc. A sua deteção baseia-se em técnicas de biologia analítica como os imunoensaios (ELISA), a cromatografia ou a espetrometria de massa (Dehoux, 2012).
- Biomarcadores genéticos: incluem mutações ou variações na expressão dos genes, detetadas por métodos de biologia molecular como a PCR ou o sequenciamento de ADN.
- Biomarcadores celulares: referem-se a características ligadas às próprias células, como o seu tamanho, forma ou estrutura metabólica, muitas vezes observadas ao microscópio ou por imagem celular.
- Biomarcadores fisiológicos: dizem respeito a parâmetros vitais como a frequência cardíaca, a pressão arterial ou a temperatura corporal, usados na avaliação das funções biológicas (Ferrer & Artigas, 2011).

Entre estas categorias, os biomarcadores bioquímicos têm uma importância particular no contexto da periodontite, porque permitem detetar e quantificar mediadores inflamatórios, enzimas de degradação tecidual ou ainda produtos da atividade bacteriana. Estes marcadores fornecem uma leitura em tempo real da atividade patológica, muito antes de aparecerem sinais clínicos irreversíveis (Gupta et al., 2018). Os avanços recentes em bioquímica e em tecnologias de deteção molecular permitiram ampliar de forma significativa o conjunto de biomarcadores disponíveis, melhorando a sua sensibilidade e especificidade. Além disso, a sua integração em modelos de diagnóstico ou prognóstico personalizados constitui uma via importante de desenvolvimento na medicina de precisão (González Quesada & Rivera Álvarez, 2017; Teles et al., 2025).

2.2.2. Relevância dos biomarcadores no contexto da periodontite

A periodontite é uma doença inflamatória crónica multifatorial, caracterizada pela destruição progressiva dos tecidos de suporte do dente. O diagnóstico clínico baseia-se

atualmente no exame visual das bolsas periodontais, na perda de inserção clínica e na imagiologia radiográfica. No entanto, estes métodos descrevem principalmente os danos já estabelecidos e nem sempre permitem detetar precocemente a atividade da doença nem prever a sua evolução (Tonetti et al., 2018). Neste contexto, o estudo dos biomarcadores revela-se particularmente pertinente. Um biomarcador é uma característica biológica mensurável que reflete um processo fisiológico normal, uma resposta patológica ou o efeito de uma intervenção terapêutica (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Na periodontite, os biomarcadores podem ser encontrados em diferentes fluidos biológicos, como a saliva, o FGC ou o sangue periférico. Interesse clínico dos biomarcadores na periodontite.

- **Diagnóstico precoce:** alguns biomarcadores, como as citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6), as enzimas proteolíticas (MMP-8, MMP-9) ou a proteína C-reativa (CRP), podem indicar a presença de inflamação ativa antes do aparecimento de sinais clínicos graves (Kinney et al., 2011).

- **Avaliação da atividade da doença:** ao contrário das medições clínicas tradicionais, os biomarcadores permitem identificar se a doença está estável ou em fase ativa, o que pode orientar as decisões terapêuticas (Ramseier et al., 2009).

- **Predição do risco:** a presença de certos perfis moleculares, nomeadamente a associação de IL-1 β elevada e de enzimas destrutivas, foi correlacionada com uma progressão rápida da doença (Offenbacher et al., 2016).

- **Acompanhamento terapêutico:** após um tratamento periodontal, a diminuição dos níveis de biomarcadores inflamatórios pode refletir uma resposta favorável, permitindo uma avaliação objetiva da eficácia do tratamento (Nishihara & Koseki, 2017).

2.2.3. Tipos de biomarcadores bioquímicos na periodontite

Os biomarcadores bioquímicos são indicadores essenciais para compreender e acompanhar a periodontite. Permitem traduzir os fenómenos inflamatórios, imunitários e ósseos ligados à progressão da doença. A sua análise pode contribuir para um diagnóstico

precoce, para a detecção da atividade inflamatória e para o acompanhamento terapêutico. Podem ser agrupados em duas grandes famílias: biomarcadores não orgânicos (moléculas solúveis, mediadores lipídicos, metabólitos oxidativos) e biomarcadores proteicos (citocinas, enzimas, proteínas de sinalização).

Biomarcadores não orgânicos

- IL-6 (Interleucina-6): citocina multifuncional produzida por macrófagos, fibroblastos células epiteliais. Estimula a diferenciação dos osteoclastos através do eixo RANKL e aumenta a produção de proteínas de fase aguda como a CRP. Na periodontite, níveis elevados de IL-6 no fluido gengival crevicular (FGC) estão associados à destruição ativa dos tecidos e à progressão rápida da doença. Interesse: marcador precoce de inflamação sistêmica e local, útil para avaliar a ligação entre periodontite e doenças cardiovasculares ou diabetes (Garlet, 2010).
- IL-8 (Interleucina-8): quimiocina principal secretada pelas células epiteliais e neutrófilos. Atrai neutrófilos para o local infetado, favorecendo a fagocitose, mas provocando também libertação de enzimas e radicais livres responsáveis por danos colaterais. Interesse: biomarcador de recrutamento celular e de gravidade da periodontite. O seu aumento reflete um desequilíbrio inflamatório (Tsai et al., 2018).
- Mediadores lipídicos – PGE2 (Prostaglandina E2): derivada do ácido araquidónico pela ação da ciclo-oxigenase. A PGE2 promove a vasodilatação, aumenta a permeabilidade vascular e estimula diretamente os osteoclastos. Interesse: fortemente associada à perda óssea. A sua medição no FGC é útil para identificar os locais periodontais ativos (Teles & Wang, 2011).
- Marcadores do stress oxidativo: as espécies reativas de oxigénio (ROS) e o malondialdeído (MDA, produto da peroxidação lipídica) são sinais diretos dos danos oxidativos induzidos pelos neutrófilos. Interesse: refletem o desequilíbrio entre defesa antimicrobiana e danos tecidulares. A sua medição pode permitir avaliar a carga oxidativa de um paciente e o risco de progressão (Trivedi et al., 2014).
- Citocinas pró-inflamatórias

◦ IL-1 β : citocina chave produzida por macrófagos ativados. Estimula a produção de MMPs, a reabsorção óssea e a ativação de outras citocinas. Interesse: marcador central da atividade destrutiva da doença, muito usado em investigação clínica (Graves, 2008).

◦ TNF- α (Fator de Necrose Tumoral- α): induz a apoptose dos fibroblastos, amplifica a resposta inflamatória e favorece a reabsorção óssea. Interesse: indicador da gravidade da inflamação e potencial alvo terapêutico (Hajishengallis, 2015).

◦ IL-10: citocina anti-inflamatória secretada pelos linfócitos T reguladores. Inibe a produção de IL-1 β e TNF- α . Interesse: níveis baixos de IL-10 refletem incapacidade de controlar a inflamação, aumentando a cronicidade da periodontite (Suvan et al., 2019).

• Enzimas proteolíticas (MMPs)

As metaloproteinases da matriz (MMPs) são uma família de enzimas zinco-dependentes responsáveis pela degradação controlada de proteínas da matriz extracelular (ECM). Em condições fisiológicas, as MMPs participam na remodelação tecidual e na cicatrização, mas na periodontite a sua produção é exacerbada por células inflamatórias (neutrófilos, macrófagos) e células do hospedeiro (fibroblastos, queratinócitos), sob influência de citocinas como IL-1 β e TNF- α (Sorsa et al., 2016; Franco et al., 2017).

Entre as mais relevantes destacam-se:

- MMP-8 (colagenase-2): principal colagenase presente no FGC, secretada majoritariamente por neutrófilos. É responsável pela degradação do colagénio tipo I e III, que constituem a maior parte do ligamento periodontal. A sua atividade aumentada está diretamente associada à perda de inserção clínica ativa. Por esta razão, testes rápidos de MMP-8 (PerioSafe®, ImplantSafe®) já são utilizados em clínica como ferramentas diagnósticas point-of-care (Gupta et al., 2018; Sorsa et al., 2016).
- MMP-9 (gelatinase B): degrada colagénio desnaturado (gelatina) e componentes da membrana basal como a laminina e a fibronectina. Níveis elevados de MMP-9 no FGC correlacionam-se com a destruição ativa da matriz extracelular e com o avanço da periodontite (Ramseier et al., 2009; Franco et al., 2017).

Para além destas, outras MMPs como a MMP-1 (colagenase-1) e a MMP-13 (colagenase-3) também podem estar envolvidas, mas MMP-8 e MMP-9 são os biomarcadores mais robustamente validados (Sorsa et al., 2020). O equilíbrio das MMPs é regulado pelos inibidores teciduais das metaloproteínas (TIMPs). Na periodontite, observa-se um desbalanço caracterizado por excesso de MMPs em relação aos TIMPs, o que favorece a degradação progressiva do colagénio periodontal (Franco et al., 2017; Sorsa et al., 2020).

- Marcadores do remodelamento ósseo

- RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*): é uma glicoproteína pertencente à superfamília do TNF, expressa por osteoblastos, fibroblastos, células endoteliais e principalmente por linfócitos T e B ativados em contexto inflamatório. A sua principal função é ligar-se ao recetor RANK, presente na superfície dos pré-osteoclastos derivados de monócitos/macrófagos. Essa ligação ativa diversas vias de sinalização intracelular, nomeadamente NF- κ B, MAPKs e NFATc1, promovendo a diferenciação, fusão e ativação de osteoclastos maduros responsáveis pela reabsorção óssea (Boyle et al., 2003; Yasuda et al., 1998).

- OPG (Osteoprotegerina): é uma glicoproteína solúvel produzida por osteoblastos e células do estroma que atua como um “recetor isco” (decoy receptor), competindo com o RANK pelo RANKL. Ao sequestrar o RANKL, a OPG inibe a ativação de pré-osteoclastos e protege o tecido ósseo contra reabsorção excessiva (Teitelbaum, 2000).

- Equilíbrio RANKL/OPG: a relação entre RANKL e OPG é um determinante direto do balanço entre reabsorção e proteção óssea. Em indivíduos saudáveis, existe uma proporção equilibrada que mantém a homeostase óssea. Na periodontite, contudo, verifica-se um aumento da expressão de RANKL e uma redução relativa de OPG, o que resulta num rácio RANKL/OPG elevado, indicador de intensa atividade osteoclástica e de perda óssea alveolar progressiva (Bostanci et al., 2007; Belibasakis & Bostanci, 2012).

Após a definição do sistema RANK/RANKL/OPG e do seu papel regulador no equilíbrio entre reabsorção e proteção óssea, torna-se essencial compreender o processo celular resultante dessa interação: a osteoclastogénese. É este mecanismo que traduz bioquimicamente a ativação dos osteoclastos, responsáveis pela degradação do osso

alveolar durante a periodontite. A osteoclastogénese corresponde ao processo de diferenciação e ativação dos osteoclastos a partir de precursores mononucleares da linhagem dos monócitos/macrófagos. Este processo é desencadeado pela ligação do RANKL ao seu recetor RANK, expresso na superfície dos pré-osteoclastos, o que ativa várias cascatas de sinalização intracelular, incluindo NF- κ B, MAPKs e AP-1. O passo central é a indução do fator de transcrição NFATc1, considerado o regulador principal da osteoclastogénese, que promove a expressão de genes específicos como a catepsina K, TRAP (fosfatase ácida tartárica resistente) e integrinas, essenciais para a fusão celular, adesão ao osso e atividade reabsortiva (Boyle et al., 2003; Teitelbaum, 2000). Durante este processo, os pré-osteoclastos fundem-se em células multinucleadas, formando os osteoclastos maduros, que desenvolvem uma borda em escova (“ruffled border”) e lacunas de reabsorção na superfície óssea. Estas estruturas especializadas permitem a secreção de ácido clorídrico e de enzimas proteolíticas (como catepsina K e MMPs), que dissolvem a matriz mineral e degradam o colagénio (Yasuda et al., 1998; Crotti et al., 2003). Na periodontite, a inflamação crónica cria um microambiente rico em citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6) e em RANKL, produzido por linfócitos T e B ativados, fibroblastos gengivais e osteoblastos. Em paralelo, observa-se uma redução relativa da produção de OPG, o que conduz a um desequilíbrio marcado a favor da atividade osteoclástica. Este ambiente pró-osteoclástico resulta na reabsorção progressiva do osso alveolar, característica da doença periodontal (Bostanci et al., 2007; Belibasakis & Bostanci, 2012; Kinane et al., 2017).

Biomarcadores emergentes

- **Visfatina:** adipocina pró-inflamatória produzida pelo tecido adiposo e por algumas células imunitárias. Está envolvida na modulação do metabolismo energético e na resposta inflamatória local. Interesse: pode explicar a ligação entre periodontite e doenças metabólicas como obesidade ou diabetes (Gungor et al., 2024).

- **Proteína LIGHT:** membro da família TNF, associada à estimulação crónica das células T. Interesse: biomarcador potencial da cronicidade inflamatória (Wheeler-Chung et al., 2024). Os biomarcadores não orgânicos (IL-6, IL-8, PGE2, ROS) refletem os processos inflamatórios e oxidativos precoces, enquanto os biomarcadores proteicos (IL-1 β , TNF- α , IL-10, MMPs, RANKL/ OPG) traduzem diretamente a destruição tecidual e

óssea. Os biomarcadores emergentes, como a visfatina e a proteína LIGHT, oferecem novas perspectivas ao estabelecer ligações entre periodontite, metabolismo e inflamação sistêmica. A sua utilização integrada pode transformar o tratamento da periodontite, passando de uma abordagem descritiva para uma medicina preditiva e personalizada. Estes biomarcadores são maioritariamente detetados no fluido gengival crevicular, embora alguns também possam ser identificados na saliva ou no sangue. A sua análise permite considerar novas abordagens diagnósticas e terapêuticas mais direcionadas, assim como um acompanhamento personalizado da evolução da doença.

2.2.4. Mecanismos de ação dos biomarcadores bioquímicos

Os biomarcadores bioquímicos traduzem mecanismos biológicos precisos ligados ao início, à progressão e à regulação da periodontite. Permitem acompanhar os acontecimentos patológicos locais, como a inflamação, a degradação do tecido conjuntivo ou a reabsorção óssea (Gupta et al., 2018; Arias-Bujanda et al., 2019). A formação de um biofilme subgengival desencadeia uma cascata de eventos imuno-inflamatórios. As células imunitárias, os fibroblastos e as células epiteliais libertam mediadores como as citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6), responsáveis pela ativação celular e pelo recrutamento de neutrófilos (Teles & Wang, 2025; Gupta et al., 2018). A progressão inflamatória acompanha-se da produção de metaloproteínas da matriz (MMP-8, MMP-9), envolvidas na degradação do colagénio e da matriz extracelular (Arias-Bujanda et al., 2019; Ramenzoni et al., 2021). Estas enzimas estão presentes em quantidade significativamente mais elevada nos locais afetados, e a sua deteção no fluido gengival apresenta uma excelente sensibilidade diagnóstica (Hernández-Ríos et al., 2024).

Outros mediadores, como as prostaglandinas E2 (PGE2), participam na reabsorção óssea e no agravamento das lesões inflamatórias. Em paralelo, o sistema RANK/RANKL/OPG desempenha um papel essencial na regulação do remodelamento ósseo. Um excesso de RANKL e uma diminuição da OPG favorecem a ativação osteoclástica e a perda óssea. Este desequilíbrio foi observado de forma constante no fluido gengival de pacientes com periodontite (Bostanci et al., 2007; Serocki et al., 2025). A análise combinada de vários biomarcadores, como MMP-8, RANKL e OPG, permite

aumentar a fiabilidade do diagnóstico das lesões ativas, especialmente quando usados em painel (Hernández- Ríos et al., 2024).

Novos biomarcadores bioquímicos, como a visfatina, a proteína LIGHT ou certos derivados do stress oxidativo, estão a ser estudados em contextos mais avançados. Estas moléculas, muitas vezes exploradas através de técnicas de proteómica, poderão melhorar a estratificação dos pacientes e orientar abordagens terapêuticas personalizadas (Wheeler-Chung et al., 2024; Gungor et al., 2024).

2.3. Fontes Biológicas para a análise dos Biomarcadores Bioquímicos na Periodontite

Os biomarcadores bioquímicos desempenham um papel essencial no diagnóstico, na previsão da progressão e no acompanhamento terapêutico da periodontite. Podem ser detetados em várias matrizes biológicas, como o fluido gengival crevicular (FGC), a saliva e o sangue periférico. Cada uma destas fontes oferece informações diferentes: o FGC é muito localizado em torno dos locais de lesão, a saliva fornece uma visão mais global da cavidade oral, e o sangue reflete o estado inflamatório sistémico (Kinney et al., 2011).

2.3.1. Fluido Gengival Crevicular (FGC)

2.3.1.1. Natureza e Origem do FGC

O FGC é um exsudado de origem vascular proveniente dos microvasos do plexo dento-gengival, localizados sob o epitélio juncional (Barros et al., 2016; Séjourné et al., 2024). Num indivíduo saudável, o débito do FGC é muito baixo, cerca de 0,2 μ L/hora, funcionando essencialmente como um transsudado pobre em proteínas que resulta de diferenças de pressão osmótica e hidrostática. Durante a inflamação gengival ou periodontal, porém, a permeabilidade vascular aumenta e o fluido transforma-se num verdadeiro exsudado rico em proteínas plasmáticas, leucócitos e mediadores inflamatórios (Barros et al., 2016; Pol et al., 2023). Para atingir o sulco gengival, este fluido atravessa a lâmina própria e passa pelo epitélio juncional e pelo epitélio sulcular, estruturas que apresentam características particulares de permeabilidade. O epitélio juncional, em especial, distingue-se por ter espaços intercelulares amplos, uma densidade

reduzida de desmossomas e uma distribuição peculiar das tight junctions, o que o torna fisiologicamente mais “poroso” do que epitélios queratinizados (Bosshardt, 2005; Takahashi et al., 2019). Esta arquitetura facilita o trânsito paracelular de água, solutos e células imunitárias, permitindo uma migração constante de leucócitos em direção ao sulco e, ao mesmo tempo, possibilitando a passagem do fluido crevicular. Durante a inflamação, mediadores como a IL-1 β , o TNF- α e o VEGF-A induzem alterações na expressão e na organização das proteínas de junção (occludina, claudinas, ZO-1), aumentando a permeabilidade epitelial e favorecendo a extravasação do fluido (Do et al., 2024; Karci et al., 2025). Além disso, bactérias periodontopatogénicas como *Porphyromonas gingivalis* produzem proteases (gingipainas) capazes de degradar proteínas de junção, intensificando ainda mais a disfunção da barreira epitelial e potenciando o aumento do débito do FGC (Guo et al., 2018; Vitkov et al., 2023). Assim, a formação e o volume do FGC resultam da combinação entre alterações hemodinâmicas nos vasos gengivais e uma permeabilidade epitelial modulada tanto por fatores inflamatórios como microbianos. Este fluido, que também exerce uma função de “lavagem” do sulco, eliminando bactérias e subprodutos, reflete fielmente o estado patológico local e constitui, por isso, uma ferramenta de grande interesse para o diagnóstico da doença periodontal (Pol et al., 2023; Buduneli et al., 2024).

Para ilustrar de forma visual o trajeto do fluido gengival crevicular e os mecanismos que regulam a sua passagem através dos tecidos periodontais, a figura seguinte apresenta esquematicamente a origem vascular do FGC, o seu percurso através dos epitélios e os principais fatores inflamatórios e microbianos que modulam a permeabilidade epitelial (Figura 6).

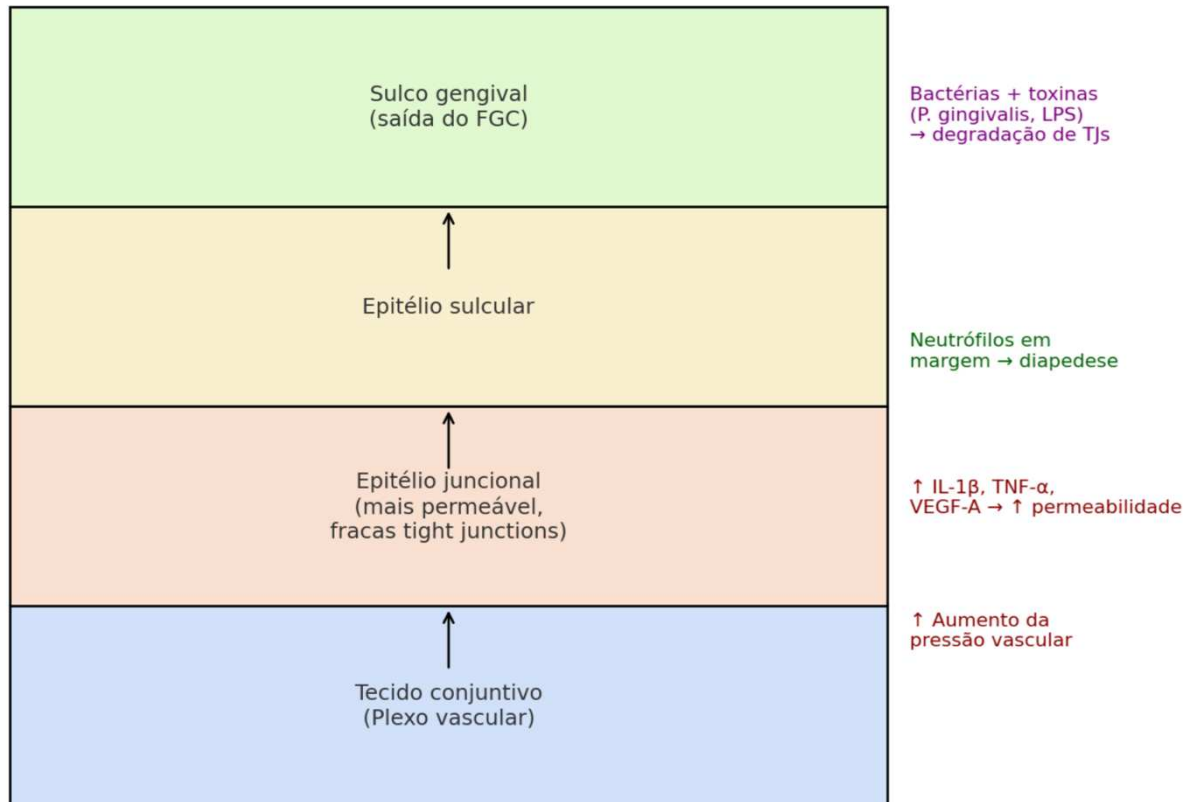


Figura 6 Trajeto do Fluido Crevicular Gengival (FGC) e fatores que influenciam a permeabilidade epitelial Ilustração própria.

O FGC origina-se nos microvasos do plexo dento-gengival e atravessa a lâmina própria em direção ao sulco gengival. Em condições inflamatórias, mediadores como IL-1 β , TNF- α e VEGF-A aumentam a permeabilidade do epitélio juncional, facilitando a passagem do fluido e a diapedese de neutrófilos. Paralelamente, bactérias periodonto patogênicas como *Porphyromonas gingivalis* libertam toxinas e proteases (p. ex., gingipainas) capazes de degradar proteínas das *tight junctions*, agravando a disfunção da barreira epitelial. Estas alterações resultam num aumento do débito do FGC, que se torna mais rico em proteínas plasmáticas, células imunitárias e mediadores inflamatórios, refletindo fielmente o estado patológico local Subbarao K.C. et al., (2019)

2.3.1.2. Composição Bioquímica

A composição bioquímica do FGC varia em função do estado de saúde periodontal. Em situação saudável, contém principalmente proteínas plasmáticas como a albumina, eletrólitos, algumas enzimas básicas e baixas concentrações de

imunoglobulinas. É pobre em citocinas pró-inflamatórias e em enzimas proteolíticas (Guentsch et al., 2009). Nos primeiros sinais de gengivite uma inflamação reversível das gengivas que pode preceder a periodontite se não for tratada a permeabilidade vascular aumenta, e observa-se um enriquecimento em interleucinas como a IL-1 β e a IL-6, em TNF- α e em prostaglandinas como a PGE2 (Offenbacher et al., 1993; Teles et al., 2021). Quando a periodontite se instala, a composição do FGC torna-se muito mais rica e específica, com níveis elevados de metaloproteínas (MMP-8, MMP-9), mediadores lipídicos pró-inflamatórios, RANKL, assim como toxinas bacterianas como o lipopolissacárido (LPS). Verifica-se também um aumento dos anticorpos (IgG, IgA) dirigidos contra bactérias patogênicas (Kumar et al., 2012; Zhou et al., 2024). Quanto mais a periodontite progride, mais estas biomoléculas se acumulam, sobretudo nos locais com bolsas profundas e perda de inserção grave, o que confirma a relevância do FGC como reflexo da atividade inflamatória local (Teles et al., 2021).

2.3.1.3. Relevância Clínica e Limites

O FGC é considerado uma fonte privilegiada de biomarcadores porque reflete diretamente os processos patológicos ao nível dos tecidos periodontais. A sua recolha é não invasiva, indolor e reprodutível através de tiras absorventes ou microcapilares (Barros et al., 2016; Ebersole et al., 2020). No entanto, existem algumas limitações. A variabilidade da recolha (técnica usada, local escolhido, volume obtido) pode influenciar a composição do fluido e introduzir vieses. As contaminações pela saliva ou pelo sangue são também uma dificuldade (Miller et al., 2006; Offenbacher et al., 2007). Além disso, fatores sistêmicos como o tabagismo ou a diabetes podem alterar a composição do FGC independentemente da gravidade da periodontite (Leite et al., 2018; Stöhr et al., 2021). Por fim, a ausência de protocolos analíticos normalizados, seja nos métodos de recolha, conservação ou dosagem (ELISA, PCR, espectrometria), dificulta a comparação dos resultados entre estudos (Giannobile et al., 2009; Christodoulides et al., 2007). Estas limitações mostram que, embora promissor, o FGC ainda necessita de padronização metodológica antes de ser considerado uma ferramenta de diagnóstico de rotina. No entanto, a sua análise continua a ser uma das abordagens mais precisas e específicas para detetar e acompanhar os biomarcadores na periodontite (Giannobile et al., 2009).

2.3.2. Sangue Periférico

2.3.2.1. Papel na Periodontite

O sangue periférico reflete o estado inflamatório geral do organismo. Na periodontite, uma doença inflamatória crônica localizada nos tecidos de suporte do dente, mediadores inflamatórios produzidos localmente podem passar para a circulação sanguínea. Isso provoca uma elevação de certos biomarcadores sistêmicos que traduzem a ativação da imunidade e o stress oxidativo. Assim, o sangue não reflete apenas a inflamação periodontal, mas também a sua interação com a saúde geral (Loos, 2005; Tonetti & Van Dyke, 2013).

2.3.2.2. Biomarcadores Sanguíneos estudados

Vários biomarcadores circulantes foram estudados no contexto da periodontite. A proteína C-reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado em resposta à inflamação. Os seus níveis são mais elevados em pacientes com periodontite, refletindo uma inflamação sistêmica (Paraskevas et al., 2008). Entre as citocinas, a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) estão frequentemente aumentados no sangue de pacientes periodontais. Estas moléculas pró-inflamatórias participam na estimulação da resposta imunitária e na ativação dos osteoclastos responsáveis pela reabsorção óssea (D'Aiuto et al., 2004). Biomarcadores ósseos também podem ser detetados no sangue. O telopéptido C-terminal do colagénio tipo I (ICTP) é um produto da degradação do colagénio ósseo e reflete a atividade osteoclástica. A osteocalcina é uma proteína produzida pelos osteoblastos e o seu aumento pode indicar remodelação óssea ativa (Sezer et al., 2012). Finalmente, marcadores de stress oxidativo como os produtos de glicação avançada (AGEs) e a 8- hidroxí-2' desoxiguanosina (8-OHdG), indicadores de danos oxidativos do ADN, também são encontrados em níveis aumentados no sangue de pacientes com periodontite (Chapple & Matthews, 2007; Tamaki et al., 2014).

2.3.2.3. Interesse Clínico

O estudo dos biomarcadores sanguíneos permitiu evidenciar uma ligação bidirecional entre a periodontite e certas doenças sistêmicas. Por exemplo, a inflamação crônica de origem periodontal pode agravar a diabetes ao dificultar o controle glicêmico, enquanto a diabetes favorece a gravidade da periodontite. Do mesmo modo, níveis elevados de CRP, IL-6 e TNF- α associados à periodontite estão ligados a um risco aumentado de doenças cardiovasculares como a aterosclerose (Tonetti & Van Dyke, 2013; Sanz et al., 2020). No entanto, na prática clínica diária, a análise do sangue periférico apresenta uma limitação importante: estes biomarcadores não são específicos da periodontite e podem ser influenciados por muitas outras doenças inflamatórias. Por esta razão, o sangue é sobretudo usado em investigação científica para explorar as ligações entre periodontite e saúde sistêmica, mais do que como ferramenta de diagnóstico específica da doença periodontal (Loos, 2005; Paraskevas et al., 2008).

2.3.3. Comparação das fontes biológicas

2.3.3.1. FGC VS Saliva VS Sangue

As três principais fontes biológicas usadas no estudo dos biomarcadores em periodontite são o fluido crevicular gengival, a saliva e o sangue periférico. Diferenciam-se pela natureza dos biomarcadores detetados, pela sua especificidade, pela facilidade de recolha e pelas suas aplicações clínicas. Em termos de biomarcadores, o FGC é a matriz mais rica e mais específica das lesões periodontais. Nele encontram-se citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , enzimas proteolíticas como MMP-8 e MMP-9, mediadores lipídicos como a PGE2 e reguladores ósseos como RANKL/ OPG. Estas moléculas refletem diretamente a atividade inflamatória e destrutiva do periodonto (Barros et al., 2016; Gupta & Chhina, 2018). A saliva contém muitos destes biomarcadores, mas em concentrações mais baixas e diluídas.

Reflete mais o estado global da cavidade oral do que a atividade de um local específico. Nela são detetadas as mesmas citocinas e enzimas, mas também marcadores de stress oxidativo como a 8-OHdG. No entanto, a saliva é influenciada por fatores sistêmicos, alimentares ou comportamentais (Giannobile et al., 2009; Belstrøm, 2020). O sangue periférico, por sua vez, permite medir marcadores sistêmicos da inflamação (CRP, IL-6,

TNF- α), produtos de degradação óssea como o ICTP, assim como mediadores do stress oxidativo (AGEs). Estes biomarcadores não são específicos da periodontite, mas refletem a ligação entre esta doença e outras patologias sistémicas (Paraskevas et al., 2008; Sanz et al., 2020). A especificidade varia, portanto, de forma significativa: o FGC é específico do local e reflete diretamente a lesão periodontal ativa; a saliva oferece uma imagem global, mas menos precisa; e o sangue reflete sobretudo o estado inflamatório geral, sem distinguir entre origens locais e sistémicas. Quanto à facilidade de recolha, a saliva é a matriz mais simples e menos invasiva, o que a torna particularmente adequada para rastreios em larga escala. O FGC é também não invasivo, mas a sua recolha exige mais técnica e padronização, pois os volumes são muito pequenos e sensíveis à contaminação. O sangue requer uma recolha invasiva e é pouco usado na prática quotidiana, exceto em contextos de investigação ou de avaliação sistémica (Kinney et al., 2011; Teles et al., 2021). Em termos de aplicações, o FGC é considerado a referência para os estudos clínicos devido à sua sensibilidade e relevância diagnóstica local. A saliva é sobretudo explorada para rastreio não invasivo e vigilância epidemiológica, enquanto o sangue periférico é mais utilizado para estudar as relações entre periodontite e doenças sistémicas (Giannobile et al., 2009; Barros et al., 2016).

2.3.3.2. Vantagens do FGC em relação à Saliva e ao Sangue Periférico

O fluido gengival crevicular (FGC) apresenta várias vantagens que o tornam a fonte biológica de referência para o estudo dos biomarcadores na periodontite. Em primeiro lugar, é específico do local, pois é recolhido diretamente no sulco ou na bolsa periodontal, em contacto imediato com a lesão. Isto permite refletir fielmente a atividade inflamatória e destrutiva em torno de um dente específico, ao contrário da saliva ou do sangue, que traduzem fenómenos mais gerais (Kinney et al., 2011; Barros et al., 2016). Além disso, as concentrações de biomarcadores periodontais no FGC são geralmente mais elevadas e mais estáveis do que na saliva, onde estão diluídos, ou no sangue, onde podem ser mascarados por outras fontes inflamatórias sistémicas (Gupta & Chhina, 2018). Isso confere ao FGC uma melhor sensibilidade e especificidade na deteção da atividade periodontal. Do ponto de vista prático, a recolha é não invasiva e reproduzível, podendo ser realizada no consultório dentário com tiras absorventes ou microcapilares, sem necessidade de anestesia ou de equipamento dispendioso. Além disso, é bem aceite

pelos pacientes (Barros et al., 2016). Contudo, existem algumas limitações: a recolha do FGC exige uma técnica rigorosa para evitar a contaminação pela saliva ou pelo sangue, e a ausência de protocolos padronizados dificulta ainda a comparação dos resultados entre estudos (Christodoulides et al., 2007). Apesar destas limitações, o FGC continua a ser atualmente a matriz de eleição na investigação clínica sobre biomarcadores periodontais, e o seu potencial diagnóstico continua a ser amplamente estudado (Teles et al., 2021).

2.4. Identificação e análise dos Biomarcadores Bioquímicos

A identificação e a análise dos biomarcadores bioquímicos da periodontite baseiam-se em diferentes métodos complementares. Alguns, como os imunoenaios ou a qPCR, permitem medir com precisão moléculas específicas, enquanto outras abordagens mais globais, como a proteómica e a metabolómica, oferecem uma visão mais ampla dos processos biológicos em causa. A escolha da técnica depende do tipo de biomarcador procurado, da quantidade de amostra disponível e do objetivo clínico, seja diagnóstico, acompanhamento terapêutico ou previsão da progressão da doença (Barros et al., 2016; Giannobile et al., 2009; Teles et al., 2021).

2.5. Métodos de avaliação e análise dos Biomarcadores no FGC e na Saliva

O fluido gengival crevicular (FGC) e a saliva são hoje considerados duas matrizes essenciais para o estudo dos biomarcadores na periodontite. O FGC reflete diretamente o estado inflamatório local ao nível do periodonto, enquanto a saliva oferece uma visão global da cavidade oral. Ambos contêm uma grande variedade de moléculas, como proteínas, citocinas, enzimas, mediadores lipídicos, assim como ADN ou ARN microbiano, o que os torna fontes fiáveis para a identificação de marcadores bioquímicos (Kinney et al., 2011).

Um dos métodos mais utilizados é o teste ELISA. Após a recolha do fluido gengival com tiras absorventes ou microcapilares, ou da saliva por expectoração ou estimulação, as amostras são colocadas em placas revestidas com anticorpos específicos. As proteínas de interesse, como IL-1 β , TNF- α ou MMP-8, ligam-se a estes anticorpos. Um segundo anticorpo, marcado por uma enzima, é adicionado e reage com um substrato,

produzindo um sinal colorimétrico ou fluorescente proporcional à quantidade do biomarcador. Este método é simples, sensível e específico, mas limitado à dosagem de um número restrito de biomarcadores em simultâneo (Shah & Maghsoudlou, 2016; Teles et al., 2021).

A espectrofotometria também é usada na análise bioquímica dos fluidos orais. As amostras são misturadas com um reagente que muda de cor em função da concentração da molécula procurada. A intensidade da cor é medida por um espectrofotómetro que regista a absorvência num determinado comprimento de onda. Este método permite quantificar metabolitos como o ácido úrico ou enzimas globais presentes na saliva e no FGC, mas é pouco específico, pois não diferencia proteínas individuais (Université Grenoble Alpes, s.d.).

Uma outra abordagem essencial baseia-se na recção em cadeia da polimerase (PCR) e na sua variante quantitativa em tempo real (qPCR). Após a extração do ADN bacteriano ou do ARN mensageiro a partir do fluido recolhido, este método permite a amplificação de sequências-alvo. A versão quantitativa, através da utilização de sondas fluorescentes, acompanha a amplificação em tempo real e fornece uma medição precisa da carga de biomarcadores. Esta estratégia é particularmente útil para detectar bactérias patogénicas como *Porphyromonas gingivalis* ou *Treponema denticola*, bem como para analisar a expressão de genes associados à inflamação, como RANKL ou OPG. Embora muito sensível e específica, requer um laboratório especializado e uma competência técnica avançada (Poitras & Houde, 2002; Kinney et al., 2011).

A espetrometria de massa, nomeadamente por cromatografia líquida acoplada à espetrometria LC- MS/MS, é utilizada para analisar o proteoma do FGC e da saliva. As proteínas são primeiro extraídas e depois digeridas em péptidos por uma enzima como a tripsina. Estes péptidos são então ionizados e separados segundo a sua massa e carga, permitindo identificar e quantificar simultaneamente várias centenas de proteínas. Este método oferece uma análise muito detalhada, mas é dispendioso e difícil de aplicar na prática clínica diária, sendo sobretudo reservado à investigação (Zhou et al., 2024).

Os biossensores representam uma inovação promissora nesta área. Baseiam-se na fixação de anticorpos ou ligandos específicos numa chip ou num eléctrodo. Quando o biomarcador alvo, como IL-6 ou TNF- α , está presente, liga-se ao ligando e gera um sinal eléctrico ou

ótico mensurável em tempo real. Estes dispositivos são especialmente estudados na saliva e oferecem a perspectiva de testes rápidos no consultório, representando um grande avanço para a detecção precoce e o acompanhamento personalizado (Christodoulides et al., 2007; Floriano et al., 2014).

Por fim, a imunohistoquímica permite visualizar a localização precisa de certas proteínas nos tecidos gengivais adjacentes, mas também em células presentes no FGC. Esta técnica utiliza anticorpos marcados por fluoróforos ou enzimas que revelam a presença da proteína alvo ao microscópio. Embora muito útil na investigação para compreender a distribuição dos biomarcadores e os mecanismos patogénicos, a sua utilização permanece limitada no contexto clínico (McCulloch, 2006). Cada método apresenta, portanto, especificidades, vantagens e limitações. A escolha depende não só do tipo de biomarcador estudado, mas também do contexto clínico e dos recursos técnicos disponíveis. Na maioria dos casos, a combinação de várias técnicas continua a ser a melhor estratégia para obter resultados fidedignos e completos. Após a explanação das diferentes metodologias, apresenta-se a seguir um quadro comparativo que sintetiza as principais técnicas de análise de biomarcadores na saliva e no fluido gengival crevicular (Tabela 3) Gupta S. et al., (2018).

Tabela 3 Comparativa das principais técnicas de análise de biomarcadores na saliva e no fluido gengival crevicular Ilustração própria

Técnica	Princípio de funcionamento	Vantagens e limitações
ELISA	Deteção baseada na ligação antígeno-anticorpo, seguida de reação enzimática com leitura colorimétrica ou fluorescente.	Alta sensibilidade e especificidade. Limitação: mede apenas alguns biomarcadores de cada vez.
Espectrofotometria	Mede a absorvância da luz por moléculas específicas numa solução após reação química.	Simples e acessível. Limitação: pouca especificidade, adequada apenas para parâmetros globais.
PCR / qPCR	Amplificação de sequências de ADN ou ARN microbiano, com deteção em tempo real através de fluorescência.	Muito sensível e específica, permite quantificação. Limitação: exige laboratório e equipamento avançado.
Espectrometria de massa (LC-MS/MS)	Identificação e quantificação de proteínas após digestão enzimática, com separação por massa/carga.	Permite analisar centenas de proteínas simultaneamente. Limitação: custo elevado e uso restrito à investigação.
Biossensores	Ligação de biomarcadores a anticorpos ou ligandos fixados numa superfície, gerando sinal elétrico ou ótico.	Deteção rápida e em tempo real, potencial clínico no consultório. Limitação: ainda em fase de validação.
Imuno-histoquímica	Anticorpos marcados com enzimas ou fluoróforos permitem visualizar proteínas específicas ao microscópio.	Útil em investigação para localizar biomarcadores nos tecidos. Limitação: pouco aplicável em clínica.

2.5.1. Biomarcadores principais analisados com estas Técnicas

Os progressos das metodologias analíticas permitiram a identificação de um conjunto de biomarcadores-chave no fluido gengival crevicular (FGC), na saliva e no sangue periférico. Estes biomarcadores refletem diferentes aspetos da patogénese periodontal, desde a inflamação inicial até à destruição tecidular e óssea. As citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-1 β (IL-1 β), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6 (IL-6) estão entre as moléculas mais estudadas. Encontram-se fortemente aumentadas nos locais periodontais ativos e estão associadas à gravidade da inflamação. A sua quantificação baseia-se essencialmente no ELISA, que permite uma deteção sensível e específica (Teles et al., 2021; Barros et al., 2016).

As metaloproteínas da matriz (MMP), em particular a MMP-8 e a MMP-9, são também marcadores essenciais. Estas enzimas, secretadas pelos neutrófilos e macrófagos, degradam o colagénio do ligamento periodontal e da matriz extracelular. A sua presença

em concentração elevada no FGC e na saliva está fortemente correlacionada com a perda de inserção clínica e com a destruição óssea (Kinney et al., 2011; Gupta & Chhina, 2018). Os mediadores lipídicos, como a prostaglandina E2 (PGE2), são detetados através de ELISA ou de abordagens cromatográficas. O seu papel está particularmente ligado à osteoclastogénese e à reabsorção óssea. Níveis elevados de PGE2 no FGC foram associados a locais com elevada atividade patológica (Offenbacher et al., 1993; Zhou et al., 2024).

Os marcadores ósseos, como o ligando do recetor ativador do fator nuclear kappa-B (RANKL) e a osteoprotegerina (OPG), são estudados por PCR em tempo real e ELISA. A relação RANKL/OPG é um indicador reconhecido da ativação osteoclástica e, portanto, da reabsorção óssea na periodontite (Kinney et al., 2011; Teles et al., 2021). Por fim, os anticorpos específicos dirigidos contra as bactérias periodonto patogénicas e os fragmentos bacterianos como o lipopolissacárido (LPS) podem ser detetados no FGC, na saliva e no sangue. Estes marcadores evidenciam a interação direta entre o biofilme patogénico e a resposta imunitária do hospedeiro (Sedghi et al., 2021; Hajishengallis, 2015).

Em conjunto, estes biomarcadores constituem um painel representativo dos eventos fisiopatológicos da periodontite. A sua combinação, em vez da análise isolada, é hoje preferida para melhorar a sensibilidade e a especificidade dos diagnósticos. Esta abordagem multiparamétrica permite avaliar melhor a atividade da doença e o risco de progressão, tendo em conta a complexidade da resposta inflamatória e a variabilidade interindividual (Taba et al., 2012; Kinney et al., 2011).

Com base nas informações apresentadas sobre o papel dos biomarcadores, o quadro seguinte resume os principais biomarcadores envolvidos na periodontite juntamente com os respetivos métodos de deteção (Tabela 4)

Tabela 4 Biomarcadores que atuam na periodontite com o seu método de detecção Ilustração própria

Biomarcador	Função	Métodos de detecção
IL-1β	Citocina pró-inflamatória – estimula enzimas destrutivas	ELISA, PCR
TNF-α	Citocina pró-inflamatória – ativa a resposta imune	ELISA
IL-6	Citocina pró-inflamatória – promove inflamação crônica	ELISA
PGE2	Mediador lipídico – induz inflamação e reabsorção óssea	ELISA, imunoensaio
MMP-8	Enzima – degrada o colágeno da matriz extracelular	ELISA, espectrometria
MMP-9	Enzima – degrada componentes da matriz extracelular	ELISA, espectrometria
RANKL	Estimula ativação de osteoclastos – favorece perda óssea	ELISA, PCR
OPG	Inibe RANKL – protege contra reabsorção óssea	ELISA
Visfatina	Adipocina – correlacionada com inflamação periodontal	ELISA, espectrometria
LIGHT (TNFSF14)	Citocina da família TNF – envolvida em formas agressivas	ELISA, PCR

2.5.2. Fiabilidade, sensibilidade e limites dos métodos atuais de análise dos Biomarcadores

A análise dos biomarcadores bioquímicos na periodontite desperta um interesse crescente na investigação, mas a sua aplicação clínica continua limitada devido a várias restrições metodológicas e biológicas. A primeira dificuldade reside na variabilidade das colheitas. O fluido gengival crevicular (FGC), a saliva e o sangue periférico apresentam cada um especificidades, mas o método de recolha influencia fortemente os resultados. Por exemplo, no FGC, a utilização de tiras absorventes ou de microcapilares pode levar a volumes diferentes e a contaminação pela saliva ou pelo sangue, o que altera a concentração medida em biomarcadores (Offenbacher et al., 2007; Miller et al., 2006). De forma semelhante, na saliva, a recolha estimulada ou não estimulada provoca variações na composição bioquímica, dificultando as comparações entre estudos. Outro fator limitante refere-se à sensibilidade e especificidade das técnicas disponíveis.

O teste ELISA é amplamente utilizado para quantificar citocinas e enzimas, e oferece boa sensibilidade, mas está limitado a um número restrito de biomarcadores de cada vez (Shah & Maghsoudlou, 2016).

A PCR em tempo real (qPCR) constitui um método extremamente específico e sensível para a detecção de ADN ou ARN bacterianos e de genes relacionados com a

inflamação, mas requer material intacto e condições de manipulação rigorosas (Kinney et al., 2011).

A espectrometria de massa permite uma análise proteômica e metabolômica de alta resolução e a detecção simultânea de um grande número de biomoléculas, mas o seu elevado custo, a sua complexidade e a necessidade de um ambiente laboratorial especializado limitam a sua utilização corrente (Zhou et al., 2024).

Os níveis dos biomarcadores são também influenciados por fatores sistêmicos e ambientais, o que complica a sua interpretação clínica. Assim, o tabagismo está associado a uma redução do fluxo de FGC e a uma alteração das concentrações de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e o TNF- α , independentemente do estado periodontal local (Leite et al., 2018).

Do mesmo modo, doenças sistêmicas como a diabetes ou variações hormonais (gravidez, menopausa) provocam uma expressão aumentada de certos biomarcadores, sem que isso reflita necessariamente a atividade da periodontite (Stöhr et al., 2021). Por fim, uma limitação importante reside na ausência de protocolos padronizados para a recolha, conservação e análise das amostras. Os métodos de dosagem variam consideravelmente entre as equipas de investigação (ELISA, PCR, espectrometria de massa, imunohistoquímica), o que dificulta a comparação dos resultados e impede o estabelecimento de limiares diagnósticos universais (Giannobile et al., 2009; Christodoulides et al., 2007).

2.6. Correlação entre os Biomarcadores e a gravidade da Periodontite

A avaliação dos biomarcadores bioquímicos na periodontite não se limita à sua simples detecção, mas procura sobretudo determinar a sua capacidade de refletir a gravidade e a atividade da doença. Com efeito, os parâmetros clínicos tradicionais, como a profundidade da bolsa, a perda de inserção clínica ou a reabsorção óssea, fornecem apenas uma visão retrospectiva da destruição já ocorrida. Os biomarcadores, pelo contrário, oferecem um potencial único para identificar os locais ativos da doença e prever a sua evolução (Kinney et al., 2011; Giannobile, 2014). Vários trabalhos mostraram que

citocinas, enzimas, mediadores lipídicos e marcadores ósseos presentes no fluido gengival crevicular (FGC), na saliva e no sangue periférico apresentam correlações significativas com a gravidade clínica da periodontite, reforçando o seu interesse como ferramentas de diagnóstico e de acompanhamento (Engebretson & Lamster, 2011; Teles et al., 2021; Zhou et al., 2024).

2.6.1. Estudos Clínicos

A investigação clínica demonstrou que a progressão e a gravidade da periodontite não dependem apenas da presença das bactérias, mas também das respostas bioquímicas medidas em diferentes fluidos biológicos. Os biomarcadores bioquímicos presentes no FGC, na saliva e no sangue periférico permitem avaliar a atividade inflamatória e destrutiva dos tecidos. Várias famílias de biomarcadores foram amplamente estudadas, nomeadamente as citocinas pró- inflamatórias, as enzimas proteolíticas, os mediadores da reabsorção óssea e os marcadores do stress oxidativo, cada uma refletindo um aspeto particular da patogénese periodontal (Kinney et al., 2011; Teles et al., 2021; Ebersole et al., 2020).

As citocinas pró-inflamatórias estão entre os biomarcadores mais estudados na periodontite. A interleucina-1 beta (IL-1 β), em particular, tem sido associada há muito tempo à destruição tecidual. Num estudo pioneiro, Offenbacher et al. (1993) mostraram que as concentrações de IL-1 β no FGC aumentavam significativamente nos locais com perda de inserção, com um valor preditivo de 74% para a progressão.

Mais recentemente, Teles et al. (2021), numa coorte seguida durante 12 meses, confirmaram que IL-1 β e IL-6 aumentavam fortemente nos locais inflamatórios ativos em comparação com os locais estáveis. A IL-17, secretada pelos linfócitos Th17 e conhecida por estimular a osteoclastogénese, foi também destacada: Lee et al. (2023), num estudo salivar com 122 pacientes, observaram que a IL-17 estava correlacionada com a gravidade da perda óssea radiográfica ($r = 0,64$; $p < 0,01$). Xu et al. (2024) relataram igualmente que os níveis salivares de TNF- α eram significativamente mais elevados nas periodontites graves (estádios III–IV), com uma especificidade de 81% para discriminar os casos mais severos. Estes resultados confirmam que as citocinas traduzem diretamente a intensidade e a cronicidade da inflamação local.

As enzimas proteolíticas, e em particular as metaloproteínas da matriz como MMP-8 e MMP-9, desempenham um papel central na degradação do colagénio e das estruturas conjuntivas. Kinney et al. (2011) mostraram que as concentrações de MMP-8 no FGC eram significativamente mais elevadas em bolsas profundas (> 6 mm) do que em locais saudáveis. Zhou et al. (2024) confirmaram, através de uma análise proteómica do FGC, que MMP-8 e MMP-9 estavam entre os marcadores mais discriminativos dos locais ativos. O valor clínico reforçou-se com os testes salivares rápidos: Sorsa et al. (2023), num estudo multicêntrico, mostraram que um teste no consultório baseado na MMP-8 detetava periodontites graves com uma sensibilidade de 83% e uma especificidade de 78%. Os biomarcadores ósseos são essenciais, pois a reabsorção óssea está no centro da periodontite.

O sistema RANK/RANKL/OPG, pilar da osteoclastogénese, é particularmente informativo. Bostanci et al. (2007) mostraram que o aumento de RANKL e a relação RANKL/OPG elevada no FGC estavam associados à destruição óssea alveolar. Mais recentemente, Sorsa et al. (2024) relataram que a combinação dos testes salivares de RANKL e MMP-8 permitia identificar com cerca de 90% de precisão os pacientes com perda óssea avançada, ilustrando o interesse dos painéis que combinam marcadores ósseos e proteolíticos. Os biomarcadores do stress oxidativo fornecem uma informação complementar, pois refletem os danos moleculares relacionados com os radicais livres. Takane et al. (2002) mostraram que a 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), marcador da oxidação do ADN, era significativamente mais elevada no FGC dos pacientes com periodontite do que nos controlos. Al-Salihi et al. (2023) confirmaram que os níveis salivares de 8-OHdG e de AGEs aumentavam proporcionalmente à profundidade das bolsas e à perda de inserção clínica ($p < 0,001$).

No plano sistémico, Ebersole et al. (2020) mostraram que os pacientes com periodontite grave apresentavam níveis plasmáticos mais elevados de CRP e IL-6, estabelecendo uma ligação entre periodontite e inflamação sistémica. Em conjunto, estes resultados clínicos mostram que as citocinas informam sobre a intensidade da inflamação, que as metaloproteínas refletem a destruição dos tecidos de suporte, que o sistema RANKL/OPG indica a reabsorção óssea e que os marcadores do stress oxidativo traduzem a agressão celular e os efeitos sistémicos. Além disso, o uso de painéis multi-analíticos que combinam várias famílias de biomarcadores e várias matrizes (FGC, saliva,

sangue) melhora o desempenho diagnóstico e a estratificação do risco, enquadrando-se numa abordagem mais personalizada da gestão periodontal (Kinney et al., 2011; Ramseier et al., 2009; Giannobile, 2014). Assim, depois de evidenciar as correlações entre os níveis de biomarcadores e a gravidade clínica da periodontite, torna-se necessário considerar a sua utilidade potencial na prática clínica.

2.6.2. Implicações clínicas: utilização dos Biomarcadores para um diagnóstico precoce e personalizado

A integração dos biomarcadores bioquímicos na prática clínica abre perspectivas promissoras para a periodontologia moderna. A sua utilização não se limita à investigação: podem contribuir para um diagnóstico mais precoce, para uma estratificação personalizada dos pacientes segundo o seu perfil de risco e para um acompanhamento dinâmico da eficácia terapêutica. Ao contrário dos métodos de diagnóstico tradicionais, que identificam a periodontite numa fase avançada após o aparecimento de lesões irreversíveis, os biomarcadores permitem detetar sinais de atividade inflamatória muito antes da perda de inserção clínica e da reabsorção óssea (Kinney et al., 2011; Taba et al., 2012).

Um primeiro eixo de aplicação refere-se ao diagnóstico precoce. Vários estudos mostraram que citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β ou enzimas como a MMP-8 aumentam significativamente no fluido gengival crevicular ou na saliva desde os primeiros sinais da doença. Nędzi-Góra et al. (2017) observaram uma elevação precoce da IL-1 β e da MMP-8 em correlação com a profundidade da bolsa, enquanto Uzar et al. (2025) confirmaram que estes biomarcadores salivares refletiam a gravidade da periodontite, sugerindo a sua utilização como ferramentas não invasivas de rastreio precoce.

Um segundo eixo está ligado à estratificação personalizada dos pacientes. A resposta imunitária e inflamatória varia consideravelmente de indivíduo para indivíduo. Os biomarcadores permitem identificar perfis de risco distintos e prever a velocidade de progressão da doença. Os trabalhos de Sojod et al. (2017) e de Pandit (2021) mostraram que uma relação elevada RANKL/OPG está associada a uma atividade aumentada de osteoclastogénese e a formas graves de periodontite. Estes resultados foram confirmados

por Kılıç et al. (2021), que observaram em pacientes com periodontite níveis mais elevados de RANKL e mais baixos de OPG do que em controlos saudáveis. A medição desta relação poderia, assim, orientar a frequência do acompanhamento e a intensidade terapêutica segundo o perfil biológico do paciente. Finalmente, um terceiro eixo diz respeito ao acompanhamento terapêutico.

Os biomarcadores oferecem a possibilidade de avaliar a eficácia de um tratamento mesmo antes de os parâmetros clínicos clássicos, como a profundidade da bolsa ou a perda de inserção, se modificarem (Cheng et al. 2020) evidenciaram que os níveis salivares e de FGC em IL-1 β permaneciam estreitamente associados à atividade do inflamassoma NLRP3, sublinhando a sua utilidade para monitorizar a resposta inflamatória residual após o tratamento. De modo semelhante, Rathnayake et al. (2013) mostraram que a medição salivar da MMP-8 podia servir de biomarcador dinâmico para acompanhar a eficácia dos tratamentos não cirúrgicos. Em resumo, a utilização clínica dos biomarcadores bioquímicos permite considerar uma medicina periodontal mais precoce, personalizada e reativa. Combinando marcadores inflamatórios como a IL-1 β ou a MMP-8 com marcadores ósseos como a relação RANKL/OPG, é possível melhorar o diagnóstico, adaptar os protocolos terapêuticos e otimizar a prevenção das recidivas. Estes avanços colocam os biomarcadores no centro das estratégias modernas de tratamento periodontal (Kinney et al., 2011; Hajishengallis, 2015).

2.7. Perspetivas Futuras

O conjunto dos resultados científicos sublinha o papel central dos biomarcadores na compreensão e no tratamento da periodontite. No entanto, a sua utilização clínica continua ainda limitada, o que justifica explorar as perspetivas futuras, tanto ao nível da investigação, das suas aplicações potenciais na prática como dos desafios que permanecem.

2.7.1. Investigações em curso

A investigação sobre os biomarcadores bioquímicos da periodontite está em plena expansão, mas a sua utilização continua ainda largamente limitada ao âmbito

experimental e a estudos clínicos controlados. Os trabalhos mais recentes mostram que vários biomarcadores salivares e presentes no fluido gengival crevicular, como a interleucina-1 β (IL-1 β), o TNF- α e a colagenase MMP-8, estão fortemente associados aos primeiros estadios inflamatórios e poderiam, portanto, servir como marcadores precoces da doença (Sachelarie et al., 2025; Francis et al., 2023). Em pacientes com diabetes tipo 2, o estudo de (Ebersole et al. 2024) confirmou que os níveis salivares de MMP-8, MMP-9, IL-1 β e IL-6 estão significativamente correlacionados com a gravidade da periodontite, o que sublinha o potencial destes biomarcadores no acompanhamento de populações de risco. Paralelamente, as pesquisas tecnológicas desenvolvem-se com o surgimento de biossensores portáteis capazes de detetar vários biomarcadores salivares em tempo real. Por exemplo, (Hooshiar et al. 2024) descreveram um sensor baseado em nanomateriais que permite a deteção sensível da elastase dos neutrófilos humanos (HNE) e da Cathepsina-G, duas enzimas associadas à inflamação periodontal. Estas inovações, que se inserem no campo dos diagnósticos rápidos no consultório, estão ainda em fase de validação clínica e necessitam de protocolos de padronização antes da sua utilização generalizada (Griffith et al., 2024).

Apesar destes avanços, a implementação continua limitada por vários obstáculos. Por um lado, os biomarcadores apresentam uma variabilidade inter- e Intra individual importante, influenciada por fatores como a alimentação, a hora do dia ou as comorbilidades sistémicas. Rocha et al. (2024) mostraram, por exemplo, que os níveis salivares de IL-6 e IL-8 podem flutuar consideravelmente no mesmo dia, o que complica a sua interpretação clínica. Por outro lado, a ausência de protocolos padronizados de recolha e de análise impede ainda a comparação direta entre os estudos (Dolińska et al., 2024). Assim, embora os biomarcadores salivares, sanguíneos e provenientes do fluido gengival pareçam promissores para o diagnóstico e acompanhamento da periodontite, a sua utilização permanece atualmente confinada à investigação. As próximas etapas deverão visar a validação de painéis de biomarcadores fiáveis, a harmonização dos métodos de recolha e análise e a integração destas ferramentas em dispositivos adaptados à prática clínica quotidiana (Kinane, Stathopoulou & Papapanou, 2017).

2.7.2. Aplicações potenciais na prática clínica

A utilização dos biomarcadores na periodontite tem um potencial concreto para melhorar o diagnóstico, o acompanhamento e o tratamento, mas as aplicações clínicas estão ainda em fase de desenvolvimento ou validação. Em primeiro lugar, os testes point-of-care (POC) destinados à detecção rápida de biomarcadores na saliva ou no fluido gengival representam um avanço importante. O artigo “*Periodontal disease and emerging point-of-care Technologies*” (Korgaonkar et al., 2024) descreve várias tecnologias de biossensores e dispositivos POC em desenvolvimento, que visam detectar biomarcadores como aMMP-8, o TNF- α ou mediadores relacionados com a inflamação através de aparelhos miniaturizados, rápidos e fáceis de usar. De seguida, Hooshier et al. (2024) desenvolveram um biossensor portátil baseado em nano materiais, capaz de detectar simultaneamente duas enzimas inflamatórias salivares a elastase dos neutrófilos humanos (HNE) e a Catepsina-G. Este dispositivo multiplex apresenta ótima sensibilidade e especificidade, com baixos limites de detecção, o que torna possível a sua utilização para distinguir entre saúde periodontal e estado patológico inflamatório.

Outra inovação diz respeito ao sensor ótico baseado na ressonância plasmônica para a interleucina-1 β . O estudo de (Cennamo et al. 2024) descreve um dispositivo de fibra ótica SPR (*Surface Plasmon Resonance*) capaz de detectar IL-1 β na saliva com um baixo limite de detecção. Este tipo de tecnologia permite um acompanhamento quase em tempo real da inflamação local com uma ferramenta utilizável fora do laboratório.

Além disso, um estudo recentemente publicado (Sachelarie et al., 2025) comparou os biomarcadores salivares IL-1 β e MMP-8 em pacientes com diferentes estadios de periodontite segundo os critérios EFP/AAP de 2018. Mostrou que estes biomarcadores refletem não apenas a inflamação precoce, mas também os sinais de destruição tecidual, e que a sua combinação melhora a precisão diagnóstica. Isto sugere que os testes baseados nestes biomarcadores poderiam ser integrados nos protocolos de diagnóstico desde os primeiros estadios da doença.

Contudo, algumas limitações persistem: a maioria destes dispositivos encontra-se ainda em fase de protótipo ou de estudo piloto. O custo, a robustez, a reprodutibilidade em condições clínicas reais e a padronização dos limiares diagnósticos continuam a ser obstáculos. Por exemplo, na revisão “*Recent advances of oral fluids-based point-of-contact testing*”, Chai et al. (2025) salientam que, apesar de muitos progressos nos

dispositivos POC, continua a existir uma lacuna entre os resultados promissores em laboratório e a sua validação em contexto clínico diário. Em suma, as aplicações potenciais incluem:

- testes POC salivares ou gengivais para um diagnóstico mais precoce,
- dispositivos portáteis para monitorizar a resposta ao tratamento,
- ferramentas de estratificação do risco para adaptar os cuidados.

Mas a sua adoção clínica exigirá superar barreiras tecnológicas, económicas e metodológicas.

2.7.3. Desafios e Limitações

Apesar dos avanços promissores na identificação dos biomarcadores bioquímicos da periodontite, vários obstáculos devem ainda ser superados antes da sua integração ampla na prática clínica. Um dos principais desafios reside na variabilidade interindividual. Os níveis de biomarcadores são fortemente influenciados por fatores sistémicos como o tabagismo, a diabetes, a idade, o sexo ou ainda os hábitos alimentares. Esta influência externa dificulta o estabelecimento de limiares universais e fiáveis que permitam interpretar os resultados de forma padronizada para todos os pacientes (Leite et al., 2018; Rathnayake et al., 2019).

Um segundo obstáculo importante refere-se à ausência de protocolos padronizados para a recolha e análise das amostras biológicas. As diferenças nas matrizes utilizadas (fluido gengival, saliva ou sangue periférico), nos métodos de recolha (tiras absorventes, microcapilares, recolha direta de saliva), bem como nas condições de conservação e armazenamento, podem alterar a composição das amostras. A isto acrescenta-se uma grande variabilidade nas técnicas analíticas empregues, seja o ELISA, a PCR em tempo real ou a espetrometria de massa. Esta heterogeneidade limita a comparabilidade entre os estudos e dificulta a transposição dos resultados para ferramentas clínicas reprodutíveis (Giannobile et al., 2009; Barros et al., 2016; Zhang et al., 2022). Um terceiro desafio importante está relacionado com a acessibilidade tecnológica. As abordagens avançadas, como a proteómica, a transcriptómica e a metabolómica, exigem infraestruturas de investigação especializadas, competências técnicas elevadas e custos significativos, o que limita a sua disponibilidade na prática clínica corrente. Quanto aos biossensores portáteis e microfluídicos representam uma via interessante para um diagnóstico rápido no

consultório, mas permanecem, por enquanto, sobretudo em fase experimental e requerem validações clínicas adicionais (Christodoulides et al., 2007; Ebersole et al., 2020; Gupta et al., 2023). Para ultrapassar estas limitações, são necessários ensaios clínicos multicêntricos e randomizados realizados em grandes coortes. Estes estudos devem permitir validar a fiabilidade dos biomarcadores, estabelecer valores de referência normalizados e publicar recomendações internacionais que facilitem a sua utilização clínica. Sem esta etapa, a integração dos biomarcadores continuará limitada à investigação experimental e não poderá beneficiar plenamente os pacientes (Taba et al., 2021; Kinane et al., 2017).

Em resumo, os biomarcadores oferecem um potencial considerável para transformar o diagnóstico, a prevenção e o acompanhamento terapêutico da periodontite. No entanto, a sua utilização de rotina em consultório dentário dependerá de esforços adicionais para reduzir a variabilidade interindividual, padronizar os protocolos e tornar as tecnologias mais acessíveis e economicamente viáveis.

3. CONCLUSÃO

A periodontite continua a ser uma doença inflamatória crônica complexa, cujo diagnóstico ainda se baseia principalmente em parâmetros clínicos e radiográficos. Embora úteis, estes métodos não permitem identificar precocemente a atividade da doença nem prever a sua evolução.

As investigações recentes mostraram que os biomarcadores bioquímicos representam indicadores promissores para compreender melhor, diagnosticar e monitorizar a periodontite. Detetados no fluido gengival crevicular, na saliva ou no sangue periférico, refletem a atividade inflamatória, a degradação tecidual e o remodelamento ósseo. O seu interesse reside na possibilidade de um diagnóstico mais precoce, de uma estratificação personalizada do risco e de um acompanhamento mais dinâmico da resposta terapêutica.

No entanto, apesar dos avanços científicos e tecnológicos, a utilização destes biomarcadores na prática clínica diária ainda não é uma realidade. Persistem vários obstáculos: variabilidade interindividual, influência de fatores sistêmicos, ausência de protocolos padronizados e custo elevado de algumas técnicas. Estas limitações explicam porque, até hoje, os biomarcadores permanecem sobretudo no âmbito da investigação experimental e ainda não estão integrados no diagnóstico de rotina.

Em conclusão, os biomarcadores bioquímicos oferecem uma perspetiva promissora para transformar a abordagem da periodontite, tornando-a mais precoce, precisa e personalizada. Contudo, a sua validação em larga escala e a padronização dos métodos são indispensáveis antes de poderem ser plenamente adotados na clínica. O futuro da periodontologia reside, assim, na continuidade destes trabalhos, de forma a passar da investigação experimental à aplicação prática em benefício dos pacientes.

4. BIBLIOGRAFIA

Akcali, A., Huck, O., Tenenbaum, H., Davideau, J. L., & Buduneli, N. (2012). Periodontal diseases and stress: a brief review. *Journal Of Oral Rehabilitation*, 40(1), 60-68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2012.02341.x>

Alayadi, H. (2024). The Impact of Nicotine Patches on Gingival and Oral Health : A Narrative Review. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.70571>

Antunes, A., Botelho, J., Mendes, J. J., Delgado, A. S., Machado, V., & Proença, L. (2022). Geographical Distribution of Periodontitis Risk and Prevalence in Portugal Using Multivariable Data Mining and Modeling. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 19(20), 13634. <https://doi.org/10.3390/ijerph192013634>

Arboleda, S., Vargas, M., Losada, S., & Pinto, A. (2019). Review of obesity and periodontitis : an epidemiological view. *BDJ*, 227(3), 235-239. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0611-1>

Atkinson, A. J., Colburn, W. A., DeGruttola, V. G., DeMets, D. L., Downing, G. J., Hoth, D. F., Oates, J. A., Peck, C. C., Schooley, R. T., Spilker, B. A., Woodcock, J., & Zeger, S. L. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints : Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3), 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>

Barros, S. P., Williams, R., Offenbacher, S., & Morelli, T. (2016). Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontology 2000*, 70(1), 53–64. <https://doi.org/10.1111/prd.12100>

Belibasakis, G. N., & Bostanci, N. (2012). RANKL and OPG in periodontal disease. *Journal of Dental Research*, 91(9), 933–939. <https://doi.org/10.1177/0022034512455039>

Belstrøm, D. (2020). The salivary microbiota in health and disease. *Journal Of Oral Microbiology*, 12(1), 1723975. <https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1723975>

Berezow, A. B., & Darveau, R. P. (2010). Microbial shift and periodontitis. *Periodontology* 2000, 55(1), 36-47. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2010.00350.x>

Bhatia, G., Kumar, A., Khatri, M., Bansal, M., & Saxena, S. (2015). Assessment of the width of attached gingiva using different methods in various age groups : A clinical study. *Journal Of Indian Society Of Periodontology*, 19(2), 199. <https://doi.org/10.4103/0972-124x.152106>

Bostanci, N., İlgenli, T., Emingil, G., Afacan, B., Han, B., Töz, H., Atilla, G., Hughes, F. J., & Belibasakis, G. N. (2007). Gingival crevicular fluid levels of RANKL and OPG in periodontal diseases : implications of their relative ratio. *Journal Of Clinical Periodontology*, 34(5), 370-376. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2007.01061.x>

Bosshardt, D. D. (2005). The junctional epithelium: From health to disease. *Journal of Dental Research*, 84(1), 9–20. <https://doi.org/10.1177/154405910508400102>

Boyle, W. J., Simonet, W. S., & Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 423(6937), 337–342. <https://doi.org/10.1038/nature01658>

Brufsky, A., & Mathew, A. (2015). Bisphosphonates, bone, and breast cancer recurrence. *The Lancet*, 386(10001), 1319-1320. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)61163-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)61163-1)

Buduneli, N., Zhang, Y., & Zhang, J. (2024). Utility of gingival crevicular fluid components for periodontal clinical decision-making. *Frontiers in Dental Medicine*, 5, 1382773. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2024.1382773>

Canakci, C. F., Cicek, Y., Yildirim, A., Sezer, U., & Canakci, V. (2009). Increased Levels of 8-Hydroxydeoxyguanosine and Malondialdehyde and its Relationship with Antioxidant Enzymes in Saliva of Periodontitis Patients. *European Journal Of Dentistry*, 03(02), 100-106. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1697415>

Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., Mealey, B. L., Papapanou, P. N., Sanz, M., & Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal Of Periodontology*, 89(S1). <https://doi.org/10.1002/jper.18-0157>

Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2013). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(1), 57-80. <https://doi.org/10.1111/prd.12002>

Chapple, I. L. C., & Matthews, J. B. (2007). The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology 2000*, 43(1), 160-232. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00178.x>

Cheng, R., Wu, Z., Li, M., Shao, M., & Hu, T. (2020). Interleukin-1 β is a potential therapeutic target for periodontitis : a narrative review. *International Journal Of Oral Science*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41368-019-0068-8>

Christodoulides, N., Floriano, P. N., Miller, C. S., Ebersole, J. L., Mohanty, S., Dharshan, P., Griffin, M., Lennart, A., Ballard, K. L. M., King, C. P., Langub, M. C., Kryscio, R. J., Thomas, M. V., & McDEVITT, J. T. (2007). Lab-on-a-Chip Methods for Point-of-Care Measurements of Salivary Biomarkers of Periodontitis. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1098(1), 411-428. <https://doi.org/10.1196/annals.1384.035>

Ciancio, S. G. (2005). Medications : A Risk Factor for Periodontal Disease Diagnosis and Treatment. *Journal Of Periodontology*, 76(11S), 2061-2065. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.11-s.2061>

Crotti, T., Smith, M. D., Hirsch, R., Soukoulis, S., Weedon, H., Capone, M., ... Haynes, D. R. (2003). Receptor activator NF- κ B ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) protein expression in periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 38(4), 380–387. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0765.2003.00658.x>

Dehoux, M. (2012). Évaluation d'un biomarqueur : Caractéristiques biochimiques. In Y.-É. Claessens & P. Ray (Éds.), *Les biomarqueurs en médecine d'urgence : Des données biologiques au lit du malade* (p. 43-51). Springer. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0297-8_6

De Oliveira Monteiro, A. B., Honnef, L. R., De Oliveira, J. M. D., Pauletto, P., Massignan, C., Stefani, C. M., Zimmermann, G. S., & De Luca Canto, G. (2025). Prevalence of periodontitis in adolescents: A systematic review protocol. *PLoS ONE*, 20(5), e0321993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0321993>

D'Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P., Ready, D., & Tonetti. (2004). Periodontitis and Systemic Inflammation : Control of the Local Infection is Associated with a Reduction in Serum Inflammatory Markers. *Journal Of Dental Research*, 83(2), 156-160. <https://doi.org/10.1177/154405910408300214>

Do, T. T., Ito, H., Takahashi, N., & Sugano, N. (2024). Tight junction dysfunction in dental diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7822. <https://doi.org/10.3390/ijms25147822>

Dolińska, E., Wiśniewski, P., & Pietruska, M. (2024). Periodontal Molecular Diagnostics : State of Knowledge and Future Prospects for Clinical Application. *International Journal Of Molecular Sciences*, 25(23), 12624. <https://doi.org/10.3390/ijms252312624>

Dubois, M., Laurent, T., & Leroy, O. (2024). *J. Oral Microbiology*, 16(1), 228–239. <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2282390>

Durand, C., Boudet, A., Lavigne, J., & Pantel, A. (2020). Evaluation of two methods for the detection of third generation cephalosporins resistant enterobacterales directly from

positive blood cultures. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00491>

Ebersole, J. L., Nagarajan, R., Akers, D., & Miller, C. S. (2015). Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 62. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00062>

Ebersole, J. L., Kirakodu, S. S., Zhang, X. D., Dawson, D., & Miller, C. S. (2024). Salivary features of periodontitis and gingivitis in type 2 diabetes mellitus. *Scientific Reports*, 14, 30649. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-77434-2>

Eke, P. I., Thornton-Evans, G. O., Wei, L., Borgnakke, W. S., Dye, B. A., & Genco, R. J. (2018). Periodontitis in US adults. *The Journal of the American Dental Association*, 149(7), 576-588.e6. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.04.023>

Engelbreton, S., & Lamster, I. (2011).

Fiorellini JP, Kao DWK, Kim DM, Uzel NG. Anatomy of the Periodontium. Em: Carranza's Clinical Periodontology [Internet]. Elsevier; 2012 [citado 27 de novembro de 2024]. p. 12-27.e12. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781437704167000020>. doi:10.1016/B978-1-4377-0416-7.00002-0

Francis, N., Sanaei, R., Ayodele, B. A., O'Brien-Simpson, N. M., Fairlie, D. P., Wijeyewickrema, L. C., Pike, R. N., Mackie, E. J., & Pagel, C. N. (2023). Effect of a protease-activated receptor-2 antagonist (GB88) on inflammation-related loss of alveolar bone in periodontal disease. *Journal Of Periodontal Research*, 58(3), 544-552. <https://doi.org/10.1111/jre.13120>

Frencken, J. E., Sharma, P., Stenhouse, L., Green, D., Lavery, D., & Dietrich, T. (2017). Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(S18). <https://doi.org/10.1111/jcpe.12677>

Gasner, N. S., & Schure, R. S. (2025, May 12). Periodontal disease. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554590/>

Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000, 62(1), 59–94. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x>

Germen, M., Baser, U., Lacin, C. C., Fıratlı, E., İşsever, H., & Yalcin, F. (2021). Periodontitis prevalence, severity, and risk factors: A comparison of the AAP/CDC case definition and the EFP/AAP classification. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(7), 3459. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073459>

Giannobile, W. V. (2014). Commentary: Treatment of periodontitis: Destroyed periodontal tissues can be regenerated under certain conditions. *Journal of Periodontology*, 85(9), 1151–1154. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140254>

Giannobile, W. V., Beikler, T., Kinney, J. S., Ramseier, C. A., Morelli, T., & Wong, D. T. (2009). Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontology* 2000, 50(1), 52–64. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2008.00288.x>

Giannobile, W. V. (2012). Salivary diagnostics for periodontal diseases. *The Journal of the American Dental Association*, 143, 6S-11S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2012.0341>

Gimeno-Gracia, M., Crusells-Canales, M., Guarc-Prades, E., & Rabanaque-Hernández, M. (2017). Utilización de los servicios sanitarios por la población de varones de edad avanzada con infección por VIH. *Revista Clínica Española*, 217(5), 304–306. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2016.12.007>

Goldberg, M. (2010). Dentin structure composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience-Elite*, E3(2), 711–735. <https://doi.org/10.2741/e281>

- Gomide, L. M. (2022). *Estudo retrospectivo da prevalência da periodontite na pós-graduação de periodontologia*[Mémoire de master, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Dentária]. Repositório da Universidade de Lisboa. <https://repositorio.ulisboa.pt/handle/10451/55825>
- Graves, D. (2008). Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *Journal of Periodontology*, 79(8S), 1585–1591. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.080183>
- Graves, D. T., Ding, Z., & Yang, Y. (2019). The impact of diabetes on periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 82(1), 214–224. <https://doi.org/10.1111/prd.12318>
- Griffith, C., Martinez, J., & Giannobile, W. V. (2024). Point-of-care diagnostics in periodontology: Current status and future perspectives. *Periodontology 2000*, 84(1), 340–360. <https://doi.org/10.1111/prd.12480>
- Guentsch, A., Kramesberger, M., Sroka, A., Pfister, W., Potempa, J., & Eick, S. (2009). Immunomodulatory effects of non-antibiotic tetracyclines on human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontology*, 80(6), 884–892. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.080572>
- Gungor, O., Caliskan, R., Tekin, B., & Yildirim, A. (2024). Evaluation of oxidative stress markers in patients with periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 59(2), 210–222. <https://doi.org/10.1111/jre.13101>
- Guo, W., He, L., Wang, Y., Liu, Y., & Zhou, J. (2018). Differential expression of tight junction proteins in response to *Porphyromonas gingivalis* infection in human gingival epithelial cells. *Journal of Periodontal Research*, 53(5), 750–758. <https://doi.org/10.1111/jre.12568>
- Gupta, N., Chhina, S., & Arora, P. (2018). Role of stem cells in periodontal regeneration: A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(2), 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.11.004>

Gupta, S., & Chhina, K. (2018). Platelet rich fibrin: A boon in regenerative dentistry. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 8(2), 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2017.12.001>

Gupta, A., & Chhina, S. (2018). Stem cells in periodontics: A new perspective. *International Journal of Advanced Research*, 6(3), 1174–1182. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/6690>

Gupta, S., & Mahendra, A. (2012). Role of microbial biofilms in periodontal diseases and their management. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(9), 800–818. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01921.x>

Gupta, S., Radhakrishnan, R., & Ali, M. A. (2023). Lab-on-a-chip biosensors for oral diagnostics: Current progress and future perspectives. *Biosensors*, 13(5), 546. <https://doi.org/10.3390/bios13050546>

Hajishengallis, G. (2014). Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 15(1), 30–44. <https://doi.org/10.1038/nri3785>

Hazari, V., Choudhary, A., Mishra, R., Chandrashekar, K. T., Trivedi, A., & Pathak, P. K. (2021). Clinical and Radiographic Analysis of Novabone Putty with Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Periodontal Intrabony Defects. *Contemporary Clinical Dentistry*, 12(2), 150–156. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_101_20

He, J., & Shi, W. (2009). Oral microbiology: Past, present and future. *International Journal of Oral Science*, 1(2), 47–58. <https://doi.org/10.4248/IJOS.09047>

Hernández-Cabanyero, C., & Vonaesch, P. (2024). Ectopic colonization by oral bacteria as an emerging theme in health and disease. *FEMS Microbiology Reviews*, 48(2). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuae012>

Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>

Jepsen, S., Caton, J. G., Albandar, J. M., Bissada, N. F., Bouchard, P., Cortellini, P., Demirel, K., De Sanctis, M., Ercoli, C., Fan, J., Geurs, N. C., Hughes, F. J., Jin, L., Kantarci, A., Lalla, E., Madianos, P. N., Matthews, D., McGuire, M. K., Mills, M. P., . . . Yamazaki, K. (2018). Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(S20). <https://doi.org/10.1111/jcpe.12951>

Karci, B., Ozcaka, O., Yildirim, S., & Buduneli, N. (2025). Changes in gingival crevicular fluid endocan (ESM-1) and VEGF-A levels in periodontitis and after non-surgical therapy. *BMC Oral Health*, 25, 329. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-05648-7>

Keskin, M., Rintamarttunen, J., Gülçiçek, E., Räisänen, I. T., Gupta, S., Tervahartiala, T., Pätilä, T., & Sorsa, T. (2023). A Comparative Analysis of Treatment-Related Changes in the Diagnostic Biomarker Active Metalloproteinase-8 Levels in Patients with Periodontitis. *Diagnostics*, 13(5), 903. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13050903>

Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>

Kinney, J., Morelli, T., Braun, T., Ramseier, C., Herr, A., Sugai, J., Shelburne, C., Rayburn, L., Singh, A., & Giannobile, W. (2011). Saliva/Pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *Journal of Dental Research*, 90(6), 752–758. <https://doi.org/10.1177/0022034511399908>

Kinney, J. S., Ramseier, C. A., & Giannobile, W. V. (2007). Oral Fluid–Based biomarkers of alveolar bone loss in periodontitis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1098(1), 230–251. <https://doi.org/10.1196/annals.1384.028>

Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S., & Palmer, R. J. (2002). Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 486–505. <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.3.486-505.2002>

Korgaonkar, J., Tarman, A. Y., Koydemir, H. C., & Chukkapalli, S. S. (2024). Periodontal disease and emerging Point-of-Care technologies for its diagnosis. *Lab on a Chip*, 24(14), 3326–3346. <https://doi.org/10.1039/d4lc00295d>

Kumar, P. S., Leys, E. J., Bryk, J. M., Martinez, F. J., Moeschberger, M. L., & Griffen, A. L. (2006). Changes in Periodontal Health Status Are Associated with Bacterial Community Shifts as Assessed by Quantitative 16S Cloning and Sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10), 3665–3673. <https://doi.org/10.1128/jcm.00317-06>

Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>

Lamont, R. J., Koo, H., & Hajishengallis, G. (2018b). The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 16(12), 745–759. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>

Lang, N. P., Lindhe, J., & Heitz-Mayfield, L. J. A. (2021). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry* (7e). Wiley Blackwell.

Lang, N. P., Berglundh, T., Giannobile, W. V., & Sanz, M. (2021). *Lindhe's Clinical Periodontology... (7e)*. Wiley-Blackwell.

Leite, F. R., 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>

- Lespessailles, E., & Toumi, H. (2022). Proton Pump Inhibitors and Bone Health: An Update Narrative review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10733. <https://doi.org/10.3390/ijms231810733>
- Loos, B. G. (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *Journal of Periodontology*, 76(11S), 2106–2115. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.11-s.2106>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2019). *Brock biology of microorganisms* (15^e éd.). Pearson. ISBN 978-1292235103
- Malamud, D. (2011). Saliva as a diagnostic fluid. *Dental Clinics of North America*, 55(1), 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.08.004>
- Mardas, N., Dereka, X., Stavropoulos, A., Patel, M., & Donos, N. (2020). The role of strontium ranelate and guided bone regeneration in osteoporotic and healthy conditions. *Journal Of Periodontal Research*, 56(2), 330–338. <https://doi.org/10.1111/jre.12825>
- Marsh, P. D. (2006). Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health*, 6(S1). <https://doi.org/10.1186/1472-6831-6-s1-s14>
- Marsh, P. D., & Zaura, E. (2017). Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(S18). <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>
- McCulloch, C. A. (2006). Proteomics for the periodontium: current strategies and future promise. *Periodontology 2000*, 40(1), 173–183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00135.x>
- Miller, C. S., King, C. P., Langub, M. C., Kryscio, R. J., & Thomas, M. V. (2006). Salivary biomarkers of existing periodontal disease. *The Journal of the American Dental Association*, 137(3), 322–329. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2006.0181>
- Mills, C. D. (2015). Anatomy of a discovery: M1 and M2 macrophages. *Frontiers in Immunology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00212>

Mullally, B. H. (2004). The influence of tobacco smoking on the onset of periodontitis in young persons. *Tobacco Induced Diseases*, 2(2), 53. <https://doi.org/10.1186/1617-9625-2-2-53>

Muñoz, M., Busoms, E., Vilarrasa, J., Albertini, M., Ruíz-Magaz, V., & Nart, J. (2021). Bone-level changes around implants with 1- or 3-mm-high abutments and their relation to crestal mucosal thickness : A 1-year randomized clinical trial. *Journal Of Clinical Periodontology*, 48(10), 1302-1311. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13505>

Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdts, S., Gordon, S., Hamilton, J. A., Ivashkiv, L. B., Lawrence, T., Locati, M., Mantovani, A., Martinez, F. O., Mege, J., Mosser, D. M., Natoli, G., Saeij, J. P., Schultze, J. L., Shirey, K. A., . . . Wynn, T. A. (2014). Macrophage activation and Polarization: Nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41(1), 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>

Nakamura, M. (2017). Histological and immunological characteristics of the junctional epithelium. *Japanese Dental Science Review*, 54(2), 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.11.004>

Nazir, M. A. (2017). Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *International Journal of Health Sciences*, 11(2), 72–80. [PMCID: PMC5426403]

Neurath, N., & Kesting, M. (2024). Cytokines in gingivitis and periodontitis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1435054>

Nędzi-Góra, M., Kostrzewa-Janicka, J., & Górska, R. (2017). Concentration of MMP-8 and IL-1 β in gingival crevicular fluid in patients with chronic

and aggressive periodontitis. *Central European Journal of Immunology*, 42(4), 342–346. <https://doi.org/10.5114/ceji.2017.72824>

Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology* 2000, 14(1), 9–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x>

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>

Panagakos, F., & Davies, R. (2011). *Gingival Diseases: Their Aetiology, Prevention and Treatment*. BoD ISBN : 978-9533073767

Pandit, N. (2021). Dynamic concepts of periodontal etiology. *Journal Of Indian Society Of Periodontology*, 25(2), 93. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_33_21

□

Paraskevas, S., Huizinga, J. D., & Loos, B. G. (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(4), 277–290. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2007.01173.x>

Patel, M., Guni, A., Nibali, L., & Garcia-Sanchez, R. (2024). Interdental papilla reconstruction: a systematic review. *Clinical Oral Investigations*, 28(1). <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05409-0>

Pirih, F. Q., Monajemzadeh, S., Singh, N., Sinicola, R. S., Shin, J. M., Chen, T., Fenno, J. C., Kamarajan, P., Rickard, A. H., Travan, S., Paster, B. J., & Kapila, Y. (2021b). Association between metabolic syndrome and periodontitis: The role of lipids, inflammatory cytokines, altered host response, and the microbiome. *Periodontology* 2000, 87(1), 50–75. <https://doi.org/10.1111/prd.12379>

Poitras, V., & Houde, A. (2002). *Journal of the Canadian Dental Association*, 68(8), 479–483.

Pol, S., Nath, S., Malakar, S., Saha, S., Bhattacharya, B., & Saha, A. (2023). Gingival crevicular fluid: A diagnostic tool for the detection of periodontal diseases. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 13(3), 304–310. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2023.07.004>

Preshaw, P. M., & Bissett, S. M. (2019). Periodontitis and diabetes. *BDJ*, 227(7), 577–584. <https://doi.org/10.1038/s41415-019-0794-5>

Ptolemy, A. S., & Rifai, N. (2010). *Research Investments and Biomarkers Journal*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.1002/rbm.1>

Ramseier, C. A., Kinney, J. S., Herr, A. E., Braun, T., Sugai, J. V., Shelburne, C. A., Rayburn, L. A., Tran, H. M., Singh, A. K., & Giannobile, W. V. (2009). Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 80(3), 436-446. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.080480>

Rathnayake, N., Åkerman, S., Klinge, B., Lundegren, N., Jansson, H., Tryselius, Y., Sorsa, T., & Gustafsson, A. (2012). Salivary biomarkers of oral health – a cross-sectional study. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(2), 140–147. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12038>

Relvas, M., López-Jarana, P., Monteiro, L., Pacheco, J. J., Braga, A. C., & Salazar, F. (2022). Study of prevalence, severity and risk factors of periodontal disease in a Portuguese population. *Journal of Clinical Medicine*, 11(13), 3728. <https://doi.org/10.3390/jcm11133728>

Rocha, D. M., Silva, J. L., & Tavares, P. C. (2024). *Front. Oral Health*, 5, 1356428. <https://doi.org/10.3389/froh.2024.1356428>

Samaranayake, L., & Matsubara, V. H. (2017). Normal oral flora and the oral ecosystem. *Dental Clinics of North America*, 61(2), 199–215. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2016.11.002>

Sanz, M., Del Castillo, A. M., Jepsen, S., Gonzalez-Juanatey, J. R., D'Aiuto, F., Bouchard, P., Chapple, I., Dietrich, T., Gotsman, I., Graziani, F., Herrera, D., Loos, B., Madianos, P., Michel, J., Perel, P., Pieske, B., Shapira, L., Shechter, M., Tonetti, M., . . . Wimmer, G. (2020). Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(3), 268–288. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13189>

Sedghi, L., DiMassa, V., Harrington, A., Lynch, S. V., & Kapila, Y. L. (2021). The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87(1), 107–131. <https://doi.org/10.1111/prd.12393>

Séjourné, A., Maret, D., & Sixou, M. (2024). Gingival crevicular fluid as a diagnostic tool in periodontology: Current state and future directions. *Clinical Oral Investigations*, 28(2), 411–423. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05165-2>

Sezer, U., Köseoğlu, E., Gürkan, A., Ebersole, J. L., & Gürkan, A. (2012). Gingival crevicular fluid- and serum-based biomarkers associated with alveolar bone loss in periodontitis. *Journal of Periodontology*, 83(7), 818–825. <https://doi.org/10.1902/jop.2011.110428>

Suzuki, K., & Fagarasan, S. (2008). How host-bacterial interactions lead to IgA synthesis in the gut. *Trends in Immunology*, 29(11), 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.08.001>

Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C., & Kent, R. L. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(2), 134–144. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>

Sojod, B., Chateau, D., Mueller, C. G., Babajko, S., Berdal, A., Lézot, F., & Castaneda, B. (2017). RANK/RANKL/OPG Signaling Implication in Periodontitis: New Evidence from a RANK Transgenic Mouse Model. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00338>

Sorsa, T., et al. (2020). *Periodontology* 2000, 82(1), 82–101. <https://doi.org/10.1111/prd.12319>

Sorsa, T., Nwhator, S. O., Sakellari, D., Grigoriadis, A., Umezudike, K. A., Brandt, E., Keskin, M., Tervahartiala, T., Pärnänen, P., Gupta, S., Mohindra, R., Bostanci, N., Buduneli, N., & Räisänen, I. T. (2022). AMMP-8 Oral Fluid POC test in relation to oral and systemic diseases. *Frontiers in Oral Health*, 3. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.897115>

Sorsa, T., Nwhator, S. O., Sakellari, D., Grigoriadis, A., Umezudike, K. A., Brandt, E., Keskin, M., Tervahartiala, T., Pärnänen, P., Gupta, S., Mohindra, R., Bostanci, N., Buduneli, N., & Räisänen, I. T. (2022b). AMMP-8 Oral Fluid POC test in relation to oral and systemic diseases. *Frontiers in Oral Health*, 3. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.897115>

Taba, M., Jr, De Souza, S. L. S., & Mariguela, V. C. (2012). Periodontal disease: a genetic perspective. *Brazilian Oral Research*, 26(spe1), 32–38. <https://doi.org/10.1590/s1806-83242012000700006>

Taba, M., Souza, S. L. S., Mariguela, V. C., & Barros, S. P. (2021). Mediators of inflammation in periodontal disease: Biological and clinical relevance. *Mediators of Inflammation*, 2021, Article 4038524. <https://doi.org/10.1155/2021/4038524>

Takahashi, N., Katagiri, S., Kobayashi, H., & Kurita-Ochiai, T. (2019). The gingival epithelial barrier: Regulation by beneficial and pathogenic microbes. *Journal of Oral Biosciences*, 61(2), 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.01.001>

Takane, M., Sugano, N., Iwasaki, H., Iwano, Y., Shimizu, N., & Ito, K. (2002). New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *Journal of Periodontology*, 73(5), 551–554. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.5.551>

Tanwar, N., Narula, S. C., Sharma, R. K., & Tewari, S. (2016). Papillary Height and its Relation with Interproximal Distances and Cementoenamel Junction in Subjects with Chronic Periodontitis. A Cross- Sectional Study. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/16955.7594>

Teitelbaum, S. L. (2000). Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289(5484), 1504–1508. <https://doi.org/10.1126/science.289.5484.1504>

Teles, R., & Wang, C. (2011). Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. *Oral Diseases*, 17(5), 450–461. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2010.01784.x>

Teles, R. P., Uzel, N. G., & Wang, X. (2021). Microbial signatures of periodontal disease and health. *Periodontology 2000*, 85(1), 117–133. <https://doi.org/10.1111/prd.12369>

Teles, R. P., Albandar, J. M., & Loos, B. G. (2025). *Periodontology 2000*, 87(1), 123–144. <https://doi.org/10.1111/prd.12456>

Teles, R. P., Patel, M., Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2021). Disease progression in periodontitis: Contributions of microbial and host factors. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(Suppl. 22), 37–56. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13415>

Ten Cate, A. R. (2013). *Ten Cate's oral histology: Development, structure, and function* (8^e éd.). Elsevier. ISBN: 9780323078467

Timothy, C. N., & Rajasekar, A. (2022). Artificial intelligence in dentistry – A review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 13(Suppl. 2), S545–S548. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_170_22

Tominari, T., Hirata, M., Matsumoto, C., Inada, M., Miyaura, C., & Fukuyama, T. (2021). Melatonin promotes bone formation and suppresses bone resorption by regulating bone metabolism. *Scientific Reports*, 11, 13353. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92744-5>

Tonetti, M. S., & Van Dyke, T. E. (2013). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop. *Journal of Clinical Periodontology*, 40(Suppl. 14), S24–S29. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12089>

Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(Suppl. 20), S149–S161. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12945>

Tonetti, M. S., Sanz, M., Cortellini, P., Lang, N. P., Cairo, F., Pini Prato, G., & Graziani, F. (2017). Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(Suppl. 18), S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12949>

Trindade, R., Messias, A., Marques, T., Machado, V., Botelho, J., Proença, L., & Mendes, J. J. (2022). Periodontal disease and peri-implantitis: Prevalence and risk factors in a Portuguese population. *Journal of Clinical Medicine*, 11(13), 3728. <https://doi.org/10.3390/jcm11133728>

Trivedi, S., Kumar, V., Fareed, N., Thakkar, S., & Patel, S. (2014). Identification of salivary biomarkers for noninvasive diagnosis of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 85(1), 130–137. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.120688>

Uzar, E., Kırzioğlu, F. Y., & Tüter, G. (2025). [Titre de l'article]. *BMC Oral Health*, 25(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-06529-7>

Van Dyke, T. E., & van Winkelhoff, A.-J. (2020). Infection and inflammatory mechanisms. *Frontiers in Immunology*, 11, 511. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00511>

Vitkov, L., Krautgartner, W. D., & Hannig, M. (2023). Breaking the gingival barrier in periodontitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14565. <https://doi.org/10.3390/ijms241914565>

Wang, C. W., & McCauley, L. K. (2016). Osteoporosis and periodontitis. *Current Osteoporosis Reports*, 14(6), 284–291. <https://doi.org/10.1007/s11914-016-0330-3>

Wheeler-Chung, C., Wang, H., & Li, Y. (2024). [Titre de l'article]. *Frontiers in Immunology*, 15, 1357921. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1357921>

Xu, H., Tian, J., Hao, W., Zhang, X., & Chen, X. (2021). Salivary biomarkers in periodontal disease. *Journal of Immunology Research*, 2021, 9912989. <https://doi.org/10.1155/2021/9912989>

Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinosaki, M., Mochizuki, S., ... Suda, T. (1998). Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(7), 3597–3602. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.7.3597>

Zhang, Y., Sun, J., Lin, C., & Jin, L. (2022). Salivary biomarkers for periodontal disease. *Clinica Chimica Acta*, 530, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.04.013>

Zhou, J., Zhou, Y., Wang, C., & Wang, J. (2023). *Front. Immunol.*, 14, 1157321. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1157321>

Zhou, J., Zhang, Y., & Li, D. (2024). *Front. Oral Health*, 5, 1412466. <https://doi.org/10.3389/froh.2024.1412466>