



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Departamento de CTBMF e Periodontia

NATHALYA MARIA VILELA MOURA

**Avaliação de um teste rápido para proteína total da saliva de
pacientes periodontais com e sem comorbidades**

PG.PERIO
FORP-USP

RIBEIRÃO PRETO
2023

NATHALYA MARIA VILELA MOURA

**Avaliação de um teste rápido para proteína total da saliva de
pacientes periodontais com e sem comorbidades**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Mario Taba Jr

RIBEIRÃO PRETO

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Biblioteca Central do Campus USP – Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Moura, Nathalya Maria Vilela.

Avaliação de um Teste Rápido para Proteína Total da Saliva de Pacientes Periodontais com e sem Comorbidades / Nathalya Maria Vilela Moura; Orientador: Mario Taba Jr. - Ribeirão Preto, 2023. 101f. : il..

Dissertação — Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Mestrado em Periodontia.

Versão corrigida

1. Biomarcadores salivares; 2. Proteína Total; 3. Periodontite; 4. Artrite reumatoide; 5. Diabetes Mellitus.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

Área de Concentração: Periodontia.

MOURA, N. M. V. Avaliação de um teste rápido para proteína total da saliva de pacientes periodontais com e sem comorbidades

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Periodontia).

provada(o) em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

DEDICO

Primeiramente a Deus,

Do início ao fim, o Senhor me segurou em Seus braços e cuidou de mim. Quando me vi perdida, o Senhor me mostrou o que é o verdadeiro perdão, quando me senti sozinha, o Senhor me mostrou o amor, quando precisei de família, o Senhor me deu. Obrigada, Pai, por nunca me abandonar, obrigada pelo Seu amor incondicional, obrigada por ser o meu refúgio e a minha fortaleza em todos os momentos. Te dedico esse trabalho, pois o Senhor esteve presente em cada vírgula escrita.

À minha melhor amiga, minha mainha Sueli,

O amor de uma mãe é o mais próximo que eu consigo imaginar do amor de Deus sendo representado aqui na Terra, que ama seus filhos incondicionalmente, que luta e torce por eles, que orienta, está sempre presente... E por essas e muitas outras qualidades eu sou grata por Deus ter me colocado no mundo como sua filha. A senhora é uma guerreira, leoa que, ao rugir, protege seus três filhos e abdica de tudo por nós, para fazer sempre o melhor por nós. Se um dia eu for metade do que a senhora é, posso considerar minha missão cumprida. A senhora é minha inspiração e foi a pessoa que mais me apoiou e incentivou a chegar onde cheguei. Mainha, eu te agradeço do fundo do coração por tudo e te dedico esse trabalho que tem parte do seu coração.

Aos meus queridos irmãos, Marina e Vinícius,

Não consigo expressar em palavras a gratidão que eu sinto pelo grande presente de Deus em ter vocês na minha vida. Vocês são a definição de que, não importa o que aconteça, sempre teremos uns aos outros. Sempre torceram por mim, assim como sempre torci e torcerei por vocês. Nosso companheirismo está fincado em nossos corações. Lembrem de quem somos filhos! Tudo de bom que está acontecendo nas nossas vidas é pouco diante do que está por vir. Amo vocês do fundo do coração.

Ao meu amor, Werner,

Você deixou meus dias mais leves, me ajudou de todas as formas possíveis, até estudou comigo para poder tirar minhas dúvidas, mesmo não sabendo nada de Odontologia. Você consegue me mostrar a luz nos meus momentos nublados, sabe o que eu estou pensando só de olhar para mim, me acompanhou não só nessa trajetória, mas nos momentos mais importantes da minha vida e não tem como não te dedicar mais esse pedaço de história que faz parte do quebra-cabeças da minha vida. Eu te amo mais que palavras. Obrigada por estar sempre ao meu lado e acreditando em mim.

Ao meu melhor amigo, papai,

Quanta saudade... Tenho certeza que o senhor tem muito orgulho de mim e de tudo o que eu passei para chegar aqui. Impossível escrever sem lágrimas caírem, mas, se tiver como essa mensagem chegar até o senhor, saiba que sua "Lalala" está produzindo muitos frutos e tem orgulho de ser sua filha. Boa parte do que eu sou hoje, devo ao senhor, e tenho muito orgulho disso. O senhor sempre foi um dos meus maiores incentivadores, não importa as circunstâncias, eu sempre soube que, se eu caísse, eu tinha papai para me segurar. Meu porto seguro, te amo infinito. Muito obrigada por tudo o que o senhor fez por mim enquanto estava conosco.

À toda a minha família e amigos, que do início ao fim estiveram ao meu lado, segurando minha mão e torcendo por mim.

Agradecimentos

AGRADEÇO

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mario Taba Jr, eterna gratidão por ter me aceitado como orientada, pela paciência, pelo zelo, por todas as oportunidades que o senhor confiou em mim, por ser um grande exemplo do que eu almejo para a minha carreira e para a minha vida. Obrigada por todas as orientações, pela compreensão, por sempre me mostrar o valor de ter alguém que, em meio ao turbilhão de acontecimentos, mantém a calma e sempre resolve tudo da melhor maneira.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Periodontia, agradeço de todo o coração pelo encorajamento, pelas aulas, pelo esclarecimento de dúvidas, por me acompanharem nessa jornada, por me impulsionarem a crescer e amadurecer e servirem de inspiração para a minha evolução.

À Milla Sprone, por toda a sua ajuda e paciência durante as análises laboratoriais, muito obrigada por ter feito do tempo que ficamos no laboratório momentos agradáveis, de descontração, que faziam o tempo fluir e passar mais rápido. Obrigada por ter me ensinado tanto.

À Fabiola Reis de Oliveira, que foi uma grande ajuda na captação dos pacientes com Artrite Reumatoide, você foi a minha “luz no fim do túnel”, quando eu não sabia mais onde conseguir os pacientes, você me ajudou com toda boa vontade e paciência.

Aos queridos “DesOrientados”, vocês são especiais, obrigada por me acolherem, por me tratarem de igual para igual, pelo carinho, pela força, especialmente a Karine, sem você essa pesquisa não teria acontecido. Muito obrigada pela paciência, pelos conselhos, pela companhia nas horas de desespero, por ouvir meus desabafos, por fazer de tudo para ajudar e por termos criado esse vínculo de amizade. Você foi essencial para que essa pesquisa caminhasse com fluidez. Ana Rivas, minha irmãzinha de pós-graduação, obrigada, amiga, por ser um ser de luz, que leva paz e alegria por onde passa, por me ouvir e aconselhar, por estar sempre presente trazendo leveza e carinho. Valessa, você foi a primeira pessoa que me acolheu na faculdade, me mostrou as estruturas, sem nem me conhecer já me convidou para almoçar e a primeira impressão que tive da USP foi de carinho e acolhimento graças a você. Muito obrigada. Catarina e Mariana, que em poucas interações já houve uma relação de carinho, de igualdade, obrigada por me ajudarem sempre da melhor forma, ainda mais com as dicas maravilhosas nessa etapa final, obrigada por me estenderem a mão. Jessica, passamos por tanta coisa juntas e eu sinto que criamos um vínculo que é até difícil de explicar. Sua amizade é preciosa para mim, uma amizade sincera que sabemos que podemos contar uma com a outra em qualquer situação. DesOrientados, vocês moram no meu coração!

Aos meus grandes amigos que a vida acadêmica me proporcionou, em especial Ademir Filho, que caminha comigo desde a graduação, nossa amizade é verdadeira, daquelas que torcem com sinceridade pelas conquistas um do outro, uma amizade leve, que já nos comunicamos sem precisar de palavras, você trouxe alegria em muitos momentos em que eu achei que não daria mais. Obrigada pelo seu carinho, conselhos companheirismo e por sempre torcer por mim.

À Ana Punhagui por me fazer ter alegrias em momentos tão simples, por trazer leveza em todas as situações, por ter esclarecido diversas dúvidas minhas, com total paciência e boa vontade. Sua tranquilidade contagia e a sua amizade é pura, muito obrigada por tudo.

Ao Bruno Fiod, que não só me deu um ombro amigo diversas vezes, como sempre me escuta, aconselha e ajuda no que pode. Companheiro de todas as horas que, mesmo tendo conhecido perto do final do mestrado, parece que te conheço há muito mais tempo! Obrigada amigo, por sempre ficar ao meu lado, me ajudar e incentivar.

Aos meus amigos da especialização, em especial a Maíra, que acompanhou de perto minha pesquisa, me ajudou nos atendimentos, nos aproximamos muito e dividimos risadas, conselhos, angústias... Tornou os dias de clínica muito mais leves e tranquilos. Obrigada por toda ajuda.

À Denise, minha "IC", que acompanhou por longos meses o desenrolar da pesquisa, ajudou sempre no que pôde, nos atendimentos, nos agendamentos, na organização... Sempre vou lembrar suas palavras de carinho ao longo da nossa caminhada, muito obrigada por ter feito parte dessa etapa da minha vida.

À Maria Izabel Simonetti, uma das pessoas mais prestativas, gentis, sinceras e dispostas a ajudar que já conheci na vida. Bel, você deixou sua marca em toda a FORP e no coração de todos os alunos. Muito obrigada por tudo.

À querida Renata Cristina, obrigada Rê, por tudo, obrigada por me escutar sempre que eu estava a ponto de explodir, obrigada por me aconselhar, por me ajudar a manter a calma e por fazer do meu dia a dia de pesquisa, dias muito mais leves. Obrigada por sempre se mostrar disponível para ajudar no que fosse preciso.

Aos queridos Paulo Henrique, Gledson Antunes e Cléria, que me ajudaram tanto durante o meu tempo na clínica de pesquisa, todos os dias vocês me recebiam com alegria, sempre sorrindo e com boa vontade, me ajudando sempre no que podiam. Eterna gratidão.

À minha querida Eleonora, que foi o meu primeiro incentivo de verdade para entrar na vida acadêmica, que é como uma mãe, que ama, se preocupa, torce e vibra junto. Obrigada por sempre torcer por mim e me incentivar em cada passo dado.

Aos meus sogros, Wallas e Celeste, por me acolherem como parte da família, por todo o carinho, por todo orgulho que sentem da minha trajetória. Obrigada por me acompanharem de perto, pela torcida e por estarem ao meu lado em mais essa vitória.

À CAPES, pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho” (**Abraham Lincoln**)

RESUMO

MOURA, N. M. V. **Avaliação de um teste rápido para proteína total da saliva de pacientes periodontais com e sem comorbidades.** 2022. 101f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

A ciência, nos últimos anos, vem comprovando a relação entre as doenças periodontais e os comprometimentos sistêmicos, como por exemplo o Diabetes Mellitus e a Artrite Reumatoide. Sendo assim, é importante que seja feita a detecção precoce da periodontite. Existem métodos de diagnóstico cada vez mais precisos que trazem menor desconforto ao paciente, o que incentiva a Periodontia a buscar formas mais eficazes e vantajosas para análise das Doenças Periodontais. Dessa forma, estudos propõem a saliva como potencial material de diagnóstico, pois sua composição contribui para diagnósticos de inflamações, principalmente devido à presença de biomarcadores relacionados à Doença Periodontal e, outra vantagem, é que se trata de um fluido fisiológico de fácil coleta, simples, indolor, de baixo custo e seguro tanto para o paciente, quanto para o profissional. Portanto, o presente estudo propõe a avaliação de um protótipo de kit diagnóstico para teste salivar da proteína total, como exame clínico complementar, para o diagnóstico e monitoração do efeito do tratamento, comparando a concentração de proteína total entre os grupos antes e após tratamento periodontal básico. Os pacientes (n=57) foram divididos em seis grupos: pacientes saudáveis ou S (n=14), pacientes com doença periodontal ou DP (n=11), pacientes com saúde periodontal e diabéticos ou DM+S (n=5), pacientes com doença periodontal e Diabetes ou DM+DP (n=10), pacientes com saúde periodontal e Artrite Reumatoide ou SR+S (n=5) e, finalmente, pacientes com doença periodontal e Artrite Reumatoide ou AR+DP (n=12). Nesses grupos foram realizados coleta da saliva, profilaxia, instrução de higiene oral e tratamento periodontal básico. Os critérios utilizados para avaliação clínica foram sangramento gengival, índice de placa, profundidade de sondagem e nível clínico de inserção. Os parâmetros clínicos foram avaliados nos tempos 0 e 45 dias, sendo o tratamento periodontal básico no dia 0. Para as análises entre grupos foi aplicado o teste ANOVA ou Kruskal-Wallis. Para as análises entre os tempos do estudo, foi aplicado o teste t de Student pareado ou Wilcoxon. Para as análises de correlação foi aplicado o teste de Pearson. Em todas as análises o nível de significância utilizado foi de 0,05. Com relação aos parâmetros clínicos, houve melhora na maioria dos grupos, mas essa diferença foi significativa em apenas alguns grupos ($p < 0,05$). Sobre a proteína total, houve melhora em todos os grupos, menos nos grupos S e AR+S, mas essa

diferença foi significativa apenas no grupo DP ($p < 0,05$). Ao se avaliar a correlação das diferenças obtidas com o teste salivar, sangramento à sondagem e índice de sangramento, a variação do IS foi detectada pelo teste salivar ($p < 0,05$). Apesar das limitações enfrentadas ao longo do estudo, o teste salivar tem o potencial de auxiliar na personalização da abordagem terapêutica, como exame clínico complementar, servindo, entre outros, como amostra visual para o paciente perceber sua evolução no tratamento, e validar a melhora dos parâmetros clínicos de forma quantitativa prática e acessível, para os profissionais.

Palavras-chave: Biomarcadores salivares. Proteína Total. Periodontite. Artrite Reumatoide. Diabetes Mellitus

ABSTRACT

MOURA, N. M. V. **Evaluation of a rapid test for total saliva protein in periodontal patients with and without comorbidities.** 2022. 101f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Science, in recent years, has been proving the relationship between periodontal and systemic diseases, such as Diabetes Mellitus and Rheumatoid Arthritis. Therefore, early detection of periodontitis is important. There are increasingly more accurate diagnostic methods that bring less discomfort to the patient, which also encourages Periodontics to seek more effective and advantageous ways to analyze Periodontal Diseases, considering that clinical periodontal exams do not have the capacity to diagnose active disease with complete accuracy. Thus, studies propose saliva as a potential diagnostic material, as its composition contributes to the diagnosis of inflammation, mainly due to the presence of biomarkers related to Periodontal Disease and another advantage is that it is a physiological fluid that is easy to collect, simple, painless, low cost and safe for both the patient and the professional. Therefore, the present study proposes the evaluation of a diagnostic kit prototype for salivary total protein testing, as a complementary clinical examination, for the diagnosis and monitoring of the treatment effect, comparing the total protein concentration between the groups before and after basic periodontal treatment. Patients (n=57) were divided into six groups: healthy patients or S (n=14), patients with periodontal disease or DP (n=11), patients with periodontal health and Diabetes or DM+S (n=5), patients with periodontal disease and Diabetes or DM+DP (n=10), patients with periodontal health and Rheumatoid Arthritis or RS+S (n=5) and, finally, patients with periodontal disease and Rheumatoid Arthritis or RA+DP (n =12). In these groups, collection of non-stimulated saliva, prophylaxis, oral hygiene instructions and basic periodontal treatment were performed. The criteria used for clinical evaluation were gingival bleeding, plaque index, probing depth and clinical attachment. Clinical parameters were evaluated at days 0 and 45, with basic periodontal treatment on day 0. For the analysis between groups, the ANOVA or Kruskal-Wallis test was applied. For analyzes between study times, the paired Student t-test or Wilcoxon was applied. For correlation analysis, Pearson test was applied. In all analyses, the significance level used was 0.05. Regarding the clinical parameters, there was improvement in most groups, but this difference was significant only in a few groups (p<0.05). Regarding the total protein, there was improvement in all groups, except in the S and AR+S groups, but this difference was significant only in the PD group (p<0.05). After the evaluation of the correlation between differences obtained with the

salivary test, bleeding on probing and bleeding index, the IS variation was detected by the salivary test ($p < 0.05$). Despite the limitations faced throughout the study, the salivary test has the potential to help customize the therapeutic approach, as a complementary clinical examination, serving, among others, as a visual model for the patient to perceive their evolution throughout the treatment, and to validate the improvement of the clinical parameters in a practical and accessible quantitative way, for professionals.

Keywords: Salivary biomarkers. Total Protein. Periodontitis. Rheumatoid arthritis. Diabetes Mellitus.

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de Fluxo	51
Figura 2 - Teste salivar do kit diagnóstico	53
Figura 3 - Pierce™ Rapid Gold BCA Protein Assay Kit	55
Figura 4 - Gráfico representativo da avaliação da idade dos pacientes	58
Figura 5 - Painel de gráficos representativo da avaliação do Índice de Placa	59
Figura 6 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no baseline	59
Figura 7 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no tempo 45 dias	60
Figura 8 - Painel de gráficos representativo da avaliação do Índice de Sangramento	61
Figura 9 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no baseline	61
Figura 10 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no tempo 45 dias	62
Figura 11 - Painel de gráficos representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem ...	63
Figura 12 - Gráfico representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem de todos os grupos no baseline	63
Figura 13 - Gráfico representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem de todos os grupos no tempo 45 dias	64
Figura 14 - Painel de gráficos representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem	65
Figura 15 - Gráfico representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem de todos os grupos no baseline	65
Figura 16 - Gráfico representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem de todos os grupos no tempo 45 dias	66
Figura 17 - Gráfico representativo da avaliação do Nível Clínico de Inserção	66
Figura 18 - Painel de gráficos representativo da avaliação das concentrações de Proteína Total (µg/mL)	67
Figura 19 - Gráfico representativo da avaliação da concentração de Proteína Total (µg/mL) de todos os grupos no baseline	68
Figura 20 - Gráfico representativo da avaliação da concentração de Proteína Total (µg/mL) de todos os grupos no tempo 45 dias	68
Figura 21 - Painel de gráficos representativo da avaliação dos escores do Teste Salivar	69
Figura 22 - Gráfico representativo da avaliação do Teste Salivar pelo escore 0	70

Figura 23 - Gráfico representativo da avaliação do Teste Salivar pelo escore 4570

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características gerais para todos os sujeitos do estudo	57
Tabela 2 - Parâmetros Clínicos Periodontais	71
Tabela 3 - Avaliação da Concentração da Proteína Total e Quantificação do Teste Salivar ..	72
Tabela 4 - Correlação de Pearson, grupos com periodontite	72
Tabela 5 - Correlação de Pearson, grupos sem periodontite	72
Tabela 6 - Correlação de Pearson, todos os grupos	73

Lista de Abreviaturas e Siglas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Antiinflamatórios Não Esteroidais
AGEs	Advanced Glycation End-products
AR	Artrite Reumatoide
ASA	American Society of Anesthesiologists
BSA	Bovine Serum Albumin
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DM	Diabetes Mellitus
DMARDs	Drogas modificadoras de doença reumática
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Doença Periodontal
DAS28	Disease Activity Score
ELISA	Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay
ET AL	et alia
EULAR	Liga Europeia contra o Reumatismo
FCG	Fluido Crevicular Gengival
FORP	Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
GM-CSF	Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos
G	Gramma
HbA1c	Hemoglobina glicada
IL-1	Interleucina -1
IL-1β	Interleucina - 1 beta
IL-6	Interleucina - 6
IL-7	Interleucina - 7
IL-17	Interleucina -17
IP	Índice de placa
IS	Índice de sangramento
L	Litro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmol	Milimol

MMP	Metaloproteinase
MMP-9	Metaloproteinase 9
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	Enzima Peptil Arginina Desaminase
PE	Periodontite
PISA	Periodontal Inflamed Surface Area
PS	Profundidade de sondagem
RAGEs	Advanced Glycation End-products Receptor
RAR	Raspagem e alisamento radicular
RANK L	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
S	Saúde
TPB	Tratamento periodontal básico
TNF	Fator de Necrose Tumoral
USP	Universidade de São Paulo
VAS	Visual analog scale
WHO	World Health Organization

Appendice

APÊNDICE

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	94
---	-----------

Lista de Anexos

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	99
ANEXO B - Artigo científico submetido para publicação no periódico Brazilian Oral Research	100

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	32
1.1. Etiopatogenia das doenças periodontais e sua relação com as doenças sistêmicas	32
1.2. Artrite reumatoide (AR) e sua relação com a Periodontite	36
1.3. Diabetes Mellitus (DM) e sua relação com a Periodontite	38
1.4. A Saliva	41
1.5. Proteína Total	42
1.6. Tratamento da Periodontite	43
2. PROPOSIÇÃO	46
2.1. Objetivo geral	46
2.2. Objetivos específicos	47
3. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1. Apreciação ética	49
3.2. Cálculo do tamanho da amostra	49
3.3. Critérios de Inclusão	49
3.4. Critérios de Exclusão	50
3.5. Modelo Experimental	50
3.6. Preparo do teste Biureto	51
3.7. Preparo da proteína Caseína para controle positivo	52
3.8. Teste Salivar	52
3.8.1. Separação e registro do controle positivo, controle negativo e saliva	52
3.8.2. Exame clínico e Tratamento Periodontal Básico	53
3.9. Protocolo de Avaliação de concentrações da Proteína Total	54
3.10. Análise estatística	55
4. RESULTADOS	57
4.1. Avaliação da idade	57
4.2. Avaliação dos parâmetros Clínicos	58
4.2.1. Índice de Placa (IP)	58
4.2.2. Índice de Sangramento (IS)	60
4.2.3. Profundidade de Sondagem (PS)	62
4.2.4. Sangramento à Sondagem (SS)	64
4.2.5. Nível Clínico de Inserção (NIC)	66
4.3. Análise de concentrações de Proteína total	66

4.4. Teste salivar	68
4.5. Correlações de Pearson	70
5. DISCUSSÃO	75
6. CONCLUSÃO	85
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE	94
ANEXOS	99

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

A Doença Periodontal (DP) é uma doença inflamatória que ocorre nos tecidos ao redor do dente e pode ser diferenciada em gengivite e periodontite (PE). A gengivite é classificada por atingir o tecido de proteção (gengiva) dos dentes e a PE tem como consequência a destruição da estrutura dentária de suporte (ligamento periodontal, osso alveolar e cimento radicular). Sabe-se que o fator etiológico principal ou causal da gengivite é o biofilme, já na periodontite é considerado como fator coadjuvante. A resposta do hospedeiro modula a progressão da doença junto com fatores de risco como bactérias, cálculo, genética, fatores ambientais, saúde sistêmica do paciente, hábitos de vida e determinantes sociais (Fisher et. al., 2019). Os efeitos capazes de prejudicar a saúde não se relacionam apenas ao periodonto, mas também à saúde sistêmica do paciente. As infecções periodontais promovem um estado inflamatório sistêmico, favorecendo a disseminação de mediadores inflamatórios e microorganismos orais patogênicos para outros órgãos que potencializam os riscos de outras doenças (Bui et. al., 2019). Além disso, segundo Sanz et. al. (2020)^a, a periodontite é uma doença crônica de alta prevalência que afeta cerca de 11,2% da população mundial sendo, dessa forma, a sexta doença mais comum do mundo. Há diversos fatores que podem modificar a suscetibilidade do hospedeiro para a doença periodontal e o fenótipo clínico da doença, incluindo sua extensão, gravidade, progressão e resposta à terapia, como por exemplo a artrite reumatoide e o diabetes (Lindhe e Lang, 2018)

1.1 Etiopatogenia das doenças periodontais e sua relação com as doenças sistêmicas

Estruturalmente, o epitélio juncional presente no sulco gengival é a região mais permeável quando comparada ao epitélio oral do sulco, permitindo troca de substâncias entre o meio interno e externo e, conseqüentemente, sendo passível de ataques microbianos. Ao sofrer ataques de microrganismos e seus subprodutos, normalmente decorrente da formação e acúmulo de biofilme bacteriano, os neutrófilos (primeira linha de defesa) migram para a base do sulco, dando início à resposta imunoinflamatória do hospedeiro contra os agentes agressores, visto que essas células de defesa possuem função fagocítica e microbicida. Em seguida, os monócitos também migram para o local e se diferenciam em macrófagos, que são, em geral, os responsáveis por impedir que a resposta inflamatória se prolongue por mais tempo. Sendo assim, em resposta à infecção ou injúria tecidual, a resposta inflamatória aguda ocorre quase que imediatamente. Numa situação normal, essa fase aguda tem curta duração

promovendo rápida resolução do problema. (Donos, 2017; Bosshardt, 2017; Kurgan e Kantarci, 2017; Hajishengallis, 2021)

Quando a inflamação aguda não consegue dar conta de solucionar o problema, o organismo tenta se proteger dos ataques constantes e a resposta inflamatória passa a ser crônica, levando a destruições teciduais. Levando em consideração que uma das consequências da resposta inflamatória é a degradação do epitélio juncional, ocorre a formação e o desenvolvimento da bolsa periodontal, que vai se aprofundando cada vez mais, pois, ao buscar equilíbrio e reparo, tentando manter a ligação epitelial, o epitélio juncional residual vai proliferando em direção apical, tendo como resultado o aprofundamento da bolsa. Com relação à perda óssea, tanto o cemento radicular como o osso alveolar estão fortemente conectados ao ligamento periodontal e é conhecido que o ligamento periodontal é um tecido conjuntivo que acaba sendo exposto e recebendo estímulos inflamatórios, mas, diferentemente dos tecidos moles de proteção periodontal, os tecidos de sustentação dependem de mecanismos osteoimunológicos para definir a resposta do osso ao processo inflamatório. É assim que ocorre a destruição do osso alveolar e, conseqüentemente, a perda de inserção que caracteriza a periodontite. (Bosshardt, 2017; Kurgan e Kantarci, 2017)

De acordo com os Centros de Prevenção e Controle de Doenças dos Estados Unidos, a doença periodontal é considerada uma pandemia global, causando redução da qualidade de vida, baixa autoestima, perda de função e alteração na fonética. Além disso, as doenças crônicas atingem boa parte da população em geral, e são doenças que, ao afetar os órgãos-alvo, acabam afetando o organismo como um todo e são a causa de boa parte das mortes no mundo. A exemplo dessas doenças que, se não tratadas, tendem a progredir ao longo dos anos, temos doenças cardiovasculares, diabetes, doença respiratória crônica, câncer, Alzheimer, osteoporose, obesidade, entre outras. (Lee et. al., 2017; Bui et. al., 2019)

Nos últimos anos, diversos estudos conseguiram provar a relação entre a doença periodontal e as condições sistêmicas crônicas de forma bidirecional, ou seja, tanto as doenças periodontais podem estar associadas ao início ou progressão das desordens sistêmicas, como estas patologias podem trazer como consequência o agravamento da periodontite. Por outro lado, ainda existe a necessidade do desenvolvimento de estudos que deixem mais claro se são as doenças sistêmicas que causam alteração nos patógenos periodontais ou se os próprios patógenos periodontais que estimulam o desenvolvimento das doenças sistêmicas e, nesse caso, esses patógenos poderiam ser utilizados como marcadores diagnósticos para auxiliar na avaliação da suscetibilidade às doenças crônicas. (Bui et. al., 2019; Souza et. al., 2012)

Alguns estudos explicam como a periodontite pode desencadear direta ou indiretamente outros tipos de doenças no organismo. Um exemplo disso é que as bactérias gram-negativas anaeróbicas presentes na cavidade oral já são conhecidas pela produção de endotoxinas e isso é um fator de grande potencial para o desenvolvimento de doenças sistêmicas. Por esses e outros motivos, Lee et. al. (2017) observaram que o tratamento e prevenção da periodontite está associado à prevenção das doenças sistêmicas crônicas e estudos comprovam inclusive a melhora do estado de saúde do paciente quando há o devido controle periodontal (Kurita-Ochiai e Yamamoto, 2014; Bui et. al., 2019).

Dentre as prováveis relações entre doença periodontal e doenças sistêmicas, temos as doenças cardiovasculares, que podem ser explicadas pela bacteremia transitória ou intermitente dos patógenos periodontais, com especial atenção à *Porphyromonas gingivalis* que, após entrar em contato com a corrente sanguínea, pode ser uma fonte de infecções, tendo como consequência inflamações sistêmicas, hipertrofia cardíaca e disfunção endotelial. (Lee et. al., 2017; Sun et. al., 2019)

Com relação à obesidade, ela é considerada um fator de risco para as outras doenças sistêmicas, pois causa um aumento do estresse oxidativo que leva à disfunção endotelial local e sistêmica, além de estar conectado à doença periodontal, mas existe a necessidade do desenvolvimento de mais estudos que comprovem essa relação mais a fundo. No caso da osteoporose, o aumento da atividade de citocinas inflamatórias como interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o aumento da atividade osteoclástica no osso alveolar resultam na desregulação da resolução inflamatória no organismo e do metabolismo ósseo, sendo então considerado um possível fator de risco para o agravamento e progressão da periodontite. (Lee et. al., 2017; Sun et. al., 2019)

Outro exemplo é a associação entre diabetes mellitus e doença periodontal, que pode ser explicada com os mecanismos de sensibilidade à insulina correspondentes a uma manifestação da inflamação sistêmica e, sendo assim, o aumento da severidade da doença periodontal aumenta a resistência à insulina e isso resulta no agravamento do controle glicêmico. Uma forma de esclarecer essa correlação é que, como os índices de glicose no sangue, saliva e fluido crevicular gengival aumentam, a consequência é a proliferação de bactérias periodontopatogênicas, que ativam a cascata inflamatória e resultam na inflamação gengival, caso não haja a constante desorganização do biofilme bacteriano. (Lee et. al., 2017; Sun et. al., 2019; Sousa et. al., 2020)

É bom lembrar, ainda das doenças do trato respiratório, que podem ser causadas por bactérias, parasitas, vírus e fungos, que podem infectar o trato respiratório através da disseminação da infecção a partir de locais adjacentes ou sítios extrapulmonares e até mesmo através da inalação de aerossóis contaminados. Relacionando essa situação com a doença periodontal, os patógenos presentes na cavidade oral nos indivíduos com doenças periodontais possuem maior facilidade para se deslocar para as vias aéreas inferiores. Inclusive, diversos estudos já demonstraram que patógenos orais como *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus constellatus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, entre outros, já foram implicados em infecções pulmonares. Além disso, também foi demonstrado que indivíduos com comprometimentos periodontais têm três vezes mais chances de desenvolver pneumonia quando comparados com pacientes com saúde periodontal. (Gomes et. al., 2014; Bui et. al., 2019)

Uma revisão sistemática realizada por Gobin et. al. (2020) mostrou a relação diretamente crítica entre periodontite e a síndrome metabólica, a ponto de sugerirem que pacientes diagnosticados com síndrome metabólica tenham a saúde periodontal checada periodicamente pelos dentistas, bem como os pacientes diagnosticados com periodontite procurem atendimento médico a fim de realizar um check up para diagnosticar possíveis problemas sistêmicos. Tanto a população em geral como os profissionais da saúde precisam receber orientação e devidas explicações de que a saúde em geral é fortemente afetada pelas condições periodontais, o que demonstra a importância de um atendimento multidisciplinar.

Romandini et al. (2020) realizaram uma revisão sistemática na qual buscaram a periodontite e o edentulismo com aumento do risco de mortalidade por causas gerais ou específicas, comparando com pacientes sem edentulismo nem doença periodontal. Após avaliação de 57 artigos, os autores chegaram à conclusão de que a periodontite esteve relacionada à mortalidade por causas gerais, além da mortalidade causada por doenças cardíacas, câncer, doenças cerebrovasculares, mas não foi associada à pneumonia. Já o edentulismo, que já foi provado como sendo a pior consequência da periodontite, foi relacionado às causas gerais de mortalidade (assim como na periodontite), além da mortalidade causada por câncer, doenças cerebrovasculares, doença coronária cardíaca e, ao contrário da periodontite, o edentulismo foi relacionado à mortalidade por pneumonia. Como já explicado, a bacteremia da periodontite é um fato amplamente estudado na relação dessa doença com as comorbidades sofridas pelo organismo, como pneumonia, câncer, obesidade,

diabetes, doença renal crônica, hipertensão entre outras e, conseqüentemente, as doenças periodontais podem acabar sendo um fator de risco para a mortalidade.

A saliva vem sendo amplamente estudada como meio diagnóstico ou indicador de diversas doenças, principalmente nos casos de doenças sistêmicas e câncer. No estudo de Zhang et. al. (2016), eles esclarecem como se dá a relação diagnóstica da saliva com as comorbidades, como é o caso das doenças cardiovasculares, nas quais foi registrado que, tanto na aterosclerose como na doença periodontal, os níveis de citocinas na saliva aumentaram consideravelmente, como IL-1 β , IL-6, TNF- α e prostaglandina E2, servindo assim como biomarcadores potenciais para o diagnóstico dessas enfermidades. Além disso, os níveis de proteína C reativa são importantes na previsão do infarto agudo do miocárdio. Claro que os testes com a saliva são auxiliares e não definitivos no diagnóstico das doenças, se faz necessário outros exames, como o eletrocardiograma, por exemplo. No caso do diabetes, foi demonstrado que os níveis de α 2-macroglobulinas na saliva poderiam ter algum efeito no controle glicêmico de pacientes com diabetes tipo 2. Além disso, as concentrações de melatonina salivar tanto nos pacientes com diabetes como nos pacientes com periodontite diminuíram bastante, podendo também ser um biomarcador no diagnóstico de ambas as enfermidades, além do provável monitoramento dos níveis de glicose sanguíneos através da saliva, já que a concentração desse componente aumenta na saliva de acordo com a gravidade do diabetes.

1.2 Artrite Reumatoide (AR) e sua relação com a Periodontite

Artrite Reumatoide é uma doença sistêmica, inflamatória e crônica que afeta cerca de 0,5 - 1% da população e é caracterizada por acometer preferencialmente a membrana sinovial das articulações levando à destruição óssea e cartilaginosa, que, em casos avançados, resulta em deficiência física e também está associada a complicações sistêmicas. (Demmer et. al., 2011; Picerno et. al., 2015)

A patogênese da AR, assim como diversas outras doenças crônicas está relacionada tanto a fatores ambientais como genéticos e, como já explicado com relação aos processos inflamatórios agudos e crônicos, a ativação constante da linha de defesa inata e adaptativa do organismo acaba alterando a tolerância do sistema imune do paciente, que passa a reagir de forma exagerada aos estímulos e, no caso da AR, isso resulta nas características clássicas da doença, como destruição óssea, hiperplasia sinovial, inflamação sistêmica bem como edema e deformação das articulações. A hiperplasia da membrana sinovial ocorre essencialmente

devido ao influxo de células inflamatórias (macrófagos, linfócitos T e B, células dendríticas e neutrófilos) na articulação e isso tem como consequência a produção exagerada de proteases e citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, Interleucina-7 (IL-7), Interleucina-17 (IL-17), receptor do fator nuclear kappa-b ligante (RANKL), TNF- α e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), o que se classifica como um dos fatores principais na patogênese da AR. A atuação dessas citocinas pró-inflamatórias acontece através da ativação da diferenciação dos osteoclastos, o que leva à destruição cartilaginosa e óssea, além da estimulação dos condrócitos e dos fibroblastos sinoviais a secretar enzimas que degradam o colágeno (MMPs). (Picerno et. al., 2015; De Molon et. al., 2019)

Curiosamente, alguns estudos vêm discutindo que as MMPs possuem um papel importante na progressão do dano ósseo na AR, pois existem informações de loci genéticos relacionados à destruição óssea que também estão relacionados com a codificação de MMPs, como é o caso da metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9) que, após ser estudado, foi observado que ele tem um papel na progressão da destruição óssea. (Picerno et. al., 2015)

O diagnóstico da AR, segundo a Liga Europeia contra o Reumatismo (EULAR), se dá através de avaliações físicas, exames laboratoriais para identificação de reagentes de fase aguda alterados, como proteínas C reativas e taxa de sedimentação de eritrócitos, presença de anticorpos anti-peptídeos citrulinados e também exames de imagem, como ultrassonografia e ressonância magnética. Existe, também, a avaliação global do paciente (VAS 0-100) baseada numa escala visual analógica e o chamado “Disease Activity Score”, ou “Pontuação de Atividade da Doença” (DAS28), que é um exame clínico de contagem de 28 articulações que usa uma fórmula que tem como base o número de articulações inchadas e sensíveis. (Persson, 2012; Singh et. al., 2016; De Molon et. al., 2019)

O tratamento da AR se dá principalmente através de terapia medicamentosa com antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), analgésicos, fármacos antirreumáticos modificadores da doença biológicos e não-biológicos (DMARDs). Outras formas de tratamento são cirurgias e fisioterapia, para retardar os danos às articulações, reduzir os sintomas da doença e até mesmo a remissão da mesma. (Persson, 2012; De Molon et. al., 2019)

Com relação à associação entre AR e PE, existem diversas semelhanças patológicas e imunológicas entre essas doenças que podem explicar a possível relação entre elas, como o aumento crescente da liberação de mediadores pró-inflamatórios (IL-1, IL-6, TNF- α e MMPs), a crescente ativação de RANKL através de células do sistema imune, além da

constante infiltração de células imunoinflamatórias no local (linfócitos T e B, neutrófilos e monócitos). Além disso, tem-se a elevada prevalência de doença periodontal e perda dentária em pacientes com AR (Demmer et. al., 2011; Fuggle et. al., 2016; Smit et. al., 2012). Existem teorias de conexão entre AR e PE que explicam, entre outras palavras, que o processo inflamatório da PE pode ser exacerbado pela resposta inflamatória da AR, devido à liberação de citocinas inflamatórias na corrente sanguínea, chegando aos tecidos conjuntivos periodontais e piorando a destruição característica da periodontite. Em contrapartida, também existem teorias que sugerem que, na verdade, é a periodontite que agrava a artrite, levando em conta a citrulinização, em que a atividade da enzima peptil arginina desaminase (PAD) é induzida em tecidos com inflamação crônica e essa enzima atua em proteínas, convertendo resíduos de arginina em citrulina (Kharlamova et. al., 2016; Maresz et. al., 2013; Lundberg et. al., 2010). Esse mecanismo é induzido por microrganismos como *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, causadores de infecção periodontal, que tem como consequência a quebra da tolerância imunológica às moléculas do hospedeiro e o aumento do desenvolvimento inflamatório, o que pode agravar a AR (De Molon et. al., 2019).

Lembrando ainda do que foi explicado anteriormente sobre a bacteremia e as doenças periodontais, os microrganismos presentes tanto nos tecidos periodontais como no intestino têm potencial para darem início a reações inflamatórias em locais distantes no organismo. Levando isso em consideração, fatores simples, como a escovação dental ou a mastigação podem levar patógenos periodontais para a circulação sanguínea podendo iniciar processos patológicos e, como prova disso, tem sido identificado o DNA de bactérias periodontopatogênicas bem como anticorpos contra essas bactérias no fluido sinovial de pacientes com AR, como *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella nigrescens*, *Treponema denticola* e *Fusobacterium nucleatum*. (Kinslow et. al., 2016; Demoruelle et. al., 2018; Holers et. al., 2018, Kaushal et. al., 2019)

Estudos recentes apontam mecanismos imunes semelhantes de desregulação inflamatória que predis põem em pacientes com AR e DP a forma mais avançada, agressiva e grave de ambas as doenças e ainda ressalta que a Artrite Reumatoide tem sua atividade diminuída, após terapia periodontal (Wen et. al., 2019; Ceccarelli et. al., 2019; De Molon et. al., 2019).

1.3 Diabetes Mellitus (DM) e sua relação com a Periodontite

O Diabetes Mellitus é uma desordem metabólica que tem como característica principal os níveis elevados de glicose no sangue (hiperglicemia crônica) e tem como consequência a

alteração no metabolismo de proteínas, carboidratos e gorduras, o que leva a falhas na ação ou secreção da insulina. Sendo assim, essa doença acaba atingindo o organismo como um todo, podendo dar início ou agravar casos de nefropatias, doenças cardiovasculares, doença vascular periférica, disfunção cognitiva, doença vascular cerebral, doença cerebrovascular, aumento do risco de infecções, doença vascular periférica e retinopatia. (Alberti e Zimmet, 1998; Preshaw e Bisset, 2019)

Os sintomas que um paciente pode apresentar inicialmente são: poliúria, visão embaçada, sede constante e perda de peso e o diagnóstico do diabetes pode ser feito das seguintes formas: através de um teste aleatório de glicose no plasma venoso do paciente, através do teste de glicose no plasma do paciente em jejum, existe também um teste de tolerância à glicose no plasma após o período de duas horas com 75g de glicose na boca e, finalmente, a medição da hemoglobina glicada (HbA1c) sem necessidade de estar em jejum. (Mealey e Ocampo, 2007; Preshaw e Bisset, 2019; Who, 2011)

Dessa forma, a Organização Mundial de Saúde (OMS) definiu os valores de concentração de glicose no plasma em jejum como: glicemia em jejum debilitada (6,1 a 6,9mmol/l) e diabetes (a partir de 7,0mmol/l). Além disso, outro exame comentado, a hemoglobina glicada (HbA1c), é caracterizado por mensurar os níveis de glicose no sangue nos 3 meses prévios ao exame, que é a expectativa de vida dos eritrócitos, sendo o valor-limite considerado saudável, sem jejum, é de 48mmol/mol (6,5%), um valor maior que esse é considerado diabetes.

Existem dois tipos de DM, o diabetes tipo 1, ou insulino dependente, o qual inúmeros estudos sugerem que está relacionado tanto a fatores ambientais como genéticos, sendo normalmente desenvolvido ao longo da infância ou adolescência e corresponde a cerca de 5 a 10% dos casos de diabetes. Esse tipo de DM é resultado da destruição autoimune das células β presentes nas ilhotas de Langerhans pancreáticas, resultando na deficiência de insulina, levando à incapacidade de controle dos níveis de glicose e, conseqüentemente, o desenvolvimento de hiperglicemia. Já o diabetes tipo 2, ou não-insulino dependente, corresponde a cerca de 90% dos casos de diabetes e é resultado da secreção deficiente, bem como aumento da resistência à insulina, ou seja, como existe secreção insuficiente de insulina, as células do organismo vão se tornando cada vez mais resistentes a essa substância, cuja função é justamente sinalizar e estimular as células a absorver a glicose do sangue. Então, como há “resistência” a essa sinalização, os níveis de glicose no sangue aumentam (hiperglicemia). Diferentemente do diabetes tipo 1, o diabetes tipo 2 é conhecido por se desenvolver de acordo com o aumento da idade, juntamente com o surgimento de outras

complicações, como obesidade, sobrepeso e falta de atividades físicas. (Sanz et. al., 2018; Preshaw e Bisset, 2019)

O tratamento do DM tem como objetivo principal o controle da glicose sanguínea reduzindo, dessa forma, o risco de complicações micro e macrovasculares. Levando em conta a importância do controle glicêmico no tratamento do DM, tem-se que, para pacientes com diabetes tipo 1, recomenda-se injeções de doses de insulina, acompanhamento nutricional, monitoramento dos níveis de glicose no sangue e atividades físicas. Já para pacientes diagnosticados com diabetes tipo 2, recomenda-se o monitoramento dos níveis de glicose no sangue, exercício, acompanhamento nutricional e consequente perda de peso, fármacos hipoglicemiantes, interrupção do tabagismo e, em alguns casos, faz-se necessário injeções de insulina, mas, em qualquer um dos tipos de diabetes, se faz fundamental a cooperação do paciente. (Stratton et. al., 2000; Sanz et. al., 2018)

Quando há uma comparação entre paciente com e sem diabetes, estudos chegaram à conclusão de que pacientes diagnosticados com DM possuem um risco aumentado de desenvolver periodontite e, à medida que o controle glicêmico diminui, maior o risco de periodontite. Por outro lado, não é apenas o DM que interfere na periodontite, mas a periodontite também tem forte influência no DM e suas consequências, sendo considerados por diversos autores como uma associação bidirecional. Comprovando essa afirmação, tem-se que o diabetes contribui para o processo inflamatório contínuo da periodontite pela deposição constante de produtos finais da glicação avançada (AGEs) nos tecidos periodontais e, ao interagir com seus receptores (RAGEs), acabam estimulando as respostas inflamatórias que, como explicado anteriormente, envolvem o TNF- α , interleucinas, RANKL, aumento do estresse oxidativo e isso tudo somado favorece a reabsorção óssea, que é uma das principais características da periodontite. Além disso, pacientes com DM tipo 2 podem acarretar maiores níveis de glicose na saliva, piorando o desequilíbrio oral (homeostase) e, assim, o risco de desenvolvimento de doenças aumenta. Em contrapartida, muitos estudos têm demonstrado que o tratamento periodontal consegue reduzir a expressão desses marcadores inflamatórios. (Indira et. al., 2015; Preshaw e Bisset, 2019; Sanz, 2018)

Ainda sobre a associação bidirecional entre periodontite e diabetes, faz-se necessário lembrar da bacteremia característica das doenças periodontais, então tanto citocinas pró-inflamatórias como as bactérias periodontopatogênicas acabam tendo uma forte relação com o DM como resultado da migração deles para a corrente sanguínea, resultando na exacerbação dos processos inflamatórios do organismo, levando à deficiência da sinalização da insulina e

consequente resistência à insulina, famosa característica do DM. Isso tudo aumenta os riscos de complicações advindas do DM, incluindo a periodontite, provando, mais uma vez, a relação bidirecional entre as doenças. (Sanz et. al., 2018; Graziani et. al., 2018; Polak e Shapira, 2018)

Preshaw e Bisset (2019) demonstraram também ocorrer a redução de mediadores pró inflamatórios e controle metabólico de pacientes diabéticos após o tratamento periodontal, o que evidencia a importância do diagnóstico e terapia precoce. Além disso, no relatório de orientações e de recomendações da European Federation of Periodontology e International Diabetes Federation (2018), sobre o manejo de pacientes com DM e DP, incluiu-se a importância de médicos encaminharem pacientes recém-diagnosticados com diabetes para avaliação periodontal, além de ter sido ressaltada a relevância de dentistas realizarem a orientação e o monitoramento desses pacientes. (Sanz et. al., 2018)

1.4 A Saliva

A produção de saliva ocorre por meio do sistema nervoso simpático (diretamente relacionado à secreção e síntese de proteínas na saliva) e parassimpático (diretamente relacionado ao aumento do fluxo salivar, através do estímulo de eletrólitos e água) pelas glândulas parótida, submandibular, sublingual e glândulas menores. Nos casos de saliva não estimulada, as glândulas sublinguais e submandibulares produzem 68% da saliva, já as glândulas parótidas produzem 28% e as glândulas menores 4%. Quando a saliva é produzida de forma estimulada, as glândulas parótidas produzem 53% do total da saliva, enquanto as glândulas submandibulares e sublinguais produzem 46% e as glândulas menores 1%. A saliva é composta em sua maior parte por água (99%) e sólidos (1%), sendo esses “sólidos” substâncias orgânicas (0,5%), como lipídios, proteínas, aminoácidos, vitaminas, micróbios, ureia, substâncias antimicrobianas, entre outros e substâncias inorgânicas (0,5%) como fósforo, cloreto, potássio, sódio, cálcio, bicarbonato, nitrogênio, oxigênio entre outros. (Bhuptani et. al., 2018; Almjöd et. al., 2021)

A saliva tem diversas funções, dentre elas o auxílio na mastigação, formação do bolo alimentar e deglutição, além de função de limpeza e lubrificação das superfícies orais e proteção contra patógenos. A saliva é um fluido de fácil coleta, não invasivo e indolor que traz uma maior conveniência quando se trata da avaliação de biomarcadores específicos. Sendo assim sua coleta em substituição da coleta de sangue de pacientes, por exemplo, traz muitas vantagens, em especial, como já explicado, a conveniência, consequentemente a maior

aceitação pelos pacientes, ausência de problemas relacionados à assepsia, além de ser mais prático em casos de coleta fora do ambiente de atendimento. A composição da saliva sofre alterações de acordo com uma série de mudanças que podem ocorrer no organismo decorrente de fatores ambientais e genéticos e por isso seus componentes vêm sendo bastante estudados como biomarcadores para diversas alterações e enfermidades, principalmente através de alterações nas proteínas da saliva. (Bhuptani et. al., 2018; Almjöd et. al., 2021)

Com relação à coleta de saliva, estudos afirmam que os componentes principais da saliva não-estimulada são originados das glândulas submandibulares, principalmente as proteínas sendo assim, a melhor forma de coleta quando a finalidade do estudo para a avaliação de proteínas salivares (a saliva produzida de forma estimulada é mais líquida do que a não-estimulada). (Troxler et. al., 1997; Justino et. al., 2017)

Levando tudo isso em consideração, tem-se também que a saliva pode auxiliar no diagnóstico e acompanhamento de doenças, como é o caso do Diabetes Mellitus, por exemplo, tendo em vista que já foi comprovado que moléculas de glicose conseguem atravessar a membrana dos vasos sanguíneos, atingindo o sulco e fluido crevicular gengival e, conseqüentemente, a saliva. Dessa forma, quanto mais severo o diabetes, maiores os níveis de glicose sanguíneos e salivares. (Indira et. al., 2015)

1.5 Proteína Total

Já foram encontradas mais de 5000 proteínas na saliva (a maioria produzida pelas glândulas salivares e a minoria produzida por glândulas salivares menores, flora microbiana e fluido crevicular gengival), as quais possuem diversas funções, como tamponamento, lubrificação, proteção física, limpeza, manutenção da integridade dentária, manutenção do pH, sabor, digestão e atividade antimicrobiana e antifúngica, entre outras. A composição predominante da proteína total salivar é de mucina, proteínas ricas em prolina (constituem a maior parte da proteína total), estaterinas, imunoglobulinas, fatores antimicrobianos e amilase, que são responsáveis pela maioria das funções da saliva (Kejriwal et. al., 2014; Indira et. al., 2015). Em análises do fluido salivar em relação à proteína total, foi ressaltada a relação direta entre a alteração da proteína salivar e a disbiose oral, pois a microbiota existente na doença periodontal, em especial a *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* e *Porphyromonas gingivalis* leva ao aumento dos níveis salivares de proteína total e albumina, afirmando-se que esse fluido permite um bom diagnóstico e monitoramento da progressão da DP. (Shaila, Pai e Shetty, 2013; Lorenzo-Pouso, 2018; Al-Manei et. al., 2020)

Estudos conseguem comprovar a relação entre aumento nos índices de proteína total na saliva e fluido crevicular gengival com o aumento da inflamação durante a doença periodontal, tanto na gengivite como na periodontite, a exemplo do estudo de Justino et. al. (2017), no qual os autores compararam os efeitos da higiene oral em biomarcadores salivares e observaram que o hábito da higiene oral além de reduzir o fluxo salivar, também reduziu a taxa de secreção de proteína total, eles perceberam que, altos fluxos salivares são diretamente proporcionais aos altos níveis de proteína total, pois a concentração dos compostos orgânicos aumenta devido à ativação das fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas, o que acarreta no aumento dos níveis de secreção das proteínas salivares (Akaiin et. al., 1993; Kejriwal et. al., 2014). Além disso, Burgener et. al. (2010), por meio de análise do fluido salivar no sulco gengival de pessoas com DP, observaram e concluíram que a proteína total pode ser usada como um marcador biológico útil para monitorar a periodontite.

1.6 Tratamento da Periodontite

Com relação à eficácia, o tratamento periodontal básico de raspagem e alisamento radicular, resultando na desorganização do biofilme e remoção de cálculo supra e subgengival, é considerado o padrão ouro para o tratamento das doenças periodontais. Porém, esse tipo de tratamento deve ser feito levando em conta a severidade da doença presente no paciente, para que haja um tratamento personalizado para cada caso, bem como habilidade e conhecimento do profissional. Também há grande importância na colaboração do paciente, que, além de receber as instruções de forma a compreender a importância da correta higienização bucal, também deve receber o incentivo e motivação para continuar colaborando e ajudando com seu próprio tratamento, reduzindo, também, fatores de risco como tabagismo, por exemplo. Deve ser compreendido que, assim como ocorre no tratamento de doenças sistêmicas, o tratamento da periodontite necessita de uma estratégia de tratamento e acompanhamento que pode durar muitos anos a depender da situação clínica do paciente. (Souza et. al., 2012; Santos et. al., 2017)

Por outro lado, existem casos em que o TPB, sozinho, não consegue dar conta de resolver o problema periodontal e restabelecer a saúde do paciente. Isso pode acontecer devido a diversos fatores, como bolsas periodontais muito profundas, impedindo que os instrumentos descontaminem a bolsa em sua totalidade, deficiência do sistema imune em responder às agressões microbianas, dificuldade do paciente em colaborar em casa com a terapia, mas isso tudo deve ser levado em consideração para o planejamento do tratamento do paciente

periodontalmente comprometido. Sendo assim, muitas vezes o TPB é a fase inicial do tratamento, tendo como função principal descontaminar ao máximo os sítios envolvidos para reduzir a inflamação e preparar o paciente para a terapia periodontal cirúrgica. Nesses casos mais complicados, normalmente o tratamento se resume a RAR, instrução de higiene bucal, reavaliação, nova RAR e reforço da instrução de higiene, seguido do planejamento cirúrgico associado ou não a medicações sistêmicas. (Thone-Muhling et. al., 2010; De Molon et. al., 2019)

O tratamento periodontal, quando realizado de forma eficaz, tem como principal consequência a redução significativa da carga microbiana subgingival, o que leva à redução da inflamação e da resposta inflamatória exacerbada. Dessa forma, a bacteremia, que em sua essência se caracteriza pela circulação das bactérias e seus produtos pelo organismo, também é reduzida, melhorando, também, a situação inflamatória no organismo como um todo e sua influência na exacerbação da inflamação em outras regiões do organismo. Como prova disso, vários autores registraram que, após o tratamento periodontal eficaz, os níveis de citocinas e mediadores pró-inflamatórios foram reduzidos a níveis sistêmicos. (Bezerra et. al., 2015; Santos et. al., 2017; Mombelli, 2018; Preshaw e Bisset, 2019)

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

Considerando as consequências da Doença Periodontal e sua influência nas comorbidades, é importante que seja feita a detecção precoce da DP. Isso tradicionalmente é feito através da mensuração de parâmetros clínicos como sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e perda de inserção, associados a análises radiográficas. Entretanto, esses parâmetros trazem resultados da existência prévia da doença, com indicação de continuidade ou agravamento da mesma, mas existem casos, por exemplo, nos quais a doença uma vez se fez instalada, mas ocorreu reparo periodontal, havendo perda dos tecidos de suporte, mas não há atividade inflamatória no local. Sendo assim, trata-se de um diagnóstico subjetivo, pois não avalia a atividade atual da doença, mas apenas a destruição dos tecidos previamente. (Taba et. al., 2005).

Dessa forma, estudos e avanços tecnológicos propõem a saliva como potencial material de diagnóstico, uma vez que é um fluido fisiológico de fácil coleta, simples, indolor, de baixo custo e seguro tanto para o paciente, quanto para o profissional. Além disso, o fluido salivar apresenta a vantagem de poder ser coletado várias vezes ao dia, o que facilita a repetição da análise. Aliada a todas as vantagens de manipulação da saliva, a sua composição contribui para diagnósticos de inflamações dentárias, principalmente devido à presença de biomarcadores relacionados à DP, além de também conter hormônios, anticorpos, fatores de crescimento, enzimas, microrganismos e seus produtos. (Castagnola et. al., 2017)

Ademais, a saliva é um coadjuvante na análise da secreção geral das proteínas que estão associadas aos estados de doença ou na determinação de diferenças nas proporções de proteínas específicas, bem como metaloproteinases, como já abordado anteriormente (Burgener et. al., 2010).

Dessa forma, tendo em vista as vantagens da utilização da saliva e o impasse com relação à atividade ou não da doença periodontal no paciente, bem como o possível desconforto que os exames periodontais de rotina podem causar, como meta temos a produção de um protótipo de kit diagnóstico baseado na presença de proteínas na saliva. Sem a pretensão de ser um substituto diagnóstico, o desenvolvimento bem sucedido permitirá a exploração comercial de um método de diagnóstico auxiliar não invasivo com potencial de apresentar aos pacientes de forma visual e quantitativa o estado de saúde ou doença e o efeito do tratamento.

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar um protótipo de kit diagnóstico para teste salivar da proteína total, como exame clínico complementar, para o diagnóstico e monitoração do efeito do tratamento

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a concentração de proteína total na condição de saúde;
- Avaliar a concentração de proteína total na presença de doença periodontal;
- Avaliar a concentração de proteína total na condição de saúde periodontal com comorbidades;
- Avaliar a concentração de proteína total na presença de doença periodontal e comorbidades;
- Avaliar alterações na concentração de proteína total após o tratamento periodontal;
- Avaliar a capacidade de detecção das alterações nos níveis de proteína total, nas diferentes condições clínicas e após o tratamento periodontal, com o protótipo do kit diagnóstico.

3. Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo se trata de uma pesquisa de natureza aplicada, visto que busca gerar conhecimento para aplicação prática, além de ter caráter quanti-qualitativo, pois permite a compreensão da complexidade e os detalhes das informações obtidas, além da coleta dos dados e do tratamento estatístico deles. Esta pesquisa também possui caráter explicativo em vista do método experimental aplicado, sendo classificada como estudo prático. Com relação aos procedimentos técnicos que foram utilizados, a pretensão foi guiar o estudo de forma experimental, pois foi estabelecido o objeto de estudo (periodontite), as variáveis que podem influenciá-lo (comorbidades) e formas de controle e observação da correlação entre ambos.

3.1 Apreciação ética

Os protocolos utilizados neste estudo foram conduzidos após a análise e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP) da Universidade de São Paulo (USP) (CAAE: 42335820.6.0000.5419).

3.2 Cálculo do tamanho da amostra

O cálculo de amostra foi realizado com base nos resultados do estudo de Kejriwal et. al. (2014), que avaliou a estimativa dos níveis de mucina salivar, amilase e proteína total em pacientes com gengivite e periodontite. Foi utilizada uma diferença entre as médias de 0.84mg/mL com desvio padrão de 0.43. A partir de um poder β de 0.80 e α de 0.05, estimou-se uma amostra mínima de 8 pacientes por grupo.

3.3 Critérios de inclusão

Foram selecionados pacientes que estavam à procura de tratamento periodontal nas clínicas odontológicas da FORP-USP e que se adequaram aos seguintes critérios de inclusão:

- Mínimo de 14 dentes naturais, sendo pelo menos 10 deles posteriores.
- Diagnóstico de Periodontite Estágios 2 ou 3 e Grau B com idade mínima de 35 anos de idade e 5 dentes com profundidade de sondagem (PS) 5mm e perda de inserção 3 mm; ou diagnóstico de Periodontite Estágios 2 ou 3 e Grau C com idade entre 18 e 35 anos e possuir 8 dentes com PS 5mm e perda de inserção 3mm, sem direta relação com fatores etiológicos clinicamente detectáveis. (López, Gamonal e Martinez, 2000)
- Pacientes sistemicamente saudáveis (ASA I), e pacientes diagnosticados com Diabetes Mellitus e/ou com Artrite Reumatoide.

3.4 Critérios de exclusão

- Tabagismo
- Gravidez
- Tratamento periodontal recente (últimos 6 meses)
- Uso recente de antibióticos (últimos 6 meses)
- Pacientes que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

3.5 Modelo experimental

Foram selecionados 57 pacientes, que foram divididos nos seguintes grupos (ver Figura 1):

Grupo Saúde (S) (n=14): Pacientes sistemicamente saudáveis e sem doença periodontal (controle); Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias.

Grupo Periodontite (DP) (n=11): Pacientes sistemicamente saudáveis e com doença periodontal; Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias.

Grupo Diabetes com Saúde Periodontal (DM+S) (n=5): Pacientes diabéticos e sem doença periodontal; Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias.

Grupo Diabetes com Periodontite (DM+DP) (n=10): Pacientes diabéticos e com doença periodontal; Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias

Grupo Artrite com Saúde Periodontal (AR+S) (n=5): Pacientes com artrite reumatoide e sem doença periodontal; Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias

Grupo Artrite com Periodontite (AR+DP) (n=12): Pacientes com artrite reumatoide e com doença periodontal; Coleta da saliva, exames clínicos, TPB e instruções de higiene oral; reavaliação e nova coleta após 45 dias

Cada grupo recebeu terapia periodontal básica, instrução de higiene oral, profilaxia e coleta de saliva sem estímulo.

Todos os pacientes foram orientados a não ingerir bebidas ou alimentos pelo menos uma hora antes do atendimento, bem como escovar os dentes apenas uma hora antes do atendimento.

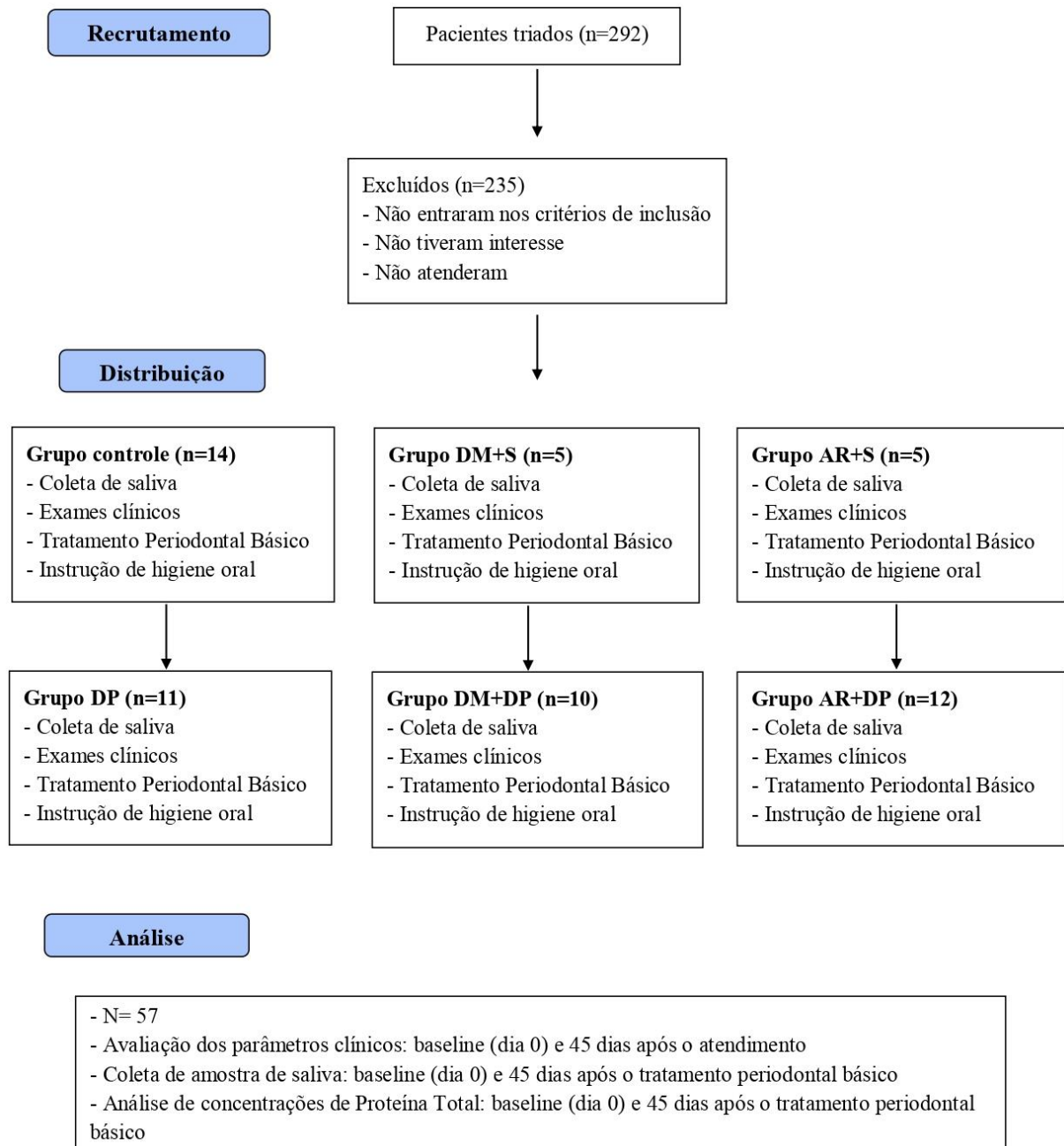


Figura 1 - Diagrama de Fluxo

3.6 Preparo do teste Biureto

O Reagente Biureto foi preparado dissolvendo 1,5g de sulfato de cobre penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 6,0g de tartarato duplo de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) em 500ml de água destilada. Foram adicionados, sob agitação constante, 300mL de solução de NaOH a 10% e o volume foi completado para 1 litro com água destilada. Para inibir a reação

de redução do cobre foi adicionado 1g de iodeto de potássio. A solução foi armazenada em recipiente de plástico âmbar e armazenado a 2-8°C.

3.7 Preparo da proteína Caseína para controle positivo

A proteína utilizada para controle positivo foi a Caseína e, para o seu preparo, foram utilizados 2g de caseína e adicionados 20mL de água destilada. A solução permaneceu em agitador para que os grânulos fossem diluídos ao máximo e posteriormente foi armazenada a 2-8°C.

3.8 Teste salivar

Primeiramente, foi solicitado que os pacientes realizassem bochecho com água previamente à coleta de saliva, a fim de que possíveis resíduos alimentares e restos celulares fossem removidos, então, foi entregue um tubo FALCON de 50mL para coleta de 5mL de saliva não estimulada. Logo após, 1mL da saliva foi retirado do tubo Falcon com pipeta de Pasteur estéril e depositado num tubo eppendorf de 2mL que havia sido previamente separado com 1mL da solução de biureto para reação colorimétrica e teste do kit a partir da modificação da metodologia descrita por Anson-Hagihara (1958) (Caseína-tirosina). O restante da saliva (4mL) foi mantido em caixa de isopor com gelo e tampada durante o atendimento para posteriormente ser fracionada em tubos eppendorf de 1,5mL e refrigerada a -80°C para posteriores análises laboratoriais

3.8.1 Separação e registro do Controle Positivo, Controle Negativo e Saliva

Em todos os atendimentos, foram separados três eppendorfs com capacidade de 2mL cada, nos quais foram depositados 1mL da solução do reagente biureto.

Para o controle positivo, um desses eppendorfs foi separado e seu volume foi completado com 1mL de caseína, gerando, assim, uma tonalidade de roxo que simula a saliva de um paciente com doença periodontal mais grave.

Para o controle negativo, um segundo eppendorf foi separado e seu volume foi completado com 1mL de água destilada, gerando, dessa forma, uma transparência característica de um paciente totalmente saudável periodontalmente.

Finalmente, para análise colorimétrica da saliva, 1mL de saliva não estimulada coletada tanto no dia 0 (baseline) como no dia 45, foi adicionado ao terceiro eppendorf com biureto e sua cor resultante foi fotografada para comparação com os outros tubos (ver figura 2) e a

escala de cor resultante foi processada pelo software ImageJ, gerando um resultado quantitativo para posterior comparação.

As fotografias foram feitas com auxílio de mini estúdio fotográfico de fundo branco, utilizando-se as luzes auxiliares embutidas no estúdio com horário de fotografia fixo às 14h para melhor padronização.

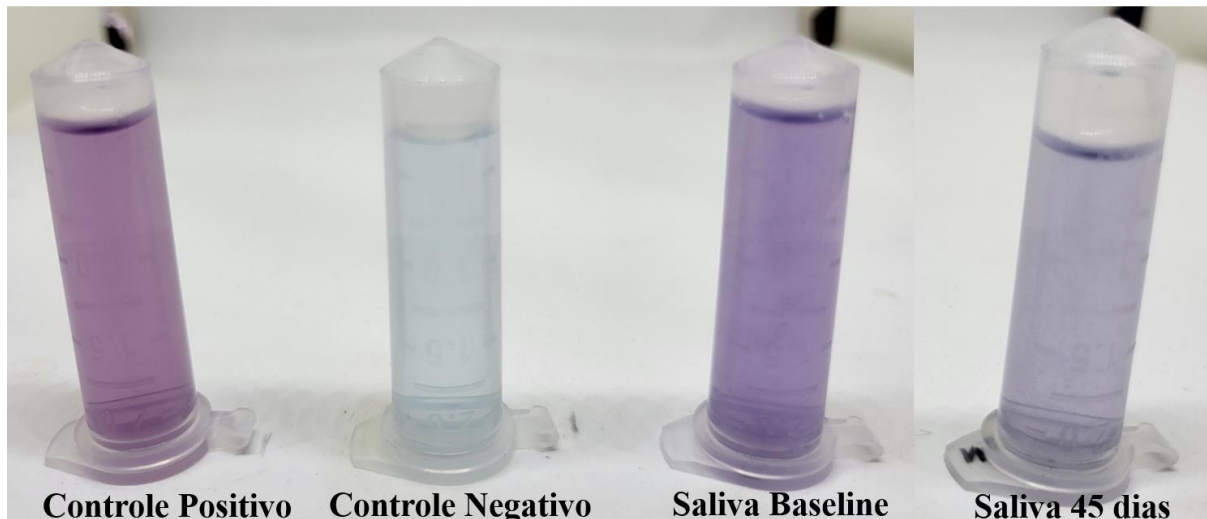


Figura 2 - Teste salivar do kit diagnóstico

3.8.2 Exame clínico e Tratamento Periodontal Básico

No exame clínico, foram realizados exames de Índice Placa, Índice de Sangramento Marginal, Profundidade de Sondagem, Sangramento à Sondagem e Nível Clínico de Inserção.

Para o Índice de Placa e Índice de Sangramento Marginal, foi utilizada a sonda da OMS e espelho clínico número 5, sendo cada dente avaliado em 4 faces (vestibular, lingual/palatina, mesial e distal). Para a Profundidade de Sondagem, Sangramento à Sondagem e Nível Clínico de Inserção, foi utilizada a sonda Carolina do Norte e espelho clínico número 5 e cada dente foi dividido em seis superfícies, sendo três bucais e três linguais. Cada superfície foi registrada como um sítio individual. O resultado desses exames foi registrado para comparação futura.

Após os exames clínicos, foi realizado o tratamento periodontal básico de raspagem supragengival e instrução e motivação da higiene bucal.

Após 45 dias, os pacientes foram agendados para retorno e novamente foi coletado 5mL (com 1mL registrado no teste salivar) de saliva não estimulada e os mesmos exames clínicos foram realizados para comparação com os primeiros exames

3.9 Protocolo de avaliação da concentração de Proteína Total

Foram avaliadas 114 amostras salivares (57 pacientes, para cada pacientes foram armazenadas duas amostras de saliva - baseline e 45 dias - resultando em 114 amostras para serem analisadas).

Como explicado, as amostras de saliva, após serem coletadas, foram armazenadas em gelo até serem transportadas para o freezer a -80°C . Posteriormente, foram descongeladas e analisadas através do kit Pierce™ Rapid Gold BCA Protein Assay Kit (figura 3), que possui albumina de soro bovino (BSA) como padrão para a curva de concentração.

Para dar início aos protocolos, todos os cálculos de diluição foram realizados de forma que os testes fossem feitos com as amostras em duplicata e as amostras salivares inicialmente foram processadas puras no kit. Primeiramente, foram preparados os padrões de albumina de soro bovino de diferentes concentrações, para leitura da curva de concentração, de acordo com instruções do fabricante. Logo após, o reagente de trabalho (working reagent) foi preparado para ser adicionado à placa de 96 poços juntamente com as amostras de saliva (instruções do manual do fabricante). Na placa de 96 poços, foram pipetados 20uL de cada concentração de BSA nos poços iniciais e 20uL de amostra salivar nos poços restantes, de acordo com a quantidade de amostras e em duplicata. Posteriormente, foram adicionados 200uL do reagente de trabalho previamente preparado em todos os poços utilizados na placa e então foi incubado à temperatura ambiente durante 5 minutos sob leve agitação. Finalmente, foi realizada a leitura da placa com absorbância de 480nm.

Após a leitura, as amostras que ficaram muito concentradas foram diluídas em 1:10 em água destilada e lidas novamente. Para chegar no valor final da concentração avaliada, já que as análises foram feitas em duplicata, nas amostras puras foi realizada a média dos valores obtidos, enquanto nas amostras diluídas foi realizado a média dos valores multiplicado por 10. Todas as amostras dos mesmos pacientes foram analisadas na mesma placa de 96 poços através do software Gen5.



Figura 3 - Pierce™ Rapid Gold BCA Protein Assay Kit

3.10 Análise estatística

Os dados coletados foram agrupados e apresentados em gráficos e tabelas em formato de médias e desvios-padrão para mais ou para menos. Os dados foram submetidos a análise estatística com auxílio do software JASP 0.16.4 (Versão Windows 64 bits; Released October 3th, 2022). A normalidade foi verificada com o teste Shapiro-Wilk e de acordo com os resultados os testes apropriados foram aplicados. Para as análises entre grupos foi aplicado o teste ANOVA ou Kruskal-Wallis e, respectivamente, pós-teste de Tukey ou Dunn para comparações múltiplas entre os pares. Para as análises entre os tempos do estudo, inicial e após 45 dias, foi aplicado o teste t de Student pareado ou Wilcoxon. Para as análises de correlação, foi aplicado o teste de Pearson. Em todas as análises o nível de significância foi de 0,05.

4. Resultados

4. RESULTADOS

No decorrer do estudo, nenhum dos pacientes que aceitou participar desistiu da pesquisa. Observar a tabela 1 para compreensão geral da amostra.

Tabela 1 - Características gerais para todos os sujeitos do estudo.

Pacientes		57	
Idade (média ± DP)		48,2 ± 14,4	
Mulheres (n, %)		37 / 64,9	
Homens (n, %)		20 / 35,1	
Saúde		24 (42,1)	
Classificação Periodontal (n, %)	Periodontite	Estágio II	8 (14,03)
		Estágio III	18 (31,57)
		Estágio IV	7 (12,28)
Artrite (n, %)	17 (29,8)	Homens 2 (11,8)	Mulheres 15 (88,2)
Diabetes (n, %)	15 (26,3)	Homens 10 (66,7)	Mulheres 5 (33,4)
Grau de escolaridade (n, %)	Fundamental incompleto	10 (17,54)	
	Fundamental completo	3 (5,26)	
	Segundo grau incompleto	1 (1,75)	
	Segundo grau completo	17 (29,82)	
	Superior incompleto	8 (14,03)	
	Superior completo	18 (31,57)	
Etnia (n, %)	Negros	12 (21,05)	
	Pardos	17 (29,82)	
	Branços	28 (49,12)	

4.1 Avaliação da idade

A idade média de todos os pacientes da amostra foi de 48,2 anos, sendo no grupo S =26,6 anos, grupo DP= 51,6 anos, grupo DM+S=55 anos, grupo DM+DP=60,2 anos, grupo AR+S=49,4 anos e grupo AR+DP=57,3 anos. Ao se realizar a comparação entre os grupos, foi observada diferença estatisticamente significativa entre eles ($p < 0,005$), mais especificamente quando comparados os grupos AR+DP x S ($p < 0,001$), AR+S x S ($p < 0,001$), DM+DP x S ($p < 0,001$), DM+S x S ($p < 0,001$) e DP x S ($p < 0,001$). (Ver Figura 4)

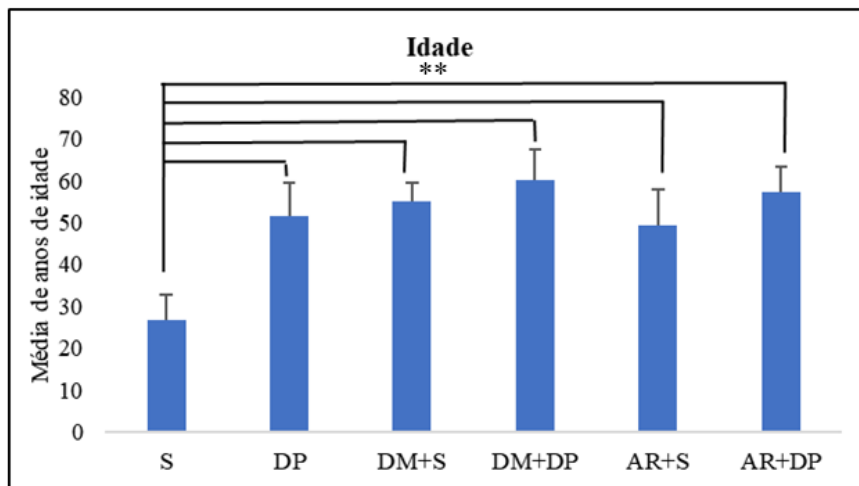


Figura 4 - Gráfico representativo da avaliação da idade dos pacientes. **Diferença significativa quando comparado entre grupos ($p < 0,001$). Eixo vertical: média de anos de idade entre grupos. Eixo horizontal: grupos analisados Fonte: autoria própria

4.2 Avaliação dos parâmetros clínicos

A Tabela 2 apresenta a média e desvio-padrão dos resultados obtidos nos grupos S, DP, DM+S, DM+DP, AR+S, AR+DP, referente aos parâmetros clínicos avaliados (índice de placa, índice de sangramento marginal, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem).

4.2.1 Índice de Placa (IP)

Nas avaliações intragrupos, foram comparados os índices de placa no baseline e 45 dias após o tratamento periodontal e instrução de higiene oral. Nessa análise, foi observado que os grupos S, DP e AR+DP tiveram uma redução significativa no índice ($p < 0,05$), enquanto os grupos DM+S e DM+DP obtiveram redução, mas não foi significativa ($p > 0,05$) e o grupo AR+S teve como resultado um leve aumento do índice de placa, mas que não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Ao avaliar entre os grupos, foi feita uma análise de índice de placa de todos os grupos no baseline e, posteriormente, outra análise de todos os grupos no tempo 45 dias. Nessa avaliação, foi observada que houve diferença estatística significativa entre os grupos tanto no baseline como no tempo 45 ($p < 0,05$), e, após análise de comparações múltiplas observou-se diferenças entre AR+S x DP ($p = 0,004$) e também nos grupos DP x S ($p < 0,001$) no baseline e na comparação entre os grupos DP x S ($p = 0,011$) no tempo 45. (Ver Figuras 5, 6 e 7 e Tabela 2)

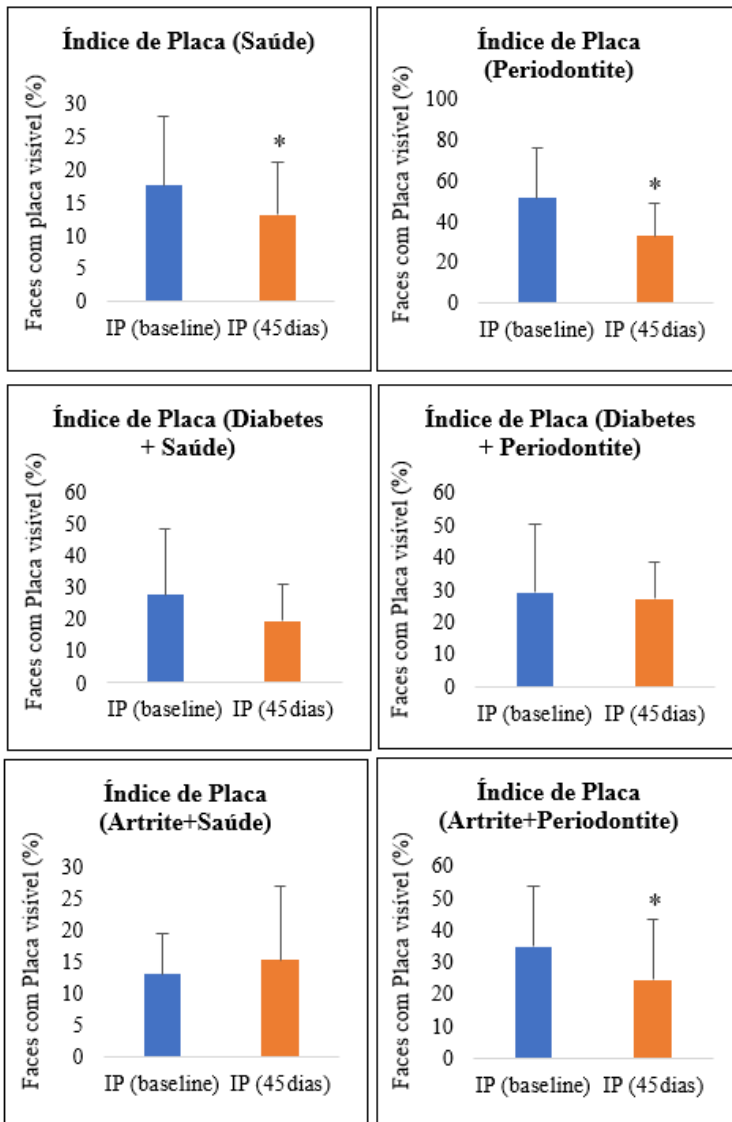


Figura 5 - Painele de gráficos representativo da avaliação do Índice de Placa. *Diferença significativa quando comparado baseline e 45 dias intragrupo ($p < 0,05$). Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com placa visível intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

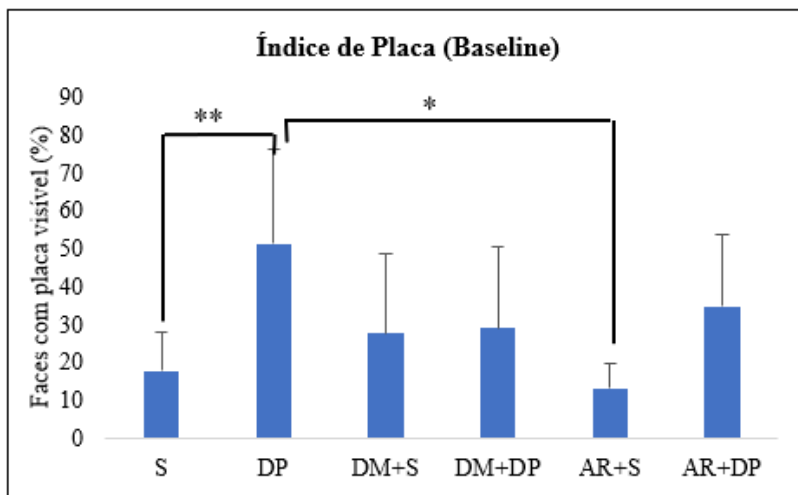


Figura 6 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no baseline. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$); **Diferença significativa quando comparado

pacientes entre grupos ($p < 0,001$). Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com placa visível entre grupos. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria.

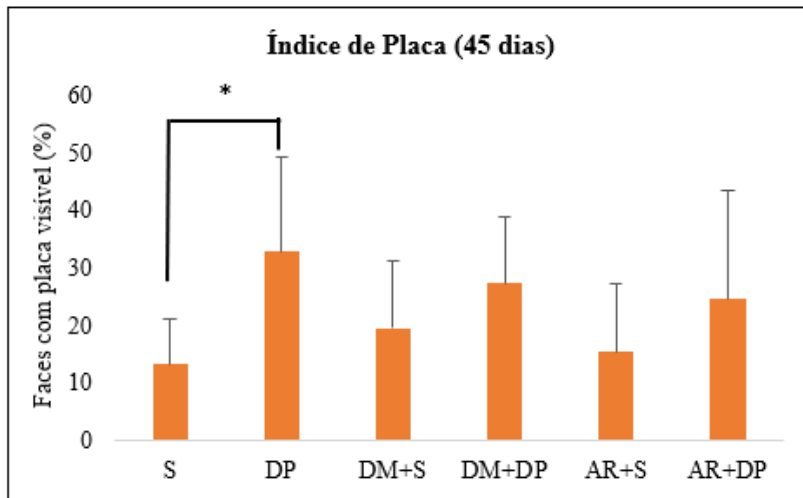


Figura 7 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no tempo 45 dias. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$). Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com placa visível entre grupos. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria.

4.2.2 Índice de Sangramento (IS)

Os valores obtidos de média e desvio-padrão do índice de sangramento de todos os grupos, tanto do baseline como 45 dias, se encontram na Tabela 2 e pode-se observar que, ao avaliar intragrupos, todos os grupos apresentaram redução do índice de sangramento, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Além disso, ao se avaliar entre os grupos, também não houve diferença estatística no tempo de 45 dias nem no baseline ($p > 0,05$). (Ver Figuras 8, 9 e 10 e Tabela 2)

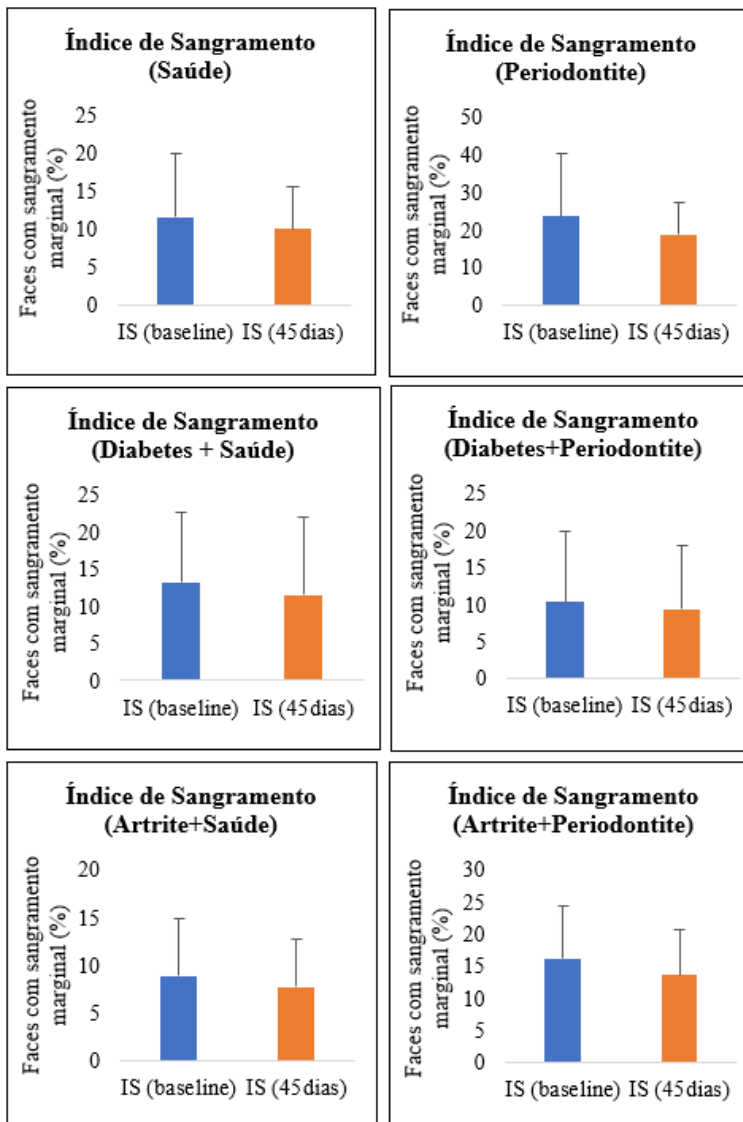


Figura 8 - Painel de gráficos representativo da avaliação do Índice de Sangramento. Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com sangramento de margem gengival intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

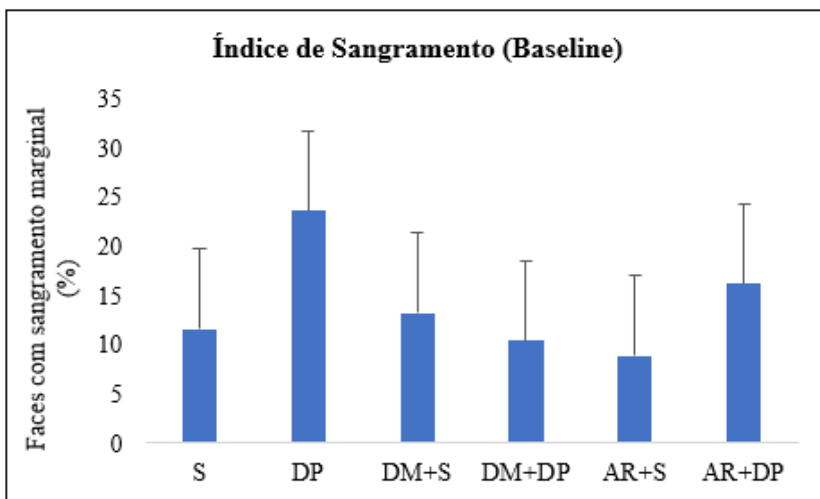


Figura 9 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no baseline. Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com sangramento de margem gengival entre grupos. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

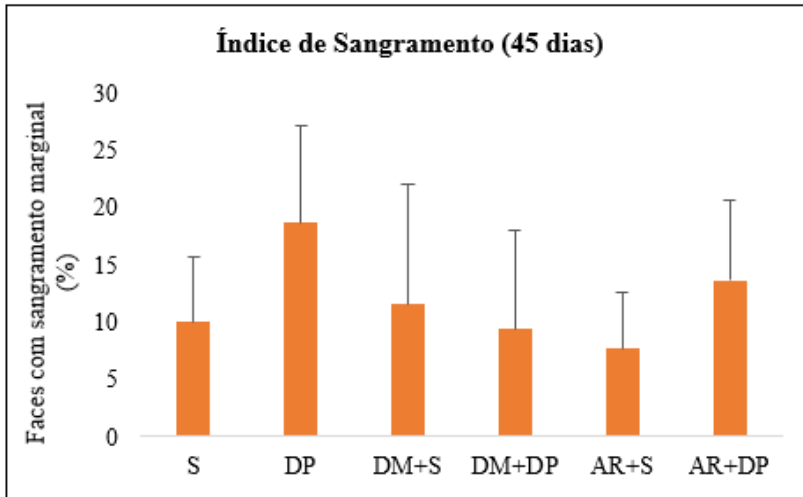


Figura 10 - Gráfico representativo da avaliação do Índice de Placa de todos os grupos no tempo 45 dias. Eixo vertical: Porcentagem de faces dentárias com sangramento de margem gengival entre grupos. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

4.2.3 Profundidade de Sondagem (PS)

As médias e desvios-padrão representativos da profundidade de sondagem dos grupos nos dois tempos do estudo podem ser observados na Tabela 2. Nas comparações intragrupo, pode-se observar que houve redução da profundidade nos grupos DP, AR+S e AR+DP, mas só houve diferença significativa nos grupos DP e AR+DP ($p < 0,05$). Já nos grupos S, DM+DP e DM+S houve leve aumento da profundidade de sondagem, mas sem significância estatística ($p > 0,05$). Ao se avaliar entre grupos, foi observado que houve diferença estatística tanto no baseline como no tempo 45 ($p < 0,05$), sendo evidente no baseline quando foram comparados os grupos AR+DP x S ($p = 0,001$), AR+S x DP ($p = 0,044$) e DP x S ($p < 0,001$) e no tempo 45 ao serem comparados os grupos AR+DP x S ($p = 0,028$), AR+S x DP ($p = 0,037$), DM+DP x S ($p = 0,037$) e DP x S ($p < 0,001$). (Ver Tabela 2 e Figuras 11, 12 e 13)

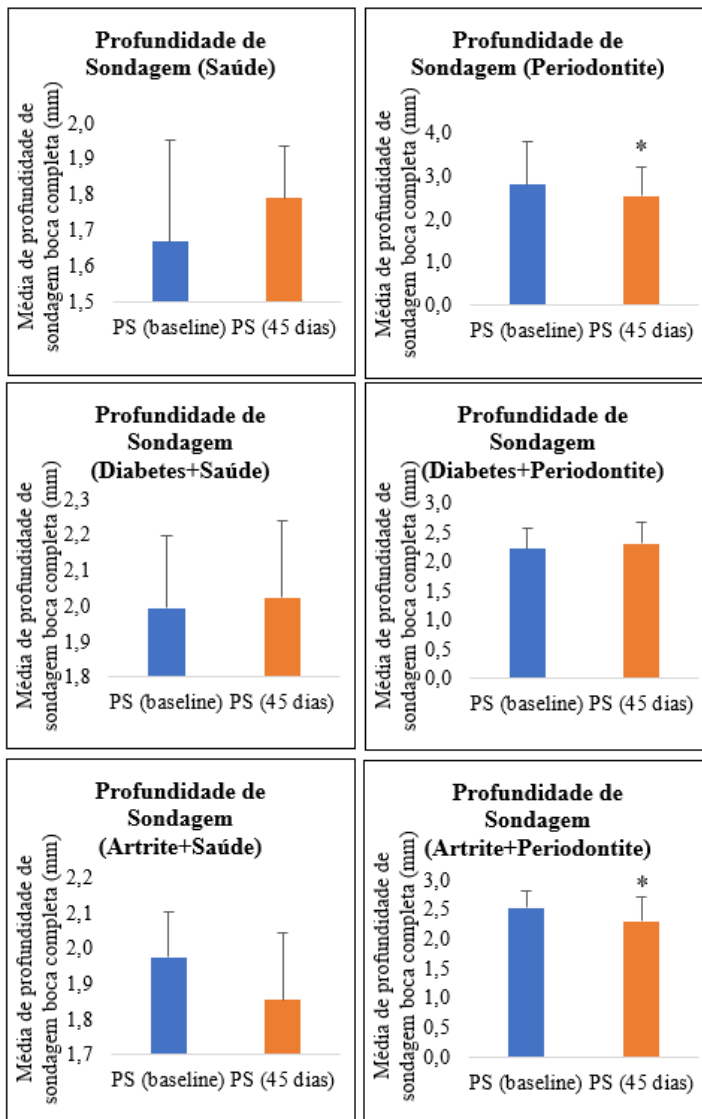


Figura 11 - Pannel de gráficos representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem. *Diferença significativa quando comparado baseline e 45 dias intragrupo ($p < 0,05$). Eixo vertical: Média de profundidade de sondagem (mm) quando avaliados todos os elementos dentários intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

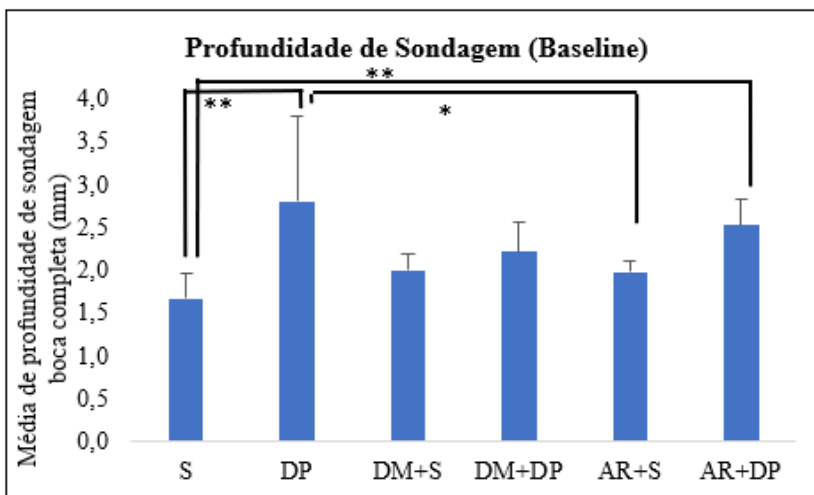


Figura 12 - Gráfico representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem de todos os grupos no baseline. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$); **Diferença significativa quando

comparado pacientes entre grupos ($p < 0,001$). Eixo vertical: Média de profundidade de sondagem (mm) dos elementos dentários de cada grupo avaliado. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

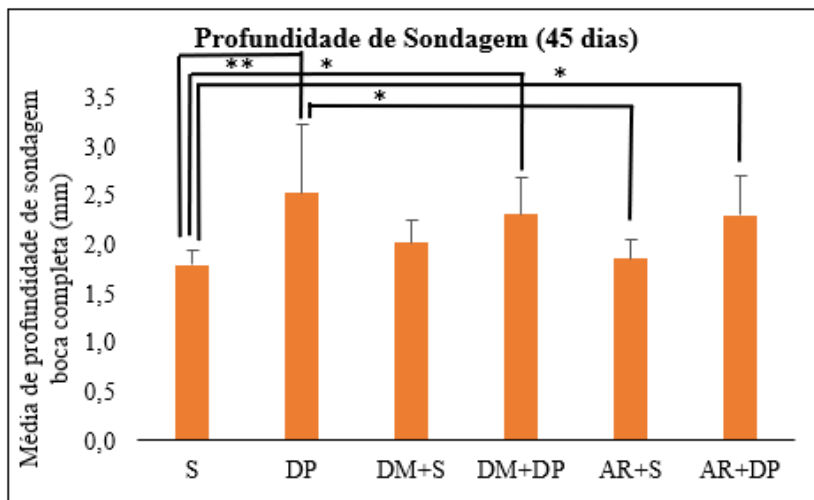


Figura 13 - Gráfico representativo da avaliação da Profundidade de Sondagem de todos os grupos no tempo 45 dias. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$); **Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,001$). Eixo vertical: Média de profundidade de sondagem dos elementos dentários de cada grupo avaliado. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

4.2.4 Sangramento à Sondagem (SS)

Os valores de média e desvio-padrão do sangramento à sondagem obtidos após análise de todos os grupos nos dois tempos de estudo podem ser vistos na Tabela 2. Quanto à comparações intragrupos, o resultado obtido foi que houve leve melhora no sangramento à sondagem nos grupos S, DP, DM+S, DM+DP e AR+DP, mas essa alteração foi estatisticamente significativa apenas no grupo DP ($p < 0,05$), enquanto houve piora no grupo AR+S, porém sem significância estatística ($p > 0,05$). Já entre os grupos, houve diferença quando comparados os grupos DP x S ($p = 0,003$) no baseline, mas não houve diferença estatística na análise do tempo 45 ($p > 0,05$). (Ver Tabela 2 e Figuras 14, 15 e 16)

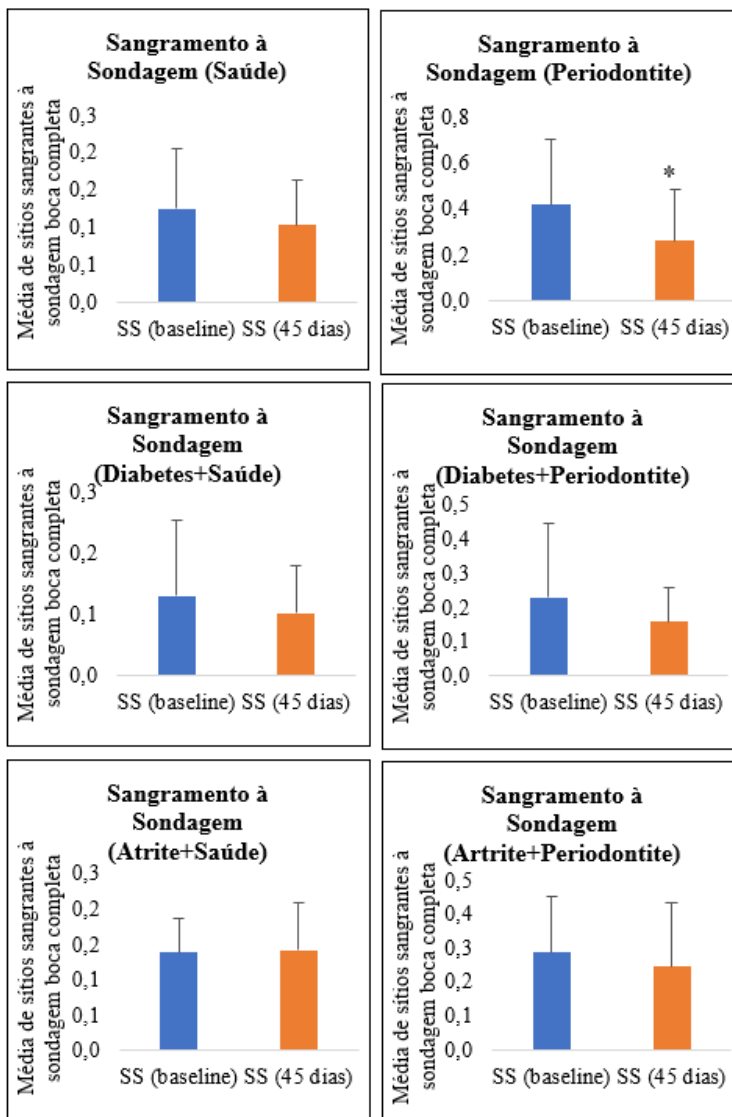


Figura 14 - Painel de gráficos representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem. *Diferença significativa quando comparado baseline e 45 dias intragrupo ($p < 0,05$). Eixo vertical: Média de sítios sangrantes à sondagem quando avaliados todos os elementos dentários intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

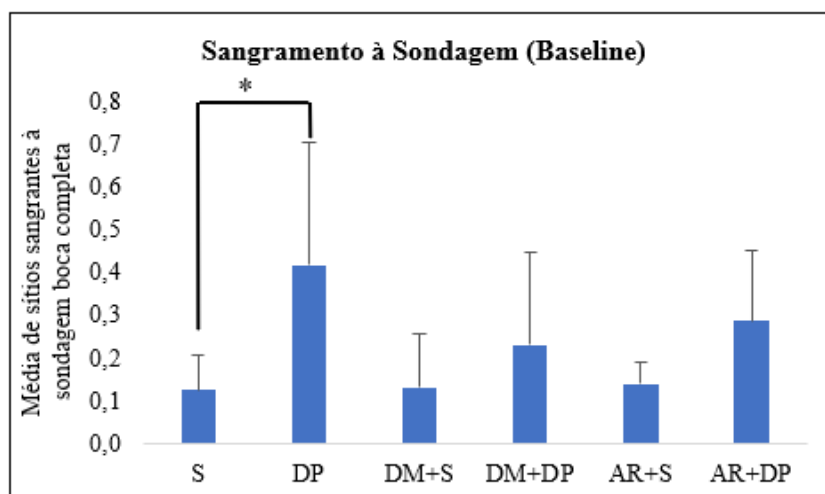


Figura 15 - Gráfico representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem de todos os grupos no baseline. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$). Eixo vertical: Média de sítios sangrantes à sondagem quando avaliados todos os elementos dentários de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

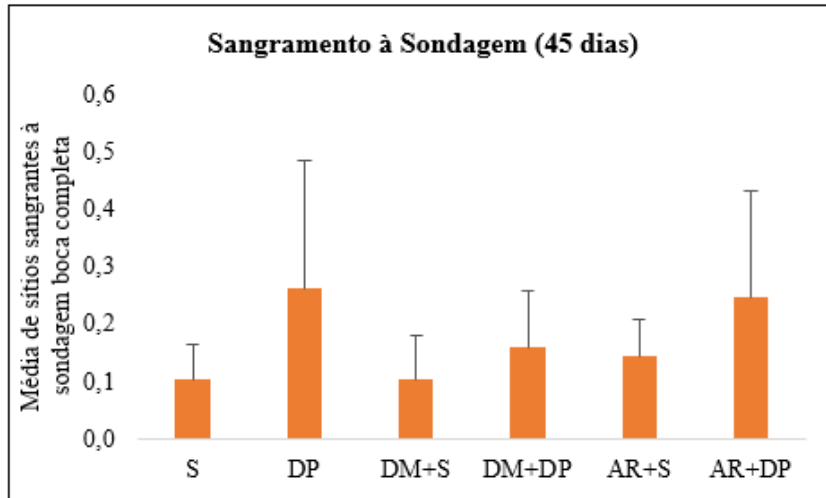


Figura 16 - Gráfico representativo da avaliação do Sangramento à Sondagem de todos os grupos no tempo 45 dias. Eixo vertical: Média de sítios sangrantes à sondagem quando avaliados todos os elementos dentários de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

4.2.5 Nível Clínico de Inserção (NIC)

Para esse índice, foi avaliado apenas o baseline, como forma de diferenciar os grupos do estudo. Dessa forma, foi observado que houve diferença significativa quando comparados os grupos AR+DP x AR+S ($p = 0,013$), AR+DP x S ($p < 0,001$), AR+S x AR+DP ($p = 0,032$), DM+DP x S ($p < 0,001$), DM+S x S ($p = 0,023$) e DP x S ($p < 0,001$). (Ver Figura 17)

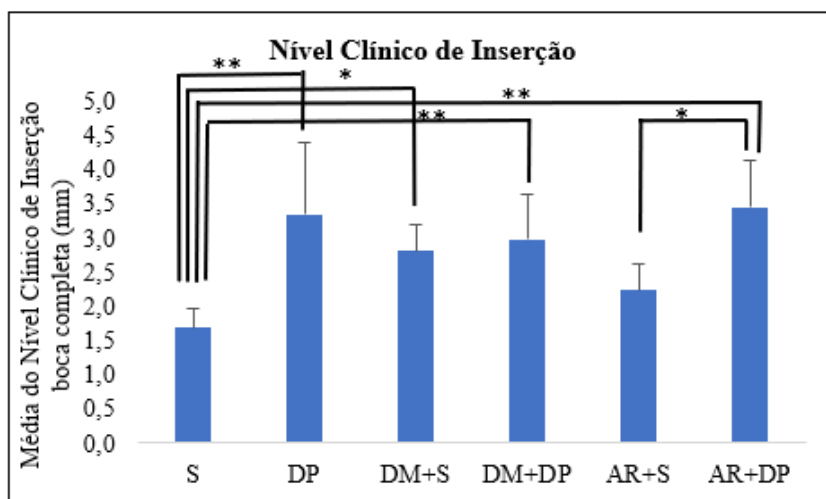


Figura 17 - Gráfico representativo da avaliação do Nível Clínico de Inserção. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$); **Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,001$). Eixo vertical: Média do Nível Clínico de Inserção quando avaliados todos os elementos dentários de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

4.3 Análise das concentrações de Proteína Total

Os resultados obtidos das análises de média e desvio-padrão dos grupos estudados se encontram na Tabela 3. Quanto à avaliação intragrupo, foi analisado que os valores da concentração de proteína total ($\mu\text{g/mL}$) reduziram nos grupos DP, DM+S, DM+DP e AR+DP, sendo essa diferença entre os tempo de estudo significativa apenas no grupo DP ($p<0,05$). Já os grupos S e AR+S tiveram suas concentrações de proteína total aumentadas, porém, esse aumento não foi significativo ($p>0,05$). Quanto à avaliação entre grupos, avaliando todos os grupos no tempo baseline e todos os grupos no tempo 45, foi visto que nos dois tempos houve diferença estatística nos resultados ($p<0,05$), sendo essa diferença encontrada na comparação entre os grupos AR+DP x S ($p=0,02$) e DM+DP x S ($p=0,002$) no baseline e entre os grupos AR+DP x S ($p=0,02$) e DM+DP x S ($p=0,006$) no tempo 45 (ver Figuras 18, 19 e 20 e Tabela 3).

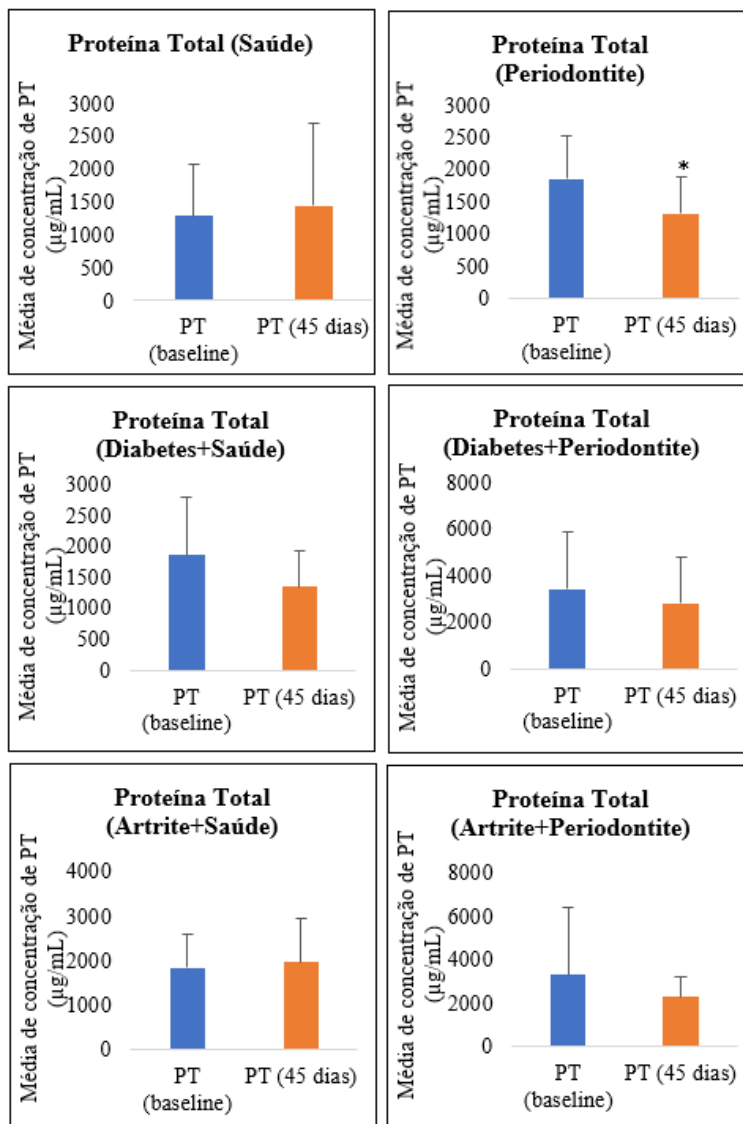


Figura 18 - Painel de gráficos representativo da avaliação das concentrações de Proteína Total ($\mu\text{g/mL}$). *Diferença significativa quando comparado baseline e 45 dias intragrupo ($p<0,05$). Eixo vertical: Média de concentração ($\mu\text{g/mL}$) de Proteína Total quando avaliados todos os pacientes intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

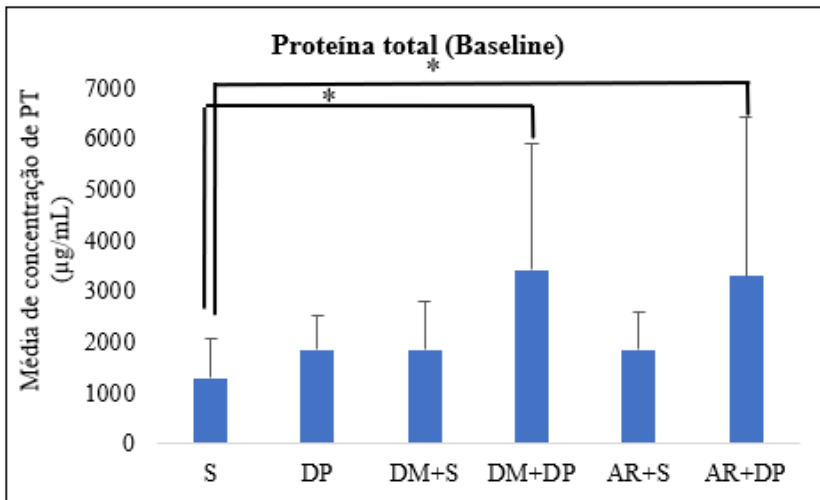


Figura 19 - Gráfico representativo da avaliação da concentração de Proteína Total ($\mu\text{g/mL}$) de todos os grupos no baseline. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$). Eixo vertical: Média de concentração ($\mu\text{g/mL}$) de Proteína Total quando avaliados todos os pacientes de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria.

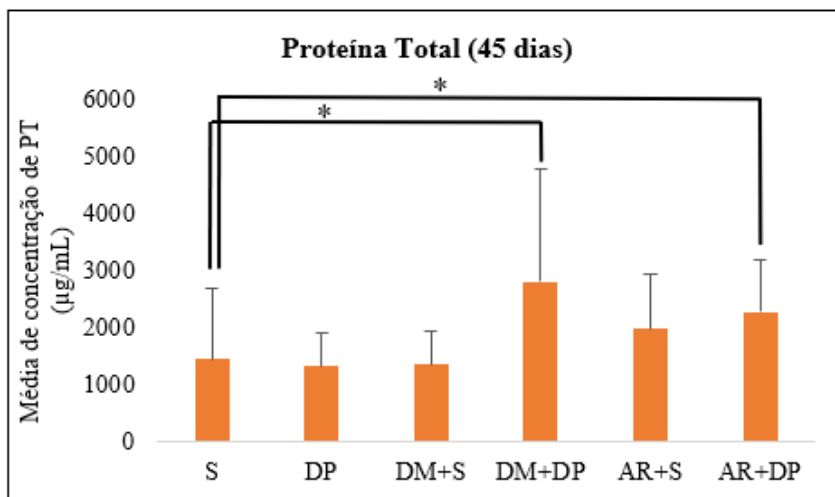


Figura 20 - Gráfico representativo da avaliação da concentração de Proteína Total ($\mu\text{g/mL}$) de todos os grupos no tempo 45 dias. *Diferença significativa quando comparado pacientes entre grupos ($p < 0,05$). Eixo vertical: Média de concentração ($\mu\text{g/mL}$) de Proteína Total quando avaliados todos os pacientes de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria.

4.4 Teste Salivar

Para representar o grau de piora e melhora dos pacientes pelo protótipo do kit diagnóstico, primeiramente foi realizada a avaliação colorimétrica da escala de cor resultante da reação saliva x solução biureto (teste), caseína x solução biureto (controle positivo) e água destilada x solução biureto (controle negativo) presentes no kit, e a escala de cor foi processada pelo software ImageJ para resultados quantitativos, como explicado previamente. Obtidos os resultados da análise de pixels pelo software, a diferença numérica obtida entre o pixel-teste (resultante da saliva-biureto)

e o pixel-controle positivo (resultante da caseína-biureto) foi utilizada como representação do estado de cada paciente no baseline (escore 0) e no tempo 45 (escore 45).

Assim, na avaliação intragrupos, foi observado que, à medida que o valor diminui quando comparados o escore 0 (representação do estado dos pacientes no dia 0) com o escore 45 (representação do estado dos pacientes no dia 45) dentro do mesmo grupo, significa que houve piora na saúde bucal do paciente e, quando à aumento do valor, significa que houve melhora, pois, na leitura colorimétrica, quanto mais saudável o paciente, mais transparente é a cor resultante e mais luz passa no processamento, aumentando assim o valor. Dessa forma, a análise mostrou que houve melhora nos grupos DP, DM+DP, AR+S e AR+DP, enquanto houve piora nos grupos S e DM+S, porém, essa diferença não foi significativa ($p>0,05$). Também não houve diferença estatisticamente significativa quando feita a comparação entre grupos nos tempos baseline e 45 dias (ver Tabela 3 e Figuras 21, 22 e 23)

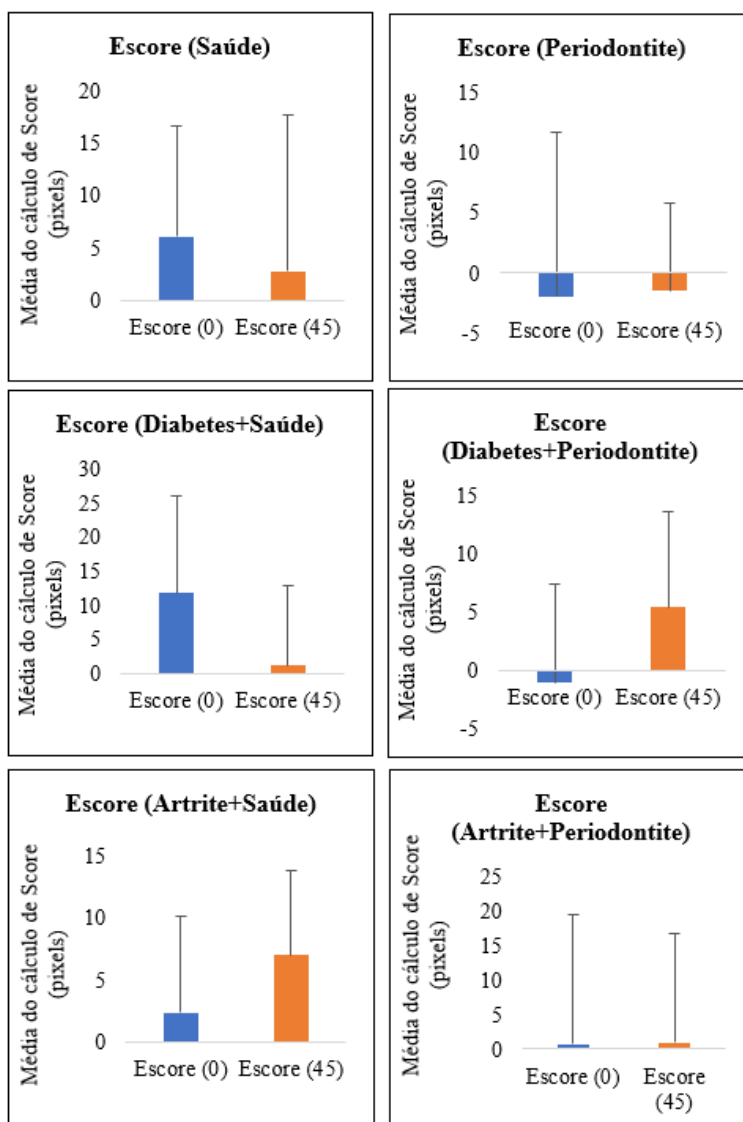


Figura 21 - Painel de gráficos representativo da avaliação dos escores do Teste Salivar. Eixo vertical: Média do cálculo do Score (pixels) do teste salivar quando avaliados todos os pacientes intragrupos. Eixo horizontal: tempos analisados intragrupos. Fonte: autoria própria

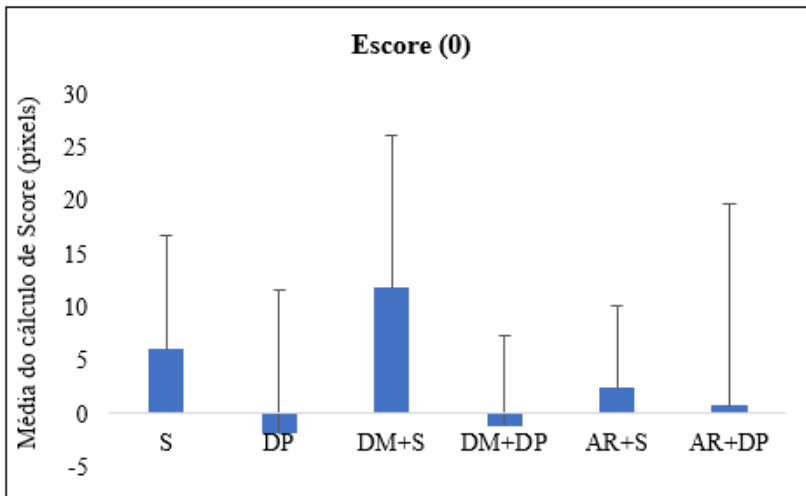


Figura 22 - Gráfico representativo da avaliação do Teste Salivar pelo escore 0. Eixo vertical: Média do cálculo do Score (pixels) do teste salivar quando avaliados todos os pacientes de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

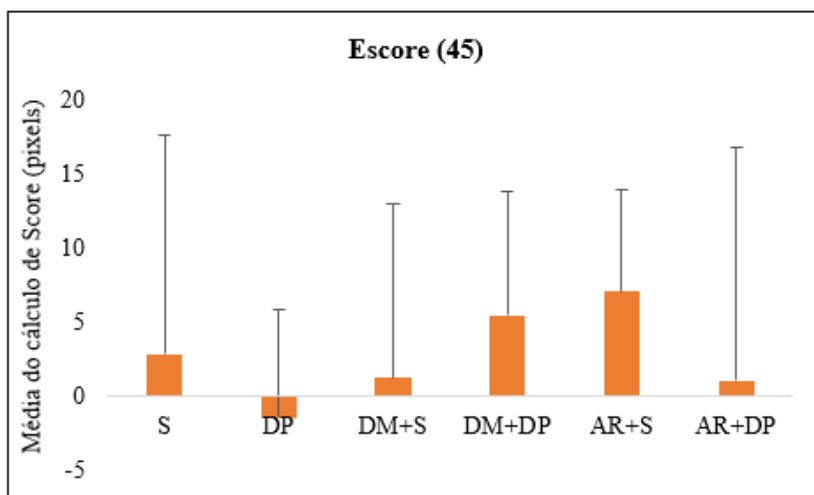


Figura 23 - Gráfico representativo da avaliação do Teste Salivar pelo escore 45. Eixo vertical: Média do cálculo do Score (pixels) do teste salivar quando avaliados todos os pacientes de cada grupo. Eixo horizontal: grupos analisados. Fonte: autoria própria

4.5 Correlações de Pearson

Com o objetivo de uma análise mais detalhada, foram feitas correlações das diferenças obtidas com escore, sangramento à sondagem e índice de sangramento em grupos com e sem periodontite e, posteriormente, todos os grupos juntos.

Nos grupos com periodontite (DP; DM+PD; AR+DP), foi observado que a diferença da variação do sangramento à sondagem não coincide com a diferença da variação do teste salivar, ou seja, a variação não foi detectável no teste salivar ($p > 0,05$), já a diferença da variação do índice de sangramento marginal teve diferença significativa da diferença obtida do escore, ou seja, a

variação do índice de sangramento foi detectada no teste salivar ($p<0,05$) e, finalmente, a diferença da variação do índice de sangramento com a diferença do sangramento à sondagem também tiveram diferença entre elas, logo, o índice de sangramento influencia o sangramento à sondagem ($p<0,05$). (Ver Tabela 4)

Já nos grupos sem periodontite (S; DM+S; AR+S), não houve diferença estatisticamente significativa em nenhuma das comparações ($p>0,05$), o que já seria esperado de pacientes periodontalmente estáveis ou saudáveis (ver Tabela 5).

Na avaliação de todos os grupos juntos, foi observado novamente que a diferença da variação do sangramento à sondagem não coincide com a diferença da variação do teste salivar ($p>0,05$), porém, existe a correlação entre a diferença obtida entre índice de sangramento marginal e o escore, comprovando que a variação foi detectada no teste salivar e também houve correlação entre a variação do índice de sangramento com a diferença do sangramento à sondagem ($p<0,001$). (Ver Tabela 6)

Tabela 2 - Parâmetros Clínicos Periodontais

VARIÁVEL	PERÍODO	GRUPOS EXPERIMENTAIS					
		S	DP	DM+S	DM+DP	AR+S	AR+DP
Índice de placa	Baseline	17,6 ± 10,5 A [§]	51,3 ± 24,9 B [§]	27,7 ± 20,9 AB [§]	29,0 ± 21,2 AB [§]	13,0 ± 6,5 A [§]	34,8 ± 18,9 AB [§]
	45 dias	13,1 ± 8,0 A [†]	32,8 ± 16,4 B [†]	19,5 ± 11,7 AB [†]	27,2 ± 11,6 AB [†]	15,3 ± 11,8 AB [†]	24,5 ± 18,9 AB [†]
	p-valor	0,007*	0,005#	0,188	0,706	0,452	0,018#
Índice de sangramento marginal	Baseline	11,6 ± 8,4	23,6 ± 16,9	13,3 ± 9,5	10,4 ± 9,5	8,9 ± 6,0	16,2 ± 8,1
	45 dias	10,0 ± 5,7	18,7 ± 8,5	11,6 ± 10,6	9,4 ± 8,6	7,7 ± 5,0	13,7 ± 7,0
	p-valor	0,597	0,107	0,739	0,76	1	0,369
Profundidade de sondagem	Baseline	1,7 ± 0,3 A [§]	2,8 ± 1,0 B [§]	2,0 ± 0,2 ABC [§]	2,2 ± 0,3 ABC [§]	2,0 ± 0,1 AC [§]	2,5 ± 0,3 BC [§]
	45 dias	1,8 ± 0,1 A [¶]	2,5 ± 0,7 B [¶]	2,0 ± 0,2 ABC [¶]	2,3 ± 0,4 BC [¶]	1,9 ± 0,2 AC [¶]	2,3 ± 0,4 BC [¶]
	p-valor	0,082	0,029#	0,735	0,116	0,341	0,008#
Sangramento à sondagem	Baseline	0,12 ± 0,08 A [*]	0,41 ± 0,28 B [*]	0,13 ± 0,12AB [*]	0,22 ± 0,21AB [*]	0,13±0,049AB [*]	0,28 ± 0,16AB [*]
	45 dias	0,1 ± 0,06	0,26 ± 0,22	0,1 ± 0,07	0,15 ± 0,09	0,14 ± 0,06	0,24 ± 0,18
	p-valor	0,324	0,032#	0,519	0,26	0,88	0,399

§ Diferença significativa na comparação entre grupos no baseline (ANOVA, Tukey, $p<0,001$)

*Diferença significativa na comparação entre grupos no baseline (Kruskal-Wallis, Dunn, $p<0,05$)

† Diferença significativa na comparação entre grupos no tempo 45 dias (ANOVA, Tukey, $p<0,05$)

¶ Diferença significativa na comparação entre grupos no tempo 45 dias (ANOVA, Tukey, $p<0,001$)

* Diferença significativa quando comparado baseline com 45 dias (Wilcoxon)

Diferença significativa quando comparado baseline com 45 dias (Student)

Letras diferentes representam diferenças significantes ($p<0,05$). Letras maiúsculas representam comparações no período de avaliação (linha).

Tabela 3 - Avaliação da Concentração da Proteína Total e Quantificação do Teste Salivar

VARIÁVEL	L	PERÍODO	GRUPOS EXPERIMENTAIS					
			S	DP	DM+S	DM+DP	AR+S	AR+DP
Proteína Total (µg/mL)	Baseline		1285,8 ± 777,7 A [§]	1855,6 ± 656,8 AB [§]	1857,6 ± 944,3 AB [§]	3413,3 ± 2473,4 B [§]	1846,1 ± 739,1 AB [§]	3293,3 ± 3143,6 B [§]
	45 dias		1444,3 ± 1249,1 A [†]	1312,9 ± 580,1 AB [†]	1350,6 ± 586,6 AB [†]	2797,6 ± 1986,5 B [†]	1963,9 ± 965,4 AB [†]	2272,3 ± 907,1 B [†]
	p-valor		1	0,03 [#]	0,45	0,13	0,77	0,30
Teste Salivar	Escore 0		6,1 ± 10,6	-1,9 ± 13,5	11,8 ± 14,3	-1,1 ± 8,4	2,4 ± 7,7	0,75 ± 18,8
	Escore 45		2,7 ± 14,8	-1,45 ± 7,2	1,2 ± 11,7	5,4 ± 8,3	7 ± 6,8	1 ± 15,7
	p-valor		0,5	0,9	0,2	0,1	0,2	0,9

§ Diferença significativa na comparação entre grupos no baseline (Kruskal-Wallis, Dunn, p<0,05)

† Diferença significativa na comparação entre grupos no tempo 45 dias (Kruskal-Wallis, Dunn, p<0,05)

Diferença significativa quando comparado baseline com 45 dias (Student)

Letras diferentes representam diferenças significantes (p<0,05). Letras maiúsculas representam comparações no período de avaliação (linha).

Tabela 4 - Correlação de Pearson, grupos com periodontite

Variável		ΔEscore	ΔSS	ΔIS
ΔEscore	Pearson's r	-		
	p-valor	-		
ΔSS	Pearson's r	0.026	-	
	p-valor	0.887	-	
ΔIS	Pearson's r	-0.431 [§]	0.515 [†]	-
	p-valor	0.012	0.002	-

Tabela referente à comparação entre as diferenças (Δ) obtidas dos grupos avaliados com periodontite.

§ Diferença significativa na comparação entre as diferenças dos grupos IS e Escore (p<0,05)

† Diferença significativa na comparação entre as diferenças dos grupos IS e SS (p<0,005)

Tabela 5 - Correlação de Pearson, grupos sem periodontite

Variável		ΔEscore	ΔSS	ΔIS
ΔEscore	Pearson's r	-		
	p-valor	-		
ΔSS	Pearson's r	-0.318	-	
	p-valor	0.13	-	
ΔIS	Pearson's r	-0.074	0.264	-
	p-valor	0.73	0.212	-

Tabela referente à comparação entre as diferenças (Δ) obtidas dos grupos avaliados sem periodontite.

Tabela 6 - Correlação de Pearson, todos os grupos

Variável		Δ Escore	Δ SS	Δ IS
Δ Escore	Pearson's r	-		
	p-valor	-		
Δ SS	Pearson's r	-0.072	-	
	p-valor	0.593	-	
Δ IS	Pearson's r	-0.300 [§]	0.432 [†]	-
	p-valor	0.023	< .001	-

Tabela referente à comparação entre as diferenças (Δ) obtidas dos grupos avaliados com e sem periodontite.

§ Diferença significativa na comparação entre as diferenças dos grupos IS e Escore ($p < 0,05$)

† Diferença significativa na comparação entre as diferenças dos grupos IS e SS ($p < 0,001$)

5. Discussão

5. DISCUSSÃO

A periodontite é considerada uma das doenças que mais acomete a população a nível mundial e o padrão ouro do seu diagnóstico se dá através de exames clínicos e radiográficos de maior acurácia para a história da doença e limitações em relação ao estado biológico atual de saúde ou doença do paciente (Souza et. al., 2012; Santos et. al., 2017). Dessa forma, no presente estudo, foi avaliado um protótipo de teste salivar da proteína total, como exame clínico complementar, não invasivo, para auxiliar no diagnóstico e monitoramento do efeito do tratamento periodontal.

A capacidade de detecção das alterações nos níveis de proteína total pelo teste salivar e sua correlação com o sangramento gengival foi avaliada em pacientes com e sem comorbidades antes e após o tratamento periodontal. Ao se avaliar as correlações das diferenças obtidas com o escore do teste salivar, sangramento à sondagem e o índice de sangramento (IS), foi observado que a variação do IS promoveu alterações de cor no protótipo do kit de acordo com o aumento ou redução do sangramento gengival.

Com relação ao tamanho amostral do estudo, a previsão era de 48 pacientes, sendo 8 pacientes por grupo. No entanto, mesmo 292 pacientes sendo triados e o valor da amostra superado para 57 pacientes, devido a imprevistos decorrentes da pandemia, interesse na aceitação da pesquisa pelos pacientes e a dificuldade de conseguir indivíduos diagnosticados com AR e DM que fossem classificados como pacientes com saúde periodontal, os grupos DM+S e AR+S não atingiram o tamanho amostral previsto, enquanto os outros grupos tiveram o tamanho amostral além do previsto.

Foi observada essa limitação especialmente entre o público de idade mais avançada, no qual muitos indivíduos tinham receio de receber atendimento odontológico devido à pandemia. Outros pacientes relataram preferência por outros tratamentos que não passassem pela periodontia, como cirurgia, dentística e, principalmente, implantes. Além disso, a maioria dos pacientes com comorbidades que aceitou o tratamento e não tinham periodontite, apresentaram algum nível de inflamação gengival, necessitando de profilaxia prévia e instrução de higiene oral para que a gengivite fosse reduzida e eles pudessem ser classificados como pacientes com saúde periodontal para entrar no estudo.

Ainda sobre a amostra, foi observada maior prevalência de mulheres (64,9%) do que de homens (35,1%), porém, nos grupos com pacientes diabéticos, a maior prevalência foi de homens (66,7%), o que está em desacordo com estudos como o de Moehlecke Iser et. al. (2021) e Stopa et al (2018), que afirmam que a maior prevalência de DM é em mulheres. No

entanto, outros estudos, como o de Huebschmann et. al. (2019) concordam que a prevalência maior se encontra entre os pacientes homens, com a ressalva de que deve-se levar em consideração a região da pesquisa, pois assim como existem regiões onde indivíduos do gênero masculino possuem maior probabilidade de desenvolver DM, como asiáticos, afrodescendentes e brancos, na população norte-americana não houve diferença na prevalência de indivíduos do gênero masculino ou feminino com DM. Já nos grupos com artrite, a maior prevalência foi de mulheres (88,2%), que está de acordo com diversos estudos, como o de Nagayoshi et. al. (2018), Zarpellon, Dias e Skare (2014) e Kaushal et. al. (2019).

Diversos estudos já relacionam a periodontite com doenças sistêmicas e mostram a relação bidirecional entre elas (Bui et. al., 2019; Sousa et. al., 2020). O presente estudo teve como um de seus focos a avaliação da resposta ao tratamento periodontal de pacientes com Diabetes Mellitus e pacientes com Artrite Reumatoide. Lembrando que, como explicado anteriormente, uma forte correlação entre periodontite e essas doenças é o aumento da liberação de mediadores pró-inflamatórios, bem como a infiltração exacerbada de células imuno-inflamatórias no local (Smit et. al., 2012; Fuggle et. al., 2016) e a questão da bacteremia, na qual microrganismos periodontopatogênicos migram para outros locais no organismo, piorando assim o quadro inflamatório no indivíduo. Além disso, com a liberação de citocinas inflamatórias na corrente sanguínea, desencadeada por doenças como AR e DM, essas citocinas podem percorrer a corrente sanguínea, chegando aos tecidos periodontais, exacerbando a doença (Demoruelle et. al., 2018; Holers et. al., 2018, Kaushal et. al., 2019).

Levando esses fatos em consideração, no caso do DM, por exemplo, existem estudos como o de Sanz et al (2018) comprovando que pacientes com DM têm maior probabilidade de desenvolver periodontite, principalmente quando o controle da glicemia é reduzido. Com a AR, De Molon et. al. (2019) também explica que pacientes diagnosticados com AR possuem uma maior tendência a desenvolver periodontite, por apresentarem maior carga bacteriana de espécies patogênicas associadas às doenças periodontais e isso resultou na piora das condições periodontais quando comparados com pacientes saudáveis. Isso também é comprovado no presente estudo, onde todos os pacientes diagnosticados com DM ou AR, mesmo que não tivessem periodontite, possuíam algum nível de inflamação gengival quando comparados aos grupos sem doenças sistêmicas.

Dessa forma, pesquisadores como Lee et. al. (2017) e De Molon et. al. (2019) afirmam que, como existe a relação bidirecional entre doenças sistêmicas e periodontite, consequentemente, se a periodontite for tratada e prevenida nos indivíduos com maior

suscetibilidade, também ocorrerá a prevenção e até a melhora do estado clínico sistêmico do paciente. Essa afirmação também é explicada por Preshaw (2019) quando ele esclarece que uma das consequências do tratamento periodontal é a redução da carga bacteriana subgingival, que leva à melhora da inflamação periodontal e, conseqüentemente, redução da bacteremia e suas complicações. Para apoiar essa afirmação, um tempo mais longo de atendimento periodontal seria ideal no presente estudo, para melhor acompanhamento dos pacientes, correção de hábitos de higiene e reforço positivo com finalidade de melhorar a colaboração e resultados obtidos e controle dos parâmetros sistêmicos dos pacientes, a fim de observar o nível de melhora dos parâmetros clínicos periodontais e sua correlação com a melhora da saúde sistêmica do paciente.

Com relação à periodontite, já foi abordado que é uma doença caracterizada pela destruição progressiva das estruturas de suporte dos dentes e sua característica principal é a perda de inserção clínica e, caso não seja tratada e prevenida, pode levar a perdas dentárias (Souza et. al., 2012; Santos et. al., 2017). No presente estudo, no baseline, foram coletadas informações dos pacientes quanto à saúde em geral e, mais especificamente, bucal. Foram feitas perguntas sobre hábitos de higiene, técnica de escovação, frequência e uso do fio dental, informações sobre quando os sintomas de doença periodontal começaram a surgir e o motivo (nos casos de pacientes com periodontite ou queixa de sintomas de gengivite, como sangramento) e um atendimento individualizado foi feito para maior eficiência na cooperação do paciente fora do consultório.

O tratamento inicial do paciente se deu a partir de exames clínicos periodontais (IP, IS, PS, SS) e, quando se tratava de um paciente que não tinha periodontite, mas tinha gengivite, o paciente recebeu instrução de higiene oral, profilaxia ou, caso necessário, raspagem supragengival com auxílio de ultrassom e foi orientado a retornar após 7 dias para avaliação e, finalmente, entrar no estudo como paciente sem periodontite. Essa situação foi muito comum nos pacientes com DM e AR o que mais uma vez leva a concordar com os estudos de Sanz et. al. (2018) e De Molon et. al. (2019), que enfatizam a maior probabilidade de indivíduos com AR ou DM desenvolverem doenças periodontais. De forma padronizada, após os exames clínicos, foi realizada a remoção de biofilme e cálculo supragengival, instrução e motivação do paciente e encaminhamento para as disciplinas nas quais o paciente também carecia de tratamento e acompanhamento, como dentística e cirurgia. Esse protocolo de atendimento está em concordância com estudos como o de Tonetti et. al. (2015), Sanz et. al. (2020)^b e Haas et. al. (2021).

O TPB com foco na raspagem supragengival tem grande importância para o sucesso do tratamento periodontal e esse fato é enfatizado nos estudos de Gomes et. al. (2014) e Demarco et. al. (2013). Além disso, o estudo elaborado por Ximénez-Fyvie et. al. (2000) complementa esse argumento ao explicar que a raspagem supragengival é tão importante que pode trazer mudanças benéficas à microbiota subgengival, concordando mais uma vez com o estudo de Gomes et. al. (2014), que afirma que a raspagem supragengival é tão benéfica que, em alguns casos, a intervenção subgengival não se faz mais necessária, desde haja manutenção constante da estabilidade periodontal. Porém, para que a terapia seja eficaz, deve-se tomar cuidado ao avaliar os fatores retentores de biofilme, pois eles podem acabar piorando as condições periodontais do paciente (Demarco et. al., 2013; Tonetti et. al., 2015). Sendo assim, diversos autores como Sanz et. al. (2015), Tonetti, Greenwell e Kornman (2018), Loos e Needleman (2020) e Haas et. al. (2021), concordam que um tratamento periodontal eficaz tem como benefícios a redução dos índices de sangramento, ganho de inserção clínica, controle de placa adequado, ausência de supuração e redução da profundidade das bolsas periodontais.

Levando essas informações em consideração, na presente pesquisa, os resultados que foram obtidos dos parâmetros clínicos periodontais após o TPB foram que, no IP houve redução na porcentagem de placa na maioria dos grupos (S, DP, AR+DP, DM+S e DM+DP), sendo essa melhora estatisticamente significativa apenas nos grupos S, DP e AR+DP, enquanto o grupo AR+S teve piora no IP, sendo essa não significativa; no IS, foi observado que todos os grupos obtiveram melhora na porcentagem de sangramento marginal, porém, em nenhum grupo essa diferença foi significativa; já na PS, houve melhora nos grupos DP, AR+S e AR+DP, mas só houve diferença significativa nos grupos DP e AR+DP, enquanto os grupos S, DM+DP e DM+S apresentaram piora, mas que não foi significante; no SS, houve melhora nos grupos S, DP, DM+S, DM+DP e AR+DP, mas essa alteração foi estatisticamente significativa apenas no grupo DP, enquanto houve piora no grupo AR+S, porém sem significância estatística. Sendo assim, os grupos em que houve melhora significativa estão de acordo com os estudos citados que abrangem a eficácia do TPB, enquanto os grupos que apresentaram melhora não significativa ou piora nos parâmetros clínicos estão em desacordo com todos os estudos citados (Ximénez-Fyvie et. al., 2000; Demarco et. al., 2013; Gomes et. al., 2014; Tonetti et. al., 2015; Sanz et. al., 2015; Tonetti, Greenwell e Kornman, 2018; Loos e Needleman, 2020; Haas et. al., 2021), visto que a perspectiva seria que, após um TPB correto e eficiente, a tendência seria a melhora significativa de todos os parâmetros clínicos, então a terapia básica não forneceu os resultados esperados no estudo.

Para justificar esses resultados, muitos pacientes retornaram no tempo de 45 dias com algumas deficiências na técnica de escovação e uso do fio dental por motivos diversos, como falta de adaptação, esquecimento das orientações, dificuldade de abandonar hábitos e vícios, além de alguns pacientes com AR apresentarem dificuldade de movimentar a mão ou o braço. Outros pacientes surgiram com complicações, como queimadura de segundo grau no palato, impedindo a higienização correta da região após o baseline, apresentando piora dos parâmetros no tempo 45 dias; dor em elementos dentários, sendo encaminhados para a urgência da faculdade, mas não tiveram o tratamento endodôntico finalizado e retornaram com mais inflamação tanto no elemento afetado como na região ao redor. Além disso, houveram casos em que os pacientes apresentavam bolsas muito profundas, que não foram alcançadas na raspagem supragengival.

Outros pacientes necessitavam de tratamento na área da dentística, tanto para remoção de fator retentor de biofilme, como para trocas de restaurações que se encontravam infiltradas ou fraturadas, além de alguns pacientes necessitarem de exodontias de um ou mais elementos. Todos os pacientes que apresentaram essa necessidade foram encaminhados para tratamento na faculdade no baseline, alguns retornaram no tempo 45 dias com o tratamento realizado e melhora na inflamação da região que apresentava fatores retentores, mas outros ainda não haviam sido chamados para o tratamento, o que pode ter influenciado na melhora não significativa ou piora dos parâmetros periodontais, em concordância com o que foi explicado por Demarco et. al. (2013) e Tonetti et. al. (2015).

Sendo assim, essas justificativas estão em concordância com o estudo de Sanz et. al. (2020)^b que afirma que existe a possibilidade de pacientes com muita inflamação e profundidade de sondagem elevada com sangramento à sondagem acabarem não respondendo bem ao tratamento básico. Talvez um acompanhamento maior, colocando um dia a mais de tratamento no delineamento do estudo, resultasse em mais resultados positivos ainda em concordância com Demarco et. al. (2013), Gomes et. al. (2014) e Sanz et. al. (2020)^b, que ressaltam que essa etapa primária do tratamento deve ser constantemente reavaliada e corrigida para maior garantia de ser efetiva. Outra possibilidade de melhora dos resultados seria, além de adicionar outro dia de atendimento, ser realizada instrumentação subgengival com curetas e com o paciente sob anestesia, quando necessário, nos pacientes com periodontite. O que foi realizado na pesquisa foi a primeira etapa do tratamento, segundo Sanz et. al. (2020)^b, a etapa do tratamento periodontal básico, que se adequa a todos os pacientes.

Existem estudos que afirmam que, apesar dos parâmetros clínicos periodontais serem a forma mais utilizada para diagnóstico das doenças periodontais, esses parâmetros possuem a limitação de não representar o estado atual da doença com total acurácia, como explicam Taba et. al. (2005), Leira, Lancharro e Blanco (2018) e Nomura et. al. (2021). Além disso, tanto Leira, Lancharro e Blanco (2018) como Nomura et. al. (2021), e Ueda et. al. (2022) concordam entre si que, para que a periodontite seja avaliada através de parâmetros clínicos como SS, PS e NIC, o valor resultante obtido através de média ou valor máximo acaba acarretando na perda de informações, já que são baseados em medidas lineares, sendo mais dificultosa a quantificação da área periodontal inflamada. Em busca de contornar essa situação e conseguir a quantificação da inflamação periodontal com maior exatidão, esses autores explicam os benefícios da utilização da Área de Superfície Periodontal Inflamada, ou PISA (Periodontal Inflamed Surface Area). PISA é um índice capaz de quantificar a área da superfície do epitélio da bolsa sangrante em milímetros quadrados, e os parâmetros clínicos periodontais como PS, NIC e SS auxiliam na sua mensuração e o seu resultado pode ser aproveitado como variável contínua na quantificação da inflamação dos tecidos periodontais. (Leira, Lancharro e Blanco, 2018; Nomura et. al., 2021; Ueda et. al., 2022)

Assim, para resultados mais detalhados e com maior confiabilidade no presente estudo, uma outra alternativa seria a realização do índice PISA em todos os pacientes, comparando os resultados obtidos desse índice com os resultados obtidos com a avaliação de parâmetros clínicos periodontais. Porém, esses mesmos autores (Leira, Lancharro e Blanco, 2018; Nomura et. al., 2021; Ueda et. al., 2022) alertam para as limitações deste índice, como a dificuldade para calculá-lo, sendo necessárias as medidas de PS e SS de 6 sítios por dente em todos os dentes, além de valores médios do comprimento e área de superfície de cada raiz dentária, sendo esse valor relativo entre indivíduos, resultando em viés no estudo, além de casos de hiperplasia gengival (muito comum em pacientes com doenças periodontais) também influenciarem no valor do PISA, subestimando o valor verdadeiro. Entretanto, como o PISA retrata a área de tecido periodontal com inflamação esse índice pode vir a ser bastante útil na avaliação da carga infecto-inflamatória da periodontite, tendo potencial para ser um parâmetro para pesquisas periodontais que correlacionem periodontite com condições sistêmicas.

Com relação à proteína total na presente pesquisa, foi observado que houve redução dos valores da concentração de proteína total ($\mu\text{g/mL}$) entre os tempos baseline e 45 dias nos grupos DP, DM+S, DM+DP e AR+DP, porém, essa diferença foi significativa apenas no grupo DP, enquanto houve aumento da concentração da PT nos grupos S e AR+S, mas esse

aumento não foi estatisticamente significativo, o que vai de encontro com o estudo de Lorenzo-Pouso et al (2018) que demonstra que o tratamento periodontal traz reduções significativas na concentração de proteína total nos pacientes. Outra observação feita foi que as concentrações de PT nos grupos sem periodontite foram menores do que nos grupos com periodontite, o que está de acordo com os estudos de Shaila, Pai e Shetty (2013), Kejriwal et. al. (2014) e Lorenzo-Pouso et. al. (2018), com exceção do grupo S no tempo de 45 dias, que teve seu valor aumentado após o baseline.

Além disso, Shaila, Pai e Shetty (2013), Lorenzo-Pouso et. al. (2018) e Al-Manei et. al. (2020) também concordam com o fato de que a concentração de proteína total na saliva é influenciada pelas proteínas secretadas na saliva glandular, pelo fluxo salivar e proteínas do fluido crevicular gengival, podendo, dessa forma, sofrer alterações de concentração pela forma de coleta da saliva, pois, no caso de saliva estimulada, quem age é o sistema nervoso parassimpático, resultando no aumento do fluxo salivar, enquanto a saliva não estimulada apresenta um fluxo menor, porém, mais relacionado à produção e síntese de proteínas. Consequentemente, existe diferença na análise da saliva estimulada e não estimulada, tendo em vista tanto os tipos de proteínas secretadas como suas concentrações, ou seja, fluxos maiores possuem menor concentração de proteínas quando comparados a fluxos menores. Essas afirmações estão de acordo com o presente estudo, tendo em vista que pacientes saudáveis possuíam maior fluxo de saliva (observação feita clinicamente, quando pacientes sem periodontite produziam saliva com velocidade superior aos pacientes com periodontite, bem como os pacientes sem comprometimento sistêmico também tiveram maior fluxo salivar quando comparados aos pacientes com DM ou AR).

Al-Manei et. al. (2020) procuraram justificar essas alterações relacionadas ao fluxo salivar ao elucidarem que, devido ao fluxo maior de saliva, a produção de proteína que deveria estar elevada acaba sendo camuflada pelo volume de água, bem como esse fluxo maior poderia acabar diluindo as proteínas e, consequentemente, reduzir suas concentrações. Além disso, deve-se levar em conta que existem variações de indivíduo para indivíduo no que concerne à produção de saliva, e isso pode ser influenciado pela idade, fatores internos e externos, como tabagismo, problemas de saúde, entre outros.

Sendo assim, tanto os autores citados como o presente estudo estão em desacordo com a pesquisa realizada por Justino et al (2017) que, apesar de concordar com a afirmação de que existem diferenças entre saliva estimulada e não estimulada, eles encontraram que, na saliva estimulada, fluxos salivares maiores levavam à maior secreção de proteína total. Por outro

lado, esses autores observaram que as concentrações de PT foram maiores quando a saliva foi estimulada, quando comparada com a saliva não estimulada, justificando que o estímulo das fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas levam ao aumento da secreção de proteínas salivares e aumento da concentração de compostos orgânicos. Os próprios autores afirmam que, quando a saliva é estimulada, a concentração dos compostos orgânicos aumenta devido à ativação das fibras nervosas simpáticas e parassimpáticas, o que acarreta no aumento dos níveis de secreção das proteínas salivares.

Já é conhecido o fato de que patógenos periodontais têm o potencial de desencadear respostas inflamatórias tendo como consequência o aumento nos níveis de proteína total e albumina na saliva (Shaila, Pai e Shetty, 2013). Levando isso em consideração, Shaila, Pai e Shetty (2013) ressaltam a importância do conhecimento de que proteína total, albumina e imunoglobulinas são potenciais fontes de energia para a *Treponema denticola* que, juntamente com *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, se encontram em maior abundância em indivíduos com periodontite. Dessa forma, a PT pode ser considerada um potencial biomarcador das doenças periodontais. Kejrival et. al. (2014) complementam enfatizando que as concentrações de PT são maiores em pacientes com doenças periodontais quando comparado a pacientes saudáveis provavelmente devido à ativação do sistema nervoso simpático pelo desenvolvimento do processo inflamatório com o objetivo de elevar a síntese e secreção de proteínas como forma de aumentar a capacidade de proteção da saliva frente a doenças.

Com relação ao teste salivar, houve melhora nos grupos DP, DM+DP, AR+S e AR+DP, enquanto houve piora nos grupos S e DM+S, porém, essa diferença não foi significativa. A justificativa encontrada para não haver diferença estatística nesses resultados foi a questão dos resultados do tratamento periodontal não terem atingido a expectativa, visto que, em teoria, o teste salivar teria sua variação de acordo com as alterações inflamatórias nos pacientes, decorrentes do TPB. Porém, visualmente, pôde-se observar que houve mudança de cor ao se depositar a saliva na solução de biureto e comparar com o controle positivo (caseína + biureto) como ilustrado pela Figura 2.

No presente estudo, tendo em vista todas as limitações explanadas até o momento, o valor absoluto do teste não teve capacidade discriminatória entre grupos. As prováveis justificativas abordadas até agora se conectam também nessa situação, talvez resultados mais precisos e dentro da expectativa tanto da pesquisa como dos artigos citados fossem obtidos com um tamanho amostral maior, ou pela inclusão de mais um dia de tratamento e acompanhamento

no delineamento do estudo, também ocorreram atrasos devido ao fechamento das clínicas no período mais grave da pandemia do COVID-19, limitando o tempo para realização das atividades da pesquisa com possíveis aprimoramentos no delineamento experimental e dificultando a captação de pacientes.

Ao se avaliar a correlação das diferenças obtidas com escore (teste salivar), sangramento à sondagem e índice de sangramento em grupos com e sem periodontite, foi possível concluir, nos grupos com periodontite (DP; DM+PD; AR+DP), que a diferença da variação do índice de sangramento marginal teve correlação com o teste salivar, ou seja, a variação do índice de sangramento marginal foi detectada pelo teste, isso pode explicar o porquê das mudanças visíveis de cor quando o teste foi aplicado clinicamente nos dois tempos do estudo. Já nos grupos sem periodontite (S; DM+S; AR+S), não houve diferença estatisticamente significativa em nenhuma das comparações, mas esse resultado já seria esperado de pacientes periodontalmente estáveis ou saudáveis. Esses mesmos resultados foram obtidos ao se comparar todos os grupos juntos, confirmando a correlação entre o IS e o teste salivar.

Apesar da limitada capacidade discriminatória apresentada pelos escores do teste salivar, tanto no baseline como no tempo de 45 dias após tratamento, este resultado ofereceu indicação semelhante ao sinal clínico de sangramento de margem gengival dos grupos avaliados. De certa forma, este comportamento confirma os achados de que a expressão de proteínas na saliva demonstra relação com o evento biológico de inflamação gengival (Shaila, Pai e Shetty, 2013; Lorenzo-Pouso et. al., 2018), mas não permite diferenciar o estágio da doença que envolve outros parâmetros periodontais mais invasivos como o nível de inserção clínica e a profundidade de sondagem.

Da mesma forma que o IS não permite diferenciar ou classificar a grau de doença, o índice de sangramento e o escore do kit apresentam uma informação visual de alteração da normalidade que pode ser monitorada para se avaliar a evolução do tratamento. Neste sentido, podemos destacar que, diferentemente dos métodos clínicos convencionais que exigem o uso da sonda periodontal, o kit proporciona uma avaliação rápida e não invasiva da inflamação gengival, podendo ser realizada com o paciente na cadeira e até mesmo pelo próprio paciente em sua casa.

6. Conclusão

6. CONCLUSÃO

Apesar das limitações e dificuldades enfrentadas ao longo do estudo, o teste salivar tem o potencial de auxiliar na personalização da abordagem terapêutica, como exame clínico complementar, podendo ser comparado ao teste de evidência de placa com corantes ou sangramento marginal, servindo, entre outros, como amostra visual para o paciente perceber sua evolução no tratamento, e validar a melhora dos parâmetros clínicos de forma quantitativa, com a vantagem de ser uma alternativa prática, de baixo custo e não invasiva para detecção da inflamação de margem gengival.

Referências

REFERÊNCIAS

- AKAIIN, F. A. et al. Hydroxyproline and Total Protein Levels in Gingiva and Gingival Crevicular Fluid in Patients With Juvenile, Rapidly Progressive, and Adult Periodontitis. *J Periodontol*, v. 64, p. 323-329, 1993.
- ALBERTI, K; ZIMMET, P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*, v. 15, n. 7, p. 539-553, 1998.
- AL-MANEI, K. et al. Effect of Chewing on the Expression of Salivary Protein Composition: A Systematic Review. *Proteomics - Clinical Applications*, v. 14, n. 3, 2020.
- ALMHÖJD, U. et al. Stimulated saliva composition in patients with cancer of the head and neck region. *BMC Oral Health*, v. 21, n. 1, 2021.
- BEZERRA, I. M. et al. Evaluation of knowledge about therapy full mouth disinfection by periodontists of the city João Pessoa-PB. *Braz J Periodontol*, v. 25, n. 1, p. 14-20, 2015.
- BIRKEDAL-HANSEN, H. et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, v. 4, n. 2, p. 197-250, 1993.
- BOSSHARDT, D. D. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000*, v. 0, p. 1-8, 2017.
- BUI, F. Q. et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed Journal*, v. 42, n. 1, p. 27–35, 2019.
- BHUPTANI, D. et al., Age and gender related changes of salivary total protein levels for forensic application. *Journal of Forensic Odont-Stomat*. v. 36, n. 1, 2018.
- BURGENER, B. et al. Biologic markers for odontogenic periradicular periodontitis. *J of End*, v. 36, n. 8, p. 1307–1310, 2010.
- CASTAGNOLA, M. et al. Salivary biomarkers and proteomics: Future diagnostic and clinical utilities. *Acta Otorhinolaryngologica Italica*, v. 37, n. 2, p. 94–101, 2017.
- CECCARELLI, F. et al. Periodontitis and rheumatoid arthritis: The same inflammatory mediators? *Mediators of Inflamm*, v. 2019, 2019.
- DEMARCO, F. F. et al. Multilevel analysis of the association between posterior restorations and gingival health in young adults: A population-based birth cohort. *J of Clin Periodontol*, v. 40, n. 12, p. 1126–1131, 2013.
- DEMMER RT et al. Periodontal disease, tooth loss and incident rheumatoid arthritis: results from the First National Health and Nutrition Examination Survey and its epidemiological followup study. *J of Clin Periodontol*; v. 38, n. 11, p. 998–1006, 2011.
- DE MOLON, R. S. et al. Linkage of periodontitis and rheumatoid arthritis: Current evidence and potential biological interactions. *Internat J of Mol Sciences*, v. 20, 2019.

DEMORUELLE, M. K. et al. Antibody Responses to Citrullinated and Noncitrullinated Antigens in the Sputum of Subjects With Rheumatoid Arthritis and Subjects at Risk for Development of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumat*, v. 70, n. 4, p. 516–527, 2018.

DONOS, N. The periodontal pocket. *Periodontol 2000*, v. 0, p. 1-9, 2017.

European Federation of Periodontology. *Perio and Diabetes*. 2018.

FISHER et al, M. F. Periodontal disease and its impact in Latin America. *Braz Oral Research*, v. 34, p. 1–9, 2019.

FUGGLE, N. R. et al. Hand to mouth: A systematic review and meta-analysis of the association between rheumatoid arthritis and periodontitis. *Frontiers in Immunology*, v. 7, n. 2, 2016.

GOBIN, R. et al. Periodontal diseases and the risk of metabolic syndrome: An updated systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrinology*, v. 11, p. 1035–1057, 2020.

GOMES, S. C. et al. Supragingival treatment as an aid to reduce subgingival needs: a 450-day investigation. *Braz oral Research*, v. 28, n. 1, 2014.

GRAZIANI, F. et al. A systematic review and meta-analysis of epidemiologic observational evidence on the effect of periodontitis on diabetes An update of the EFP-AAP review. *J of Clin Periodontol*, v. 45, n. 2, p. 167-187, 2018.

HAAS, A. N. et al. New tendencies in non-surgical periodontal therapy. *Braz Oral Research*, v. 35, n. 2, p. 1–18, 2021.

HAGIHARA, B. et al. Crystalline bacterial proteinase: III. Comparison of crystalline proteinase of bacillus subtilis with crystalline trypsin. *The J of Biochem*, v. 45, n. 5, p. 305-311, 1958.

HAJISHENGALLIS, G.; CHAVAKIS, T. Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities. *Nature Reviews Immunology*, v. 41, p. 426-440, 2021

HOLERS, V. M. et al. Rheumatoid arthritis and the mucosal origins hypothesis: protection turns to destruction. *Nature Reviews Rheumatology*, v. 14, p. 542-557, 2018.

HUEBSCHMANN AG, et al. Sex differences in the burden of type 2 diabetes and cardiovascular risk across the life course. *Diabetologia*, v. 62, n.10, p. 1761-1772, 2019.

INDIRA, M et al. Evaluation of salivary glucose, amylase, and total protein in Type 2 diabetes mellitus patients. *Indian J Dent Res*, v. 26, p. 271-275, 2015.

JUSTINO, A. B. et al. Effect of saliva collection methods and oral hygiene on salivary biomarkers. *Scand J of Clin and Lab Investigation*, v. 77, n. 6, p. 415–422, 2017.

KAUSHAL, S. et al. Effect of periodontal therapy on disease activity in patients of rheumatoid arthritis with chronic periodontitis. *J of Oral Biol and Craniof Research*, v. 9, n. 2, p. 128–132, 2019.

KEJRIWAL, S. Estimation of Levels of Salivary Mucin, Amylase and Total Protein in Gingivitis and Chronic Periodontitis Patients. *J of Clin and Diagn Research*, v. 8, n. 10, p. 56–60, 2014.

KHARLAMOVA, N. et al. Antibodies to *Porphyromonas gingivalis* Indicate Interaction between Oral Infection, Smoking, and Risk Genes in Rheumatoid Arthritis Etiology. *Arthritis and Rheumatology*, v. 68, n. 3, p. 604–613, 2016.

KINSLOW, J. D. et al. Elevated IgA Plasmablast Levels in Subjects at Risk of Developing Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatology*, v. 68, n. 10, p. 2372–2383, 2016.

KURGAN, S; KANTARCI, A. Molecular basis for immunohistochemical and inflammatory changes during progression of gingivitis to periodontitis. *Periodontol 2000*, v. 0, p. 1-17, 2017.

KURITA-OCHIAI, T.; YAMAMOTO, M. Periodontal pathogens and atherosclerosis: Implications of inflammation and oxidative modification of LDL. *BioMed Research International*, v. 2014, 2014.

LEE, J. H. et al. Association between periodontal disease and non-communicable diseases. *Medicine*, v. 96, n. 26, 2017.

LEIRA, Y.; MARTÍN-LANCHARRO, P.; BLANCO, J. Periodontal inflamed surface area and periodontal case definition classification. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 76, n. 3, p. 195–198, 3, 2018.

LINDHE, J., LANG, N. P. P. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral* - 6. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

LOOS, B. G.; NEEDLEMAN, I. Endpoints of active periodontal therapy. *J of Clin Periodontol*, v. 47, n. 22, p. 61–71, 2020.

LÓPEZ, N. J., GAMONAL, J. A., MARTINEZ, B., Repeated Metronidazole and Amoxicillin Treatment of Periodontitis. A Follow-Up Study. *J of Periodontol*, v. 71, n. 1, p. 79-89, 2000

LORENZO-POUSO, A. I. et al. Protein-Based Salivary Profiles as Novel Biomarkers for Oral Diseases. *Disease Markers*, v. 2018, 2018.

LUNDBERG K et al. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nature reviews Rheumatology*, v. 6, n. 12, p. 727–730, 2010.

MARESZ, K. J. et al. *Porphyromonas gingivalis* Facilitates the Development and Progression of Destructive Arthritis through Its Unique Bacterial Peptidylarginine Deiminase (PAD). *PLoS Pathogens*, v. 9, n. 9, 2013.

MEALEY B.; OCAMPO G. Diabetes mellitus and periodontal disease. *Periodontol* 2000, v. 44, p. 127-153, 2007.

MOEHLECKE ISER, B. P. et al. Prediabetes and intermediate hyperglycemia prevalence in adults and associated factors, health national survey. *Ciencia e Saude Coletiva*, v. 26, n. 2, p. 531–540, 2021.

MOMBELLI, A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. *Periodontol* 2000, v.76, p. 85-86, 2018.

NAGAYOSHI, B. A. et al. Rheumatoid arthritis: profile of patients and burden of caregivers. *Rev Bras de Geriatria e Gerontologia*, v. 21, n. 1, p. 44–52, 2018.

NOMURA, Y. et al. Estimation of the periodontal inflamed surface area by simple oral examination. *J of Clin Medicine*, v. 10, n. 4, p. 1–11, 2021.

PERSSON, G. R. Rheumatoid arthritis and periodontitis - inflammatory and infectious connections. Review of the literature. *J of Oral Microbiology*, v. 4, 2012.

PICERNO V et al. One year in review: the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, v. 33, n. 4, p. 551–558, 2015.

POLAK, D.; SHAPIRA, L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J of Clin Periodontol*, v. 45, n. 2, p. 150–166, 2018.

PRESHAW, P. M.; BISSETT, S. M. Periodontitis and diabetes. *British Dental Journal*, v. 227, n. 7, p. 577–584, 2019.

ROMANDINI, M. et al. Periodontitis, Edentulism, and Risk of Mortality: A Systematic Review with Meta-analyses. *J of Dental Research*, v. 100, n. 1, p. 37-49, 2020.

SANTOS, B. et al. Local application of statins in the treatment of experimental periodontal disease in rats. *J of Applied Oral Science*, v. 25, n. 2, p. 168-176, 2017.

SANZ, M. ET AL. Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures: consensus report of group 4 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J of Clin Periodontol*. v. 42, n. 16, p. 214-220, 2015.

SANZ, M. et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 137, p. 231–241, 2018.

^aSANZ, M. et al. Periodontitis and Cardiovascular Diseases. Consensus Report. *J of Clin Periodontol*, v. 47, n. 3, p. 268-288, 2020.

^bSANZ, M. et al. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J of Clin Periodontol*, v. 47, n. 22, p. 4–60, 2020.

SÉEGUIER, S; GODEAU, G; BROUSSE, N. Collagen fibers and inflammatory cells in healthy and diseased human gingival tissues: a comparative and quantitative study by immunohistochemistry and automated image analysis. *J Periodontol*, v. 71, n. 7, p. 1079-85, 2000.

SHAILA, M.; PAI, G.; SHETTY, P. Salivary protein concentration, buffer capacity and pH estimation: A comparative study among young and elderly subjects, both normal and with gingivitis and periodontitis. *J Indian Soc Periodontol*, v. 17, n. 1, p. 42-46, 2013.

SINGH, J. A. et al. 2015 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatology*, v. 68, n. 1, p. 1–26, 2016.

SMIT, M. et al. Periodontitis in established rheumatoid arthritis patients: a cross-sectional clinical, microbiological and serological study. *Arthritis Research & Therapy*, n. 14, v. 5, 2012.

SOUSA, S. C. A. et al. Relação entre doenças sistêmicas e manifestações periodontais: um enfoque em grupos de risco da COVID-19. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 11, p. 89109-89124, 2020.

SOUZA, D. G. et al. Análise do grau de conhecimento em relação aos instrumentais utilizados na disciplina de periodontia dos alunos do último período de faculdades de odontologia do Rio de Janeiro. *Braz J Periodontol*, v. 22, n. 1, p. 94-99, 2012.

SUN, K. T. et al. The association between Type 1 diabetes mellitus and periodontal diseases. *Journal of the Formosan Medical Association*, v. 118, n. 6, p. 1047–1054, 2019.

STOPA, S. R. et al. Prevalence of arterial hypertension, diabetes mellitus, and adherence to behavioral measures in the city of São Paulo, Brazil, 2003-2015. *Cadernos de Saude Publica*, v. 34, n. 10, 2018.

STRATTON, I. M. et al. Papers Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*, v. 321, n. 7258, p. 405-412, 2000

TABA, M. et al. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, v. 49, n. 3, p. 551-571, 2005.

THONE-MUHLING, M. et al. Comparison of two full-mouth approaches in the treatment of peri-implant mucositis: a pilot study. *Clin Oral Implants Res*, v. 21, n. 5, p. 504-12, 2010.

TONETTI, M. S. et al. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J of Clin Periodontol*. v. 42, n. 16, p. 5-11, 2015.

TONETTI M. S., GREENWELL H., KORNMAN K. S. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. v. 1, n. 89, p. 12, 2018

TROXLER, R. F. et al. Molecular characterization of a major high molecular weight mucin from human sublingual gland. *Glycobiology*, v. 7, n. 7, p. 965-973, 1997.

UEDA, H. et al. Development of a Japanese Version of the Formula for Calculating Periodontal Inflamed Surface Area: A Simulation Study. *Intern J of Environ Research and Public Health*, v. 19, n. 16, 2022.

WEN, S. et al. ¿La periodontitis crónica modifica la morbilidad de la artritis reumatoide?: Aspectos clínicos y moleculares. Una revisión sistemática. *Revista médica de Chile*, v. 147, n. 6, p. 762–775, 2019.

World Health Organization (WHO). Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus, 2011.

Ximénez-Fyvie L. A. et al. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*. v. 27, n. 9, p. 637-47, 2000

ZARPELLON, R. S. M.; DIAS, M. M.; SKARE, T. L. Perfil nutricional na artrite reumatoide. *Rev Bras de Reumatologia*, v. 54, n. 1, p. 68–72, 2014.

ZHANG, C. Z. et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Intern J of Oral Science*, v. 8, n. 3, p. 133–137, 2016.

Appendice

APÊNDICE A - Termo De Consentimento Livre Esclarecido (TCLE)



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Os pesquisadores Denise Souza de Freitas, Glauce Lunardelli Trevisan, Karine Figueredo da Costa, e Nathalya Maria Vilela Moura, devidamente assistidos pelo seu orientador Prof. Dr. Mário Taba Júnior, responsáveis pela pesquisa, gostaríamos de convidar você, Sr(a) _____, portador do documento _____, a participar da pesquisa intitulada "**Proteína Total na Saliva como Meio de Diagnóstico Periodontal em Pacientes com Comorbidades**" que tem como objetivo desenvolver um teste rápido de diagnóstico de doença na gengiva e no osso que sustenta o dente através da saliva. Para isso, estamos desenvolvendo um estudo juntamente com o Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP) que será feito da seguinte forma: explicação sobre os objetivos da pesquisa, assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, realização dos procedimentos clínicos e coleta da saliva, acompanhamento pós-operatório e reavaliação clínica.

Por essa razão, convidamos você a participar da pesquisa. A sua participação consistirá em comparecer à todas as sessões clínicas para a realização dos procedimentos planejados que consistirão em:

- 1) exame clínico, dos dentes, da gengiva e do osso que sustenta o dente no início e 45 dias após a conclusão do tratamento;
- 2) tratamento periodontal básico: raspagem e alisamento da raiz do dente;
- 3) coleta de saliva de 5 ml de saliva (aproximadamente uma colher de chá) em dois momentos: antes do início do tratamento e 30 dias após a conclusão do tratamento das gengivas e osso ao redor do dente; a saliva coletada será acondicionada em reservatório individualizado específico para este fim e submetida a análise em seguida.

O questionário inicial poderá ser um pouco demorado para ser totalmente respondido e todas as informações fornecidas por você serão mantidas em segredo. O tratamento da gengiva e a coleta da saliva poderão gerar algum desconforto que serão reduzidos pela execução destes pelos pesquisadores responsáveis devidamente treinados e capacitados para realizar esse tratamento. Todos os cuidados antes, durante e após os atendimentos serão tomados objetivando a execução segura dos procedimentos e reduzindo possíveis desconfortos. No caso de existirem quaisquer alterações nos exames da sua saliva que necessitem de tratamento médico, você será informado e orientado.

Nos casos em que os procedimentos executados no estudo tragam algum desconforto ou sejam detectadas alterações que necessitem de assistência imediata ou tardia, nós, pesquisadores participantes do estudo, seremos os responsáveis por prestar a assistência e orientação necessária.

Os benefícios esperados com este estudo são no sentido de oferecer todo o tratamento até que a gengiva e o osso ao redor do dente estejam saudáveis com acompanhamento a cada seis meses. Caso necessário, você será encaminhado a outros setores da Clínica para tratamento das demais necessidades odontológicas.

A amostra de saliva que você fornecer será coletada, depositada, e armazenada para a utilização



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

na pesquisa atual e em futura pesquisa.

Nesse caso, faça a opção de:

() requerer a necessidade de novo consentimento a cada pesquisa futura;

() manifestar dispensa de novo consentimento a cada pesquisa futura.

Estou ciente que eu, o sujeito da pesquisa, ou representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, posso retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo sujeito da pesquisa ou seu representante legal.

Os dados pessoais, resultados de exames laboratoriais e fotografias serão confidenciais e seu nome não aparecerá em fotografias ou apresentações, inclusive quando os dados forem apresentados.

A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Você não sofrerá qualquer prejuízo se não aceitar ou caso desista após ter iniciado os exames iniciais, tratamento da gengiva ou coleta da saliva.

Se tiver alguma dúvida a respeito dos objetivos da pesquisa e/ou métodos que serão utilizados, pode procurar um dos pesquisadores no seguinte endereço: Av. do Café, s/n, Ribeirão Preto - SP, telefone (16) 3633-1876 ou ainda pelo telefone pessoal abaixo descrito.

Se desejar obter informações sobre os seus direitos e os aspectos éticos envolvidos na pesquisa, ou ainda relatar situações irregulares ou que lhe causem algum prejuízo durante a sua participação no estudo poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto- FORP- USP no seguinte endereço: Av. do Café, s/n, Ribeirão Preto - SP, telefone (16) 3315-0493 de 8h às 12h, de segunda a sexta-feira (exceto feriados e pontos facultativos).

Finalmente, tendo compreendido tudo o que foi informado sobre a sua participação e sobre os seus direitos, suas responsabilidades, além dos riscos e benefícios desta pesquisa, e caso concorde em participar dessa pesquisa de livre e espontânea vontade, favor assinar no campo específico abaixo dando o consentimento para a realização dos procedimentos da pesquisa. Este termo é confeccionado em duas vias, sendo que uma via ficará com você.

Dados dos pesquisadores responsáveis:

- Dr. Mario Taba Junior

CPF: 07056240801, IDENTIDADE/ÓRGÃO EXP.: 18879367/SSP-SP.

Número USP: 1641327

Nome: Mario Taba Junior

Endereço profissional/telefone/e-mail: Av. do Café - Subsetor Oeste - 11 (N-11), Ribeirão Preto - SP, 14040-904; Telefone: 16 3315-3980 ; E-mail: mtaba@forp.usp.br

- Denise Souza de Freitas

CPF:094.627.116-07, IDENTIDADE/ÓRGÃOEXP.: 16.116.137

Número USP: 9847366

Nome: Denise Souza de Freitas

Endereço profissional/telefone/e-mail: Av. do Café - Subsetor Oeste - 11 (N-11), Ribeirão Preto - SP, 14040-904; Telefone: 35 9902-2317; E-mail: denise.souza.freitas@usp.br



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

- Glauce Lunardelli Trevisan

CPF: 137012798-70, IDENTIDADE/ÓRGÃOEXP.: 29493285-9-SSP/SP

Número USP: 3009975

Nome: Glauce Lunardelli Trevisan

Endereço profissional/telefone/e-mail: Av. do Café - Subsetor Oeste - 11 (N-11), Ribeirão Preto - SP, 14040-904; Telefone: 16 98112-7146; E-mail: gltrevisa@gmail.com

- Karine Figueredo da Costa

CPF: 047017249-55, IDENTIDADE/ÓRGÃOEXP.: 9501508-5-SSP-PR

Número USP: 10544785

Nome: Karine Figueredo da Costa

Endereço profissional/telefone/e-mail: Av. do Café - Subsetor Oeste - 11 (N-11), Ribeirão Preto - SP, 14040-904; Telefone: 45 99937-2627; E-mail: karinefigueredo@usp.br

- Pós-graduanda Nathalya Maria Vilela Moura

CPF : 058.537.165-22, IDENTIDADE: 14.615.540-80 /ÓRGÃO EXP.: SSP-BA ,

Número USP: 11860380

Nome: Nathalya Maria Vilela Moura

Endereço profissional/telefone/e-mail: Av. do Café - Subsetor Oeste - 11 (N-11), Ribeirão Preto - SP, 14040-904, Telefone: (79) 99990-7575, CEP: 14.050-230, Email: nathalya_vilela@usp.br

ATENÇÃO: A participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em casos de dúvida quanto aos seus direitos, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de São Paulo.

CEP/ - DPE

Avenida do Café, s/n, Bairro Monte Alegre 14040 - 904

Ribeirão Preto/SP

Telefone: (16)3315-0493

E-mail: cep@forp.usp.br

Fax: (16)3315-4102

Horário de atendimento: das 13h às 17h, de segunda a sexta-feira (exceto feriados e pontos facultativos)

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 20__.

ASSINATURA DO VOLUNTÁRIO



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Denise Souza de Freitas

GRADUANDA ORIENTADA
 Denise Souza de Freitas

Glauce Lunardelli Trevisan

PÓS-GRADUANDA ORIENTADA
 Glauce Lunardelli Trevisan

Karine Figueredo da Costa

PÓS-GRADUANDA ORIENTADA
 Karine Figueredo da Costa

Nathalya Maria Vilela Moura



























PÓS-GRADUANDA ORIENTADA
 Nathalya Maria Vilela Moura

MTJ

ASSINATURA DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL
 Dr. Mario Taba Junior

Anexos


ANEXO A - Certificado de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa


DETALHAR PROJETO DE PESQUISA																																																			
<p>DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA</p> <p>Título da Pesquisa: PROTEÍNA TOTAL NA SALIVA COMO MEIO DE DIAGNÓSTICO PERIODONTAL EM PACIENTES COM COMORBIDADES Pesquisador Responsável: Mario Taba Jr Área Temática: Versão: 3 CAAE: 42335820.6.0000.5419 Submetido em: 11/04/2022 Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo Situação da Versão do Projeto: Aprovado Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável Patrocinador Principal: Financiamento Próprio</p> <div style="text-align: right;">  </div> <p style="text-align: right;">Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1930083</p>																																																			
<p>LISTA DE PESQUISADORES DO PROJETO</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>CPF/Documento ^</th> <th>Nome ^</th> <th>Atribuição</th> <th>E-mail ^</th> <th>Currículo</th> <th>Tipo de Análise ^</th> <th>Ação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>070.562.408-01</td> <td>Mario Taba Jr</td> <td>Contato Científico, Contato Público, Pesquisador principal</td> <td>mtaba@usp.br</td> <td>Lattes CV</td> <td>PROPONENTE</td> <td></td> </tr> <tr> <td>137.012.798-70</td> <td>Glauce Lunardelli Trevisan</td> <td>Equipe do Projeto</td> <td>gltrevisa@gmail.com</td> <td>Lattes CV</td> <td>PROPONENTE</td> <td></td> </tr> <tr> <td>047.017.249-55</td> <td>KARINE FIGUEREDO DA COSTA</td> <td>Equipe do Projeto</td> <td>karinefigueredo@outlook.com</td> <td>Lattes CV</td> <td>PROPONENTE</td> <td></td> </tr> <tr> <td>058.537.165-22</td> <td>NATHALYA MARIA VILELA MOURA</td> <td>Equipe do Projeto</td> <td>nathalyavilela50@gmail.com</td> <td>Lattes CV</td> <td>PROPONENTE</td> <td></td> </tr> <tr> <td>094.627.116-07</td> <td>DENISE SOUZA DE FREITAS</td> <td>Equipe do Projeto</td> <td>denise.souza.freitas@usp.br</td> <td>Lattes CV</td> <td>PROPONENTE</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>										CPF/Documento ^	Nome ^	Atribuição	E-mail ^	Currículo	Tipo de Análise ^	Ação	070.562.408-01	Mario Taba Jr	Contato Científico, Contato Público, Pesquisador principal	mtaba@usp.br	Lattes CV	PROPONENTE		137.012.798-70	Glauce Lunardelli Trevisan	Equipe do Projeto	gltrevisa@gmail.com	Lattes CV	PROPONENTE		047.017.249-55	KARINE FIGUEREDO DA COSTA	Equipe do Projeto	karinefigueredo@outlook.com	Lattes CV	PROPONENTE		058.537.165-22	NATHALYA MARIA VILELA MOURA	Equipe do Projeto	nathalyavilela50@gmail.com	Lattes CV	PROPONENTE		094.627.116-07	DENISE SOUZA DE FREITAS	Equipe do Projeto	denise.souza.freitas@usp.br	Lattes CV	PROPONENTE	
CPF/Documento ^	Nome ^	Atribuição	E-mail ^	Currículo	Tipo de Análise ^	Ação																																													
070.562.408-01	Mario Taba Jr	Contato Científico, Contato Público, Pesquisador principal	mtaba@usp.br	Lattes CV	PROPONENTE																																														
137.012.798-70	Glauce Lunardelli Trevisan	Equipe do Projeto	gltrevisa@gmail.com	Lattes CV	PROPONENTE																																														
047.017.249-55	KARINE FIGUEREDO DA COSTA	Equipe do Projeto	karinefigueredo@outlook.com	Lattes CV	PROPONENTE																																														
058.537.165-22	NATHALYA MARIA VILELA MOURA	Equipe do Projeto	nathalyavilela50@gmail.com	Lattes CV	PROPONENTE																																														
094.627.116-07	DENISE SOUZA DE FREITAS	Equipe do Projeto	denise.souza.freitas@usp.br	Lattes CV	PROPONENTE																																														
<p>LISTA DE COMITÊS DE ÉTICA DO PROJETO</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Comitê de Ética ^</th> <th>Tipo de Vínculo ^</th> <th>Ação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP</td> <td>COORDENADOR</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>										Comitê de Ética ^	Tipo de Vínculo ^	Ação	5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP	COORDENADOR																																					
Comitê de Ética ^	Tipo de Vínculo ^	Ação																																																	
5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP	COORDENADOR																																																		
<p>LISTA DE INSTITUIÇÕES DO PROJETO</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>CNPJ da Instituição ^</th> <th>Razão Social ^</th> <th>Tipo de Instituição ^</th> <th>Comitê de Ética ^</th> <th>Ação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>63.025.530/0086-01</td> <td>Universidade de Sao Paulo</td> <td>PROPONENTE</td> <td>5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>										CNPJ da Instituição ^	Razão Social ^	Tipo de Instituição ^	Comitê de Ética ^	Ação	63.025.530/0086-01	Universidade de Sao Paulo	PROPONENTE	5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP																																	
CNPJ da Instituição ^	Razão Social ^	Tipo de Instituição ^	Comitê de Ética ^	Ação																																															
63.025.530/0086-01	Universidade de Sao Paulo	PROPONENTE	5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP																																																
<p>LISTA DE PROJETOS RELACIONADOS</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo ^</th> <th>CAAE ^</th> <th>Versão ^</th> <th>Pesquisador Responsável ^</th> <th>Comitê de Ética ^</th> <th>Instituição ^</th> <th>Origem ^</th> <th>Última Avaliação ^</th> <th>Situação ^</th> <th>Ação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>P</td> <td>42335820.6.0000.5419</td> <td>3</td> <td>MARIO TABA JUNIOR</td> <td>5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP</td> <td>Universidade de Sao Paulo</td> <td>PO</td> <td>E2</td> <td>Aprovado</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>										Tipo ^	CAAE ^	Versão ^	Pesquisador Responsável ^	Comitê de Ética ^	Instituição ^	Origem ^	Última Avaliação ^	Situação ^	Ação	P	42335820.6.0000.5419	3	MARIO TABA JUNIOR	5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP	Universidade de Sao Paulo	PO	E2	Aprovado																							
Tipo ^	CAAE ^	Versão ^	Pesquisador Responsável ^	Comitê de Ética ^	Instituição ^	Origem ^	Última Avaliação ^	Situação ^	Ação																																										
P	42335820.6.0000.5419	3	MARIO TABA JUNIOR	5419 - USP - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP - FORP/USP	Universidade de Sao Paulo	PO	E2	Aprovado																																											


ANEXO B - Artigo científico submetido para publicação no periódico Brazilian Oral Research

12/7/22, 9:17 PM

ScholarOne Manuscripts

 **Brazilian Oral Research**

 **Home**

 **Author**

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to

Brazilian Oral Research

Manuscript ID

BOR-2022-0731

Title

Evaluation of a Chair-side Test for Saliva Total Protein in Periodontal Patients with Comorbidities

Authors

Moura, Nathalya
Figuereado da Costa, Karine
Freitas, Denise
Trevisan, Glauce
Tavares, Milla
Oliveira, Fabiola
Messora, Michel
Souza, Sérgio
Taba, Mario

Date Submitted

07-Dec-2022

[Author Dashboard](#)