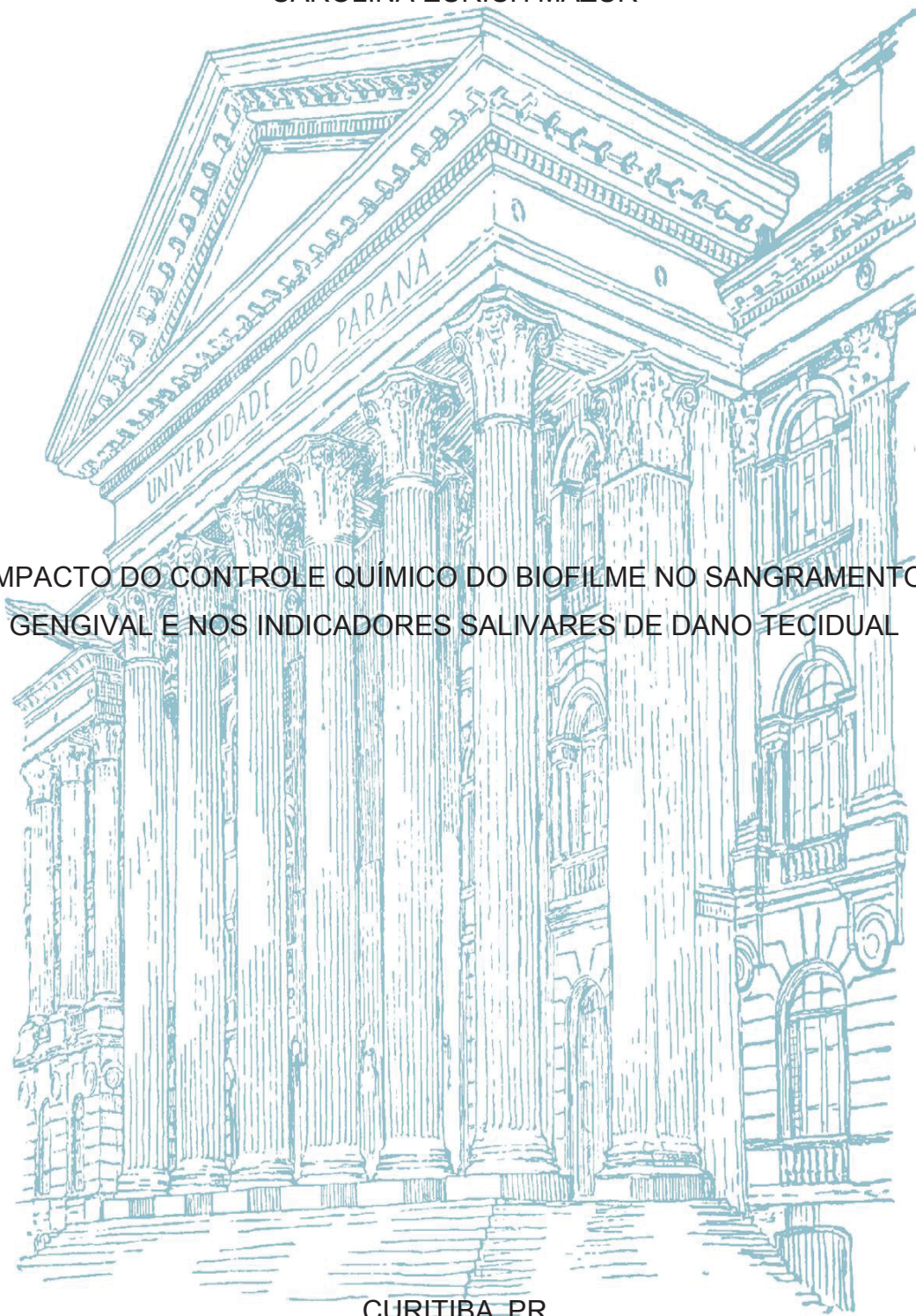


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA EURICH MAZUR

IMPACTO DO CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME NO SANGRAMENTO
GENGIVAL E NOS INDICADORES SALIVARES DE DANO TECIDUAL



CURITIBA, PR

2019

CAROLINA EURICH MAZUR

IMPACTO DO CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME NO SANGRAMENTO
GENGIVAL E NOS INDICADORES SALIVARES DE DANO TECIDUAL

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. José Miguel Amenábar.
Coorientadora: Profa. Dra. Geisla Soares.

CURITIBA

2019

Mazur, Carolina Eurich

Impacto do controle químico do biofilme no sangramento gengival e nos indicadores salivares de dano tecidual [recurso eletrônico] / Carolina Eurich Mazur – Curitiba, 2019.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2019.

Orientador: Professor Dr. José Miguel Amenábar

Coorientadora: Professora Dra. Geisla Mary Silva Soares

1. Saliva. 2. Doenças periodontais. 3. Lactato desidrogenase. 4. Fosfatase alcalina. 5. Ácido úrico. I. Amenábar, José Miguel. II. Soares, Geisla Mary Silva. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.632

TERMO DE APROVAÇÃO

CAROLINA EURICH MAZUR

IMPACTO DO CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME NO SANGRAMENTO GENGIVAL E NOS INDICADORES SALIVARES DE DANO TECIDUAL

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.



Prof. Dr. José Miguel Amenábar

Orientador – Departamento de Estomatologia, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



Profa. Dra. Reila Taina Mendes

Departamento de Estomatologia, UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ



Dra. Roberta Targa Stramandinoli Zanicotti

Hospital Erasto Gaertner

Curitiba, 29 de julho de 2019.

Dedico este trabalho à minha base formadora: Mãe Celina, Pai Basílio e minha Irmã Caryna, com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por me acompanhar em todos os momentos dessa jornada, me fortalecer e me guiar.

Jamais conseguiria chegar até aqui se não tivesse nascido em um berço de amor, fé e determinação. À minha família: minha Mãe Celina Eurich, que sempre me incentivou a seguir o caminho dos estudos, mesmo sabendo que a consequência seria a distância e a saudade. Me ensinou a ser livre, lutar por aquilo que eu acredito e não me deixou desistir dos meus sonhos. Meu Pai Basílio Mazur, por todo o apoio nos dias difíceis, por me ensinar sobre paciência, humildade e valorização das simplicidades da vida. Minha Irmã e primeira mestre Caryna Eurich Mazur, um exemplo de ética e bondade no meio acadêmico, a nossa Doutora com Doutorado, a entusiasta da família. Não há palavras que possam descrever o quanto foi importante nessa trajetória. Meu cunhado Emanuel da Costa Luz, por toda parceria e risadas desprendidas em meio a tantos momentos de tensão, além do suporte técnico para que eu pudesse aperfeiçoar meu estudo.

Ao meu Orientador Professor José Miguel Amenábar, por todas as horas de aprendizado sobre odontologia, docência, pesquisa e vida. Serei eternamente grata por confiar em mim, na minha capacidade e me permitir desenvolver tantas habilidades durante esses quatro anos dentro da Universidade Federal do Paraná.

À minha Coorientadora, Professora Geisla Soares, pela paciência com essa mestranda ansiosa, pelo conhecimento, tanto na área de periodontia quanto em pesquisa científica. Sou muito grata por todos os ensinamentos, conselhos, correções e exemplo de conduta, obrigada por todo o acolhimento!

Aos meus amigos e amigas que me apoiaram em todas as decisões e me acolheram quando o meu chão parecia não ser tão sólido. Agradeço à Marina Krys, Diego Gomes, Bianca Salvador, Magdalena Torres, Edimar Oliveira, Rafael Zanzan, Caio Cesar da Silva, Eduardo Chiarani, Jéssica Cuffa, Bruna Colombo, Ivania Beleti, Fernanda Vieira, Aline Socottini e Keila Zampiron.

Às irmãs que encontrei pelo caminho, tive a oportunidade de dividir moradia e os pesos do cotidiano: Cláudia Morales, Milene Furquim, Amanda Castro e Joyce Santos, em especial Camila Furquim, por me acompanhar em todas as fases da minha

vida em Curitiba, por dividir comigo a rotina, por ser meu ombro amigo nos piores dias e me ajudar a olhar as adversidades como ferramentas de superação.

Aos meus colegas da turma de mestrado pela parceria e aprendizado nesses dois anos.

Às minhas colegas Natalie Temporão e Tatiane Rolim por dividirem comigo conversas, aflições e anseios durante os oito meses de avaliações clínicas.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPR, por terem contribuído para o meu crescimento na docência e pesquisa.

Aos professores de estomatologia: Professor Cassius Torres-Pereira e Professora Juliana Schussel por me acolher e ampliar a visão clínica e acadêmica da estomatologia.

À Dra Roberta Stramandinoli Zanicotti por todo o conhecimento a mim repassado, pelas oportunidades, pela motivação diária. Obrigada pelo exemplo de luta, garra e doação ao próximo, és fonte de inspiração.

Ao curso de Farmácia da UFPR e Professora Aline Borsato Hauser por colaborar na análise das amostras, bem como repassar seus conhecimentos e experiência em pesquisa laboratorial.

Aos funcionários do curso de Odontologia da UFPR pela amizade, companheirismo e paciência comigo nesses dois anos.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoa do Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

A todos os cidadãos brasileiros, que por meio do pagamento de seus impostos, permitiram que eu concluísse meus estudos com bolsa em uma instituição pública, gratuita e de qualidade.

Aos pacientes que colaboraram significativamente para que pudéssemos concretizar nosso projeto de pesquisa.

À Universidade Paranaense, pela minha formação como Cirurgiã-dentista e incentivo na prática em docência. À Professora Cíntia Alferes Araújo, Professora Ana Carolina Zaze, Professor Cesar Zaze e Professor Eduardo Pfau por me incentivarem a seguir o caminho da pesquisa, da docência e me apoiarem em minhas decisões.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Paraná, por esses quatro anos de intenso aprendizado. Nessa instituição tive a oportunidade de me aprimorar, tanto no aspecto profissional quanto humano.

“Existe uma vitalidade, uma força de vida, uma energia, um despertar, que é traduzido em ação através de você, e porque só existe um de você em todos os tempos, essa expressão é única.”

(MARTHA GRAHAM)

RESUMO

A saliva é fonte de diferentes moléculas que podem refletir condições fisiológicas ou patológicas do organismo. Estas moléculas podem ser denominadas de indicadores biológicos ou biomarcadores. A lactato desidrogenase (LDH), a fosfatase alcalina (FAL) e o ácido úrico (AU) tem sido propostos como biomarcadores de diagnóstico, evolução e monitoramento terapêutico em diferentes doenças bucais, como por exemplo câncer bucal e doenças periodontais. No entanto, quando estas doenças estão presentes concomitantemente, o uso destes biomarcadores fica limitado. Uma alternativa viável é estudar o comportamento de indicadores salivares em indivíduos que não apresentam lesões bucais, após o controle da inflamação proveniente exclusivamente dos tecidos periodontais. O objetivo desse estudo foi avaliar o Índice de Sangramento à Sondagem (ISS) e as concentrações de LDH, FAL e AU salivares em indivíduos com doenças periodontais após 3, 5 e 7 dias do uso solução de gluconato de clorexidina a 0,12% sem álcool. Foram avaliados 36 indivíduos sistemicamente saudáveis de ambos os sexos, com idade entre 18 e 70 anos e no mínimo 20 dentes em boca. Foram realizados exame clínico periodontal e coleta de saliva não estimulada. Após a coleta de dados, os pacientes foram instruídos a bochechar 15 ml da solução por um minuto a cada 12 horas durante 7 dias. Após 3, 5 e 7 dias de uso da solução foi reavaliado o ISS e realizada nova coleta de saliva. As concentrações de LDH, FAL e AU salivar foram mensuradas por meio de espectrofotometria. A média de idade dos participantes foi de 40,9 (\pm 13,5) anos, sendo que 24 (66,7%) eram mulheres. O ISS inicial em indivíduos com gengivite foi 25% (mín:13 máx: 61), enquanto que nos participantes com periodontite de 38,9% (mín: 11 máx: 67). Todos os participantes apresentaram diminuição significativa do ISS após 3, 5 e 7 dias ($p < 0,05$). Em relação aos componentes salivares, a concentração de LDH e FAL permaneceram semelhantes durante todo o período de avaliação. Já a concentração de AU teve aumentou em todos os tempos analisados em comparação ao tempo inicial nos participantes com periodontite, com média inicial de 3,8 mg/dL (\pm 1,2); 4,7 mg/dL (\pm 1,3) após 3 dias; 4,5 mg/dL (\pm 1,2) após 5 dias, e 4,7 mg/dL (\pm 1,3) após 7 dias. Os resultados deste estudo sugerem que o controle químico do biofilme reduz o ISS a partir do terceiro dia em todos os indivíduos, enquanto que a concentração de AU aumenta somente em indivíduos com periodontite. Tanto a

concentração de LDH quanto a de FAL permaneceram constantes, sugerindo que não são influenciadas pela presença de doenças periodontais.

Palavras-chave: Saliva. Doenças periodontais. Lactato Desidrogenase. Fosfatase Alcalina. Ácido úrico.

ABSTRACT

Saliva is a source of different molecules that can reflect body physiological or pathological conditions. Those molecules are called biological indicators or biomarkers. Lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) and uric acid (UA) have been proposed as biomarkers for diagnosis, evolution and therapeutic screening in several oral diseases, such as oral cancer and periodontal diseases. However, when these diseases are present together, the biomarkers' use is limited. A viable alternative is to study the behavior of salivary indicators in individuals without oral lesions, after the control of the inflammation exclusively from periodontal tissues. The aim of this study was to evaluate the Bleeding on Probing Index (BOP) and salivary LDH, ALP, and UA concentrations in individuals with periodontal disease after 3, 5, and 7 days of use of 0.12% chlorhexidine gluconate solution without alcohol. Thirty-six healthy systemic individuals aged between 18 and 70 years, with at least 20 teeth in the mouth. A periodontal clinical examination and collected non-stimulated total saliva from each participant were performed. Then, each person was instructed to rinse 15 ml of mouthwash for one minute, every 12 hours, for 7 days. New evaluations of BOP and new collection of non-stimulated total saliva were performed at 3, 5 and 7 days. Salivary LDH, ALP and UA concentrations were measured by spectrophotometry. The participants' mean age was 40.9 (\pm 13.5) years, and 24 (66.7%) were women. The initial BOP among the participants with gingivitis was 25% (min:13 max: 61), while in periodontitis was 38.9% (min: 11 max: 67). All individuals presented a decrease in BOP after 3, 5 and 7 days ($p < 0.05$). Regarding the salivary components, the median concentration of LDH and ALP remained similar throughout the evaluation period. On the other hand, the UA had a significant increase of its concentration during the study only among the participants with periodontitis at all times compared to the initial time, with initial mean of 3.8 mg / dL (\pm 1.2); 4.7 mg / dL (\pm 1.3) after 3 days; 4.5 mg / dL (\pm 1.2) after 5 days, and 4.7 mg / dL (\pm 1.3) after 7 days. The decrease of BOP seems to alter the salivary concentration of UA in individuals with periodontitis, whereas salivary concentrations of LDH and ALP remain similar. These results suggest that biofilm chemical control decreases BOP from the third day in all individuals, while UA concentration increases only in individuals with periodontitis. Both LDH and ALP

concentrations remained constant, suggesting that they are not influenced by the presence of periodontal diseases.

Keywords: Saliva. Periodontal Diseases. Lactate Dehydrogenase. Alkaline Phosphatase. Uric Acid.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – EXPRESSÃO DA ATIVIDADE DE FOSFATASE ALCALINA SALIVAR DURANTE OS DIAS DE AVALIAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM GENGIVITE E PERIODONTITE. 34
- FIGURA 2 – EXPRESSÃO DA ATIVIDADE DA LACTATO DESIDROGENASE SALIVAR DURANTE OS DIAS DE AVALIAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM GENGIVITE E PERIODONTITE. 35
- FIGURA 3 – EXPRESSÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO ÚRICO SALIVAR DURANTE OS DIAS DE AVALIAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM GENGIVITE E PERIODONTITE. 35
- FIGURA 4 – PERCENTUAL DO ÍNDICE DE SANGRAMENTO À SONDAGEM DURANTE OS DIAS DE AVALIAÇÃO EM INDIVÍDUOS COM GENGIVITE E PERIODONTITE. 36
- FIGURA 5 – GRÁFICO DE CORRELAÇÃO ENTRE EXPRESSÃO DO ÁCIDO ÚRICO E O SANGRAMENTO À SONDAGEM 36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – EXEMPLOS DE INDICADORES RELATADOS NA LITERATURA COMO DE DANO TECIDUAL EM DOENÇA PERIODONTAL E CARCINOGENESE ORAL.	18
TABELA 1 – CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.	31
TABELA 2 – MÉDIA E MEDIANAS (MIN-MAX) DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS POR DIAGNÓSTICO DE DOENÇA.	32
TABELA 3 – EXTENSÃO DO SANGRAMENTO INICIAL DE ACORDO COM O DIAGNÓSTICO PERIODONTAL.	32
TABELA 4 – MEDIANAS (25%-75%) DO ISS, LDH, FAL E AU DOS INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE GENGIVITE.	33
TABELA 5 – MÉDIAS (DP) OU MEDIANAS (25%-75%) DO ISS, LDH, FAL E AU DOS INDIVÍDUOS COM DIAGNÓSTICO DE PERIODONTITE.	34

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

LDH - Lactato Desidrogenase

FAL - Fosfatase Alcalina

AU - Ácido Úrico

ISS - Índice de Sangramento à Sondagem

ROS - Espécies reativas de oxigênio

CAT - Capacidade Antioxidante Total

SO - Estresse Oxidativo

SS - Sangramento à Sondagem

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

PS - Profundidade de Sondagem

NCI - Nível Clínico de Inserção

IPV - Índice de Placa Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 Saliva.....	8
1.2 Inflamação e dano tecidual.....	9
1.2.1 Parâmetros clínicos para diagnóstico das doenças periodontais	10
1.2.2 Perfil inflamatório das doenças periodontais	12
1.2.2.1 LDH na doença periodontal.....	14
1.2.2.2 FAL na doença periodontal	14
1.2.2.3 AU na doença periodontal	15
1.3 Lesões de dano tecidual e doença periodontal	16
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. CAPÍTULO 1	21
3. ARTIGO 1	22
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
5. REFERÊNCIAS	46
6. APÊNDICE 1: Metodologia detalhada	58
6. APÊNDICE 2: TCLE.....	62
6. APÊNDICE 3: Ficha de avaliação clínica	66
7. ANEXO 1: Termo de aprovação do estudo pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos.....	67
7. ANEXO 2: Periograma	70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Saliva

A saliva representa um dos fluidos corporais mais completos para análise da homeostase do organismo humano. Estudos demonstram que componentes biológicos encontrados na saliva podem ser utilizados como marcadores de alterações teciduais, provenientes de um quadro inflamatório agudo ou crônico, ou uma alteração celular a nível molecular (DEUTSCH; PALMON; AFRAMIAN, 2013; GUALTERO; SUAREZ CASTILLO, 2016; GURSOY; KÖNÖNEN, 2016; CASTAGNOLA et al., 2017; SAXENA et al., 2017).

A composição da saliva possui grande heterogeneidade, compreende água, substâncias orgânicas, inorgânicas e aproximadamente 3000 tipos diferentes de proteínas e peptídeos, de origem tecidual, glandular ou microbiológica (YOSHIZAWA et al., 2013; CASTAGNOLA et al., 2017). Por outra parte, a saliva é considerada um fluido multifuncional, tendo como suas principais funções facilitar a digestão, deglutição, paladar, lubrificação da mucosa oral, servir como uma barreira de proteção contra patógenos e atuar como um sistema tampão para neutralizar os ácidos presentes em boca (TAYLOR; PRESHAW, 2016; CANON; NEIERS; GUICHARD, 2018) . Este fluido presente na boca pode ser denominado saliva total, a qual corresponde às secreções das glândulas salivares, fluido crevicular gengival e todos os componentes já descritos, segundo Dogra et al. (2013) e Yoshizawa et al. (2013).

A saliva é produzida nas glândulas salivares pelas células acinares, é transportada pelos ductos menores e lançada no meio bucal. Existem três glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) e uma variedade de glândulas menores, que produzem saliva na mucosa oral e orofaringe. Cada glândula é inervada pelo sistema nervoso autônomo, como consequência recebe estímulo simpático e parassimpático. As glândulas salivares maiores são responsáveis por mais de 90% da saliva produzida (YOSHIZAWA et al., 2013; KESSLER; BHATT, 2018).

As glândulas salivares possuem permeabilidade e são envoltas por uma rede de capilares sanguíneos. Por isso, pode ocorrer passagem de componentes plasmáticos para as células acinares adjacentes durante a produção do fluido oral, seja por transporte passivo, ativo ou ultrafiltração extracelular, possibilitando a

modificação do conteúdo salivar (DEUTSCH et al., 2013; KESSLER; BHATT, 2018). Deste modo, marcadores biológicos de alterações por diversos tipos de doenças podem estar presentes na saliva e oferecer dados moleculares da condição do organismo, sendo uma alternativa ao uso da coleta sanguínea para avaliação e diagnóstico (MOTAMEDI et al., 2013; WANG, et al., 2017).

A facilidade e não invasividade de coleta desse material biológico são vantagens inerentes ao uso desse fluido para estudo do comportamento biológico do organismo e de alterações locais (SCHIPPER; SILLETTI; VINGERHOEDS, 2007; ILEA et al., 2019). Também é uma ferramenta relativamente eficaz no auxílio ao diagnóstico de algumas doenças em indivíduos imunossuprimidos, nos quais a coleta sanguínea pode ser um risco (MAFESSONI et al., 2018).

1.2 Inflamação e dano tecidual

Muitos indicadores de dano tecidual apresentam-se alterados em condições inflamatórias. Os componentes salivares se alteram tanto em condições de caráter sistêmico quanto, local. Como exemplo, uma alteração cancerígena, na qual um processo inflamatório local de outra origem também pode alterar os níveis dos mesmos indicadores, o que gera a dificuldade de se estabelecer um padrão da expressão desses, em uma alteração específica do organismo (CHENG et al., 2014; PATEL, METGUD, 2015; GUALTERO; SUAREZ, CASTILLO, 2016; MALICKA et al., 2016).

As moléculas que podem ser chamadas de marcadores ou indicadores biológicos de dano tecidual são liberadas na saliva em processos de alteração celular inflamatório e neoplásico, provenientes do sangue por meio da secreção salivar, transporte ativo ou passivo, junções intercelulares e fluido crevicular gengival, ou provenientes de uma lesão local, devido à necrose celular, apoptose, trauma ou liberação ativa (SAXENA et al., 2017).

Dentre os processos inflamatórios bucais, as doenças periodontais, como a gengivite e a periodontite, se apresentam como as mais prevalentes na população em geral (DEMMER; PAPAPANOU, 2010). Sendo assim, o grande questionamento a respeito do uso de indicadores de dano tecidual para analisar processos de alteração celular em geral, é sobre avaliação detalhada das condições periodontais dos

indivíduos que serão submetidos à análise salivar, com intuito de auxiliar no diagnóstico ou correlacionar com doenças bucais/sistêmicas.

Além de alterações metabólicas e genômicas, os processos de alteração celular já descritos anteriormente levam a uma produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ROS), que podem ser decisivas na instalação e progressão de um grande número de doenças (MIYASAKI, 1991; WANG; ANDRUKHOV; RAUSCH-FAN, 2017; YAMAMOTO; INOHARA; NAKAGAWA, 2017). Por exemplo, na carcinogênese, as ROS participam a partir do dano oxidativo ao DNA da célula, levando a mutações e progressão da doença. As ROS também influenciam na proliferação celular, apoptose e envelhecimento da célula já alterada (KATAKWAR et al., 2016). Já no processo inflamatório, as ROS são produzidas por células envolvidas no sistema de defesa do hospedeiro, como os neutrófilos, as quais promovem alterações endoteliais pela oxidação de proteínas de sinalização (MITTAL et al., 2014).

Para neutralizar a ação das ROS existe o sistema antioxidante, o qual é formado por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Fazem parte do grupo de antioxidantes enzimáticos o Glutation-Peroxidase, Catalase, Metionina-Redutase e Superóxido Dismutase. Dentre os não enzimáticos, estão o ácido ascórbico, albumina, tocoferol e o ácido úrico (AU), sendo este último a principal molécula antioxidante salivar e responsável por 70% da Capacidade Antioxidante Total (CAT) salivar (WANG; ANDRUKHOV; RAUSCH-FAN, 2017; TRIPATHI et al., 2019).

Quando ocorre uma alteração na homeostase entre a produção de ROS e a quantidade de antioxidantes se dá o desenvolvimento de um microambiente rico em Estresse Oxidativo (SO) (MITTAL et al., 2014). Estudos sugerem que alguns marcadores salivares do SO podem auxiliar no diagnóstico de doenças periodontais e da carcinogênese (MITTAL et al., 2014; ALMERICH-SILLA, et al., 2015; KATAKWAR et al., 2016; WANG et al., 2017).

1.2.1 Parâmetros clínicos para diagnóstico das doenças periodontais

Os processos inflamatórios em meio bucal com grande prevalência na população são provenientes primariamente do acúmulo do biofilme bacteriano ao redor dos dentes (DEMMER; PAPAPANOU, 2010).

A gengivite pode ser categorizada em: Gengivite induzida por biofilme ou Doença gengival não induzida pelo biofilme. Na primeira categoria estão as lesões inflamatórias que resultam da resposta imunológica e inflamatória frente ao acúmulo de biofilme dental não específico por dias ou semanas. A inflamação se restringe a gengiva marginal livre e aderida, não se estendendo além da linha mucogengival. Com a desorganização e remoção do biofilme dental a condição é revertida. Porém, se não houver o controle do biofilme e mudança de hábito de higiene, existe a possibilidade de progressão da doença para o quadro de periodontite. Na segunda categoria a gengivite é decorrente de alguma doença sistêmica ou fator local não relacionado ao biofilme bacteriano. (CATON et al., 2018; CHAPPLE et al., 2018; STEFFENS; MARCANTONIO, 2018).

O diagnóstico da gengivite é clínico. Os sinais clínicos incluem eritema, sangramento e alargamento do sulco gengival. Pacientes podem relatar sangramento durante a escovação, sangue na saliva, inchaço, vermelhidão e halitose. O sangramento a sondagem (SS) é o método utilizado para avaliar a inflamação gengival, realizado com sonda milimetrada periodontal, é dicotômico e realizado em seis sítios em todos os dentes presentes na boca. O resultado com 10% ou mais de sítios apresentando SS caracteriza a presença de gengivite. Não existe necessidade de exame radiográfico para se fechar o diagnóstico (CATON et al., 2018; STEFFENS; MARCANTONIO, 2018).

Enquanto que o diagnóstico da periodontite inclui alguns parâmetros clínicos: Perda de inserção interproximal detectável em pelo menos 2 dentes não adjacentes, perda de inserção vestibular ou palatina/lingual \geq 3mm com profundidade de sondagem $>$ 3mm em 2 ou mais dentes, desde que o aumento da profundidade de sondagem não tenha sido por recessão advinda de trauma, lesão de cárie cervical, aumento da profundidade de sondagem na face distal de um segundo molar que possa ter associação com posicionamento incorreto ou exodontia de terceiro molar, lesão com envolvimento endodôntico/periodontal com drenagem via margem periodontal ou presença de fratura vertical da raiz dentária (PAPAPANOU et al. 2018; STEFFENS; MARCANTONIO, 2018; TONETTI; GREENWELL; KORNMAN, 2018).

A doença periodontal apresenta períodos de remissão e de exacerbação. Ainda que o indivíduo com periodontite esteja na fase estável, apresenta um risco de

recorrência da doença maior quando comparado a aquele com gengivite ou saudável (CATON et al., 2018).

1.2.2 Perfil inflamatório das doenças periodontais

Tanto em situações reversíveis da doença (gengivite), quanto em situações avançadas (periodontite), existe a liberação de diferentes moléculas marcadores de alteração tecidual na saliva (KINANE et al., 2017; CATON et al., 2018; CHAPPLE et al., 2018).

Na gengivite ocorre uma inflamação tecidual derivada do biofilme acumulado ao longo do sulco gengival, restrita à margem da gengiva. Fatores locais ou sistêmicos também podem estar envolvidos e predispor o desafio microbiano ao tecido. Em suas diferentes fases, a inflamação gengival pode conter variadas células inflamatórias. Inicialmente, caracterizada pelo predomínio de células de defesa inespecífica e com o passar do estabelecimento da doença ocorre o aumento de células de defesa adquirida no sulco gengival (PAGE, 1986). Estudos estabelecem que mesmo em estágios iniciais da gengivite, já existe uma alteração tecidual local com repercussão em diferentes componentes salivares (SYNDERGAARD et al., 2014; BOSTANCI et al., 2018).

Juntamente com uma alteração nas quantidade e proporção de microbiota patogênica e conseqüentemente da atividade de doença periodontal, ocorre uma especificidade na resposta inflamatória e conseqüente aumento de substâncias liberadas nesse processo, substâncias que podem ser consideradas indicadores biológicos de dano tecidual na saliva (BOSTANCI et al., 2018; KACZOR-URBANOWICZ et al., 2018).

Sabe-se que a periodontite, no decorrer de sua evolução, possui como característica a degradação colágena e reabsorção do osso alveolar, provenientes da simultaneidade do aumento de bactérias com potencial patogênico, seus produtos e componentes estruturais, bem como processo inflamatório e imunológico desajustado (KINANE et al., 2017). O aumento da expressão de indicadores biológicos de dano tecidual como citocinas pró-inflamatórias, metaloproteínases, proteínas de membrana e enzimas catalizadoras do processo de respiração celular são bem descritos em diversos estudos com doença periodontal (EBERSOLE et al., 2015; JAWZALI, 2016, PODZIMEK et al., 2016; LORENZO-POUSO et al., 2018). A resposta do hospedeiro

frente ao desafio microbiano inclui a produção de diferentes enzimas que são liberadas pelo tecido conjuntivo, epitelial ou células inflamatórias. Durante o processo inflamatório dos tecidos periodontais algumas enzimas migram para o sulco gengival ou bolsa periodontal, são liberadas junto ao fluido crevicular gengival e são incorporadas ao conteúdo da saliva (NOMURA et al., 2012). Portanto, mudanças na atividade enzimática local podem estar relacionadas às alterações inflamatórias provenientes do periodonto ou da mucosa oral. Algumas dessas enzimas salivares são associadas a um dano tecidual ou morte celular (NOMURA et al., 2006; AL-RAWI; SHAHID, 2017).

Como a maioria das doenças infecciosas/inflamatórias, na doença periodontal há aumento das ROS com consequente diminuição da CAT, sobretudo dos antioxidantes não-enzimáticos, principalmente o ácido úrico (ZHANG et al., 2016). Além da alteração decorrente do biofilme estabelecido, as células inflamatórias têm papel importante nesse processo. Neutrófilos são elementos da série branca em maior quantidade no tecido sanguíneo e compõem a primeira linha de defesa contra invasão bacteriana. Após o início da resposta do hospedeiro contra o biofilme bucal, os neutrófilos se acumulam no periodonto e podem ser considerados, associados aos micro-organismos, fontes de ROS. Após a estimulação por micro-organismos patogênicos, os neutrófilos produzem oxigênio por meio da via metabólica catalisada pela NADPH oxidase durante a fagocitose. Os produtos finais da formação da ROS podem gerar graves danos às células do hospedeiro, sujeitas a alterações moleculares e danos graves à diversas classes de proteínas, contribuindo significativamente para o processo de destruição colágena com consequente reabsorção do osso alveolar (MIYASAKI, 1991; MITTAL et al., 2014; WANG; ANDRUKHOV; RAUSCH-FAN, 2017).

Zhang et al. (2016) analisaram a CAT e Status Oxidante Total (SOT) em indivíduos com periodontite, relacionando com os níveis de micro-organismos periodontais, bem como em relação aos parâmetros clínicos da doença periodontal. Foram selecionados 45 participantes com periodontite e 37 saudáveis. Indivíduos com periodontite apresentaram SOT aumentado e CAT reduzida quando comparados com grupo controle. Embora a mudança na CAT esteja relacionada com a gravidade da doença periodontal (Quanto maior a perda de inserção clínica, menor a CAT), não houve relação com a carga bacteriana. Inferindo que alterações no SOT nos

indivíduos com periodontite estão mais relacionadas à uma resposta imune alterada do que à quantidade de bactérias patogênicas.

1.2.2.1 LDH na doença periodontal.

A LDH é uma isoenzima que catalisa a reação de produção do lactato via redução do piruvato durante a fase anaeróbica da glicólise. Sua atividade é intensa em tecidos altamente oxigenados. Esse indicador pode ser encontrado no organismo humano em cinco formas diferentes (LDH tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV e tipo V). Embora apresentem múltiplas formas moleculares e desempenhem funções em órgãos diferentes, catalizam a mesma reação (NAGLER et al., 2001).

Quando a expressão de sua atividade apresenta muito elevada em relação aos níveis basais no plasma, pode ser o indício de algum dano tecidual. Na saliva, a predominância é da LDH do tipo IV e V (70%) (REHAK; CECCO; CSAKO, 2000; NAGLER et al., 2001). Alguns estudos já demonstraram que a LDH pode ter a expressão de sua atividade aumentada tanto na periodontite (NOMURA et al., 2006) quanto na gengivite (EKUNI et al., 2017), visto que a origem de tal enzima é predominantemente (75%) do tecido epitelial da mucosa oral e gengiva (NAGLER et al., 2001).

Bogdanovska et al. (2017) avaliaram os níveis de biomarcadores como LDH no fluido crevicular gengival de indivíduos com doença periodontal antes e sete dias após tratamento com gel de clorexidina 1% e observaram uma diminuição da expressão da expressão de atividade de LDH após sete dias.

1.2.2.2 FAL na doença periodontal

FAL também é um componente salivar presente em processos que demarcam dano tecidual. É enzima hidrolítica do fósforo, glicoproteína de ligação ao cálcio e fosfato. Pode ser originada de células como leucócitos polimorfonucleares, osteoblastos, macrófagos, fibroblastos do periodonto e fluido crevicular gengival. É um importante indicador da atividade osteoblástica. Pode ser detectada nas glândulas parótida, submandibular e glândulas salivares menores, bem como em células epiteliais e bactérias do biofilme bucal. A presença da FAL pode ser indicativa de inflamação e destruição de tecidos periodontais. O nível da FAL é positivamente correlacionado com a gravidade da doença periodontal (LUKE et al., 2015).

É uma enzima não somente de demarcação de estado patológico, como também de renovação celular do ligamento periodontal, cemento e raiz, contribuindo para homeostase local (PATEL et al., 2016; SRIDHARAN et al., 2017). Luke et al.,(2015) estimaram os valores de diferentes enzimas salivares presentes no processo inflamatório e correlacionou com os parâmetros clínicos em indivíduos saudáveis, com gengivite e periodontite. Teve como média dos grupos para FAL: $33,48 \pm 15,84$, $76,85 \pm 36,77$ e $164,39 \pm 54,45$, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Jeyasree et al. (2018) conduziram um ensaio clínico para avaliar os níveis séricos e salivares de FAL em indivíduos com periodontite antes e depois do tratamento periodontal não cirúrgico e comparou com indivíduos saudáveis. As amostras foram coletadas no primeiro dia e após 30 dias da fase I do tratamento. Houve diminuição significativa na expressão da atividade de FAL após o tratamento em indivíduos com periodontite. A média inicial foi de $79,55 \pm 6,40$ e após 30 dias $49,47 \pm 5,11$.

Os resultados de uma metanálise realizada por Di Lenardo et al. (2019) demonstraram que tanto a FAL quanto a LDH podem ser utilizadas como indicadores de inflamação periodontal, com expressão significativamente maior em indivíduos que possuem a doença quando comparados a grupos controle.

1.2.2.3 AU na doença periodontal

O AU é o produto da degradação da purina dos nucleotídeos. Sua síntese ocorre normalmente no fígado, intestinos, músculos, rins e endotélio vascular (MIKAMI; SORIMACHI, 2017). A elevação de AU no organismo pode resultar em doenças graves como hiperuricemia e gota (NERY et al., 2015). Entretanto, é importante destacar o papel dessa molécula como substância antioxidante, seja no plasma ou na saliva, agindo na depuração de radicais livres e consequentemente das ROS (NERY et al., 2015; MIKAMI; SORIMACHI, 2017). Na saliva é responsável por 70% da CAT (ZHANG et al., 2016; AL-RAWI; SHAHID, 2017).

Banu et al. (2015) avaliaram alguns marcadores inflamatórios na saliva e no plasma de 40 indivíduos com periodontite, comparando com 20 controles saudáveis. Observou que alguns marcadores se apresentavam aumentados na doença periodontal, dentre eles o ácido úrico (controle = $4,42 \pm 0,68$; com doença = $5,32 \pm 0,95$;

$p < 0,01$). Sugerindo que, assim como em outras doenças inflamatórias do organismo, o ácido úrico poderia ser utilizado como um potencial marcador inflamatório da periodontite. Porém, como já descrito anteriormente, Zhang et al. (2016) demonstraram que indivíduos com periodontite apresentaram CAT reduzida quando comparados com grupo controle saudável, com diminuição do ácido úrico.

Um estudo conduzido por Novaković et al. (2013) investigaram a CAT por meio dos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos: glutatona peroxidase, superóxido dismutase, albumina e ácido úrico na saliva de 21 indivíduos com doença periodontal antes e após tratamento. Foi realizada raspagem, alisamento radicular e instrução de higiene bucal. As avaliações clínicas e salivares foram realizadas antes da consulta inicial e dois meses após o tratamento. Foi observado que houve significativa melhora clínica, acompanhada de um aumento significativo de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, dentre eles o ácido úrico, sugerindo que o controle da doença periodontal pode aumentar os valores dos antioxidantes salivares.

Tripathi et al. (2019) investigaram a influência de licopeno e extrato de chá verde, como tratamento adjuvante ao tratamento mecânico, nos níveis salivares de AU em indivíduos com gengivite. Trinta participantes foram distribuídos em dois grupos randomizados, o grupo controle recebeu profilaxia, enquanto o grupo teste recebeu, além do tratamento mecânico, licopeno e chá verde. O grupo teste foi orientado a fazer uso do suplemento por 45 dias, após esse período foi realizada uma nova avaliação clínica e análise salivar. Houve um aumento dos níveis AU salivar significativamente maior ($p < 0,01$) no grupo teste, associado à melhora dos parâmetros clínicos.

1.3 Lesões de dano tecidual e doença periodontal

Diferentes tipos de lesões bucais podem estar relacionadas ao aumento ou diminuição da expressão de uma ampla variedade de indicadores de dano tecidual e, grande parte desses indicadores também estão presentes no processo inflamatório da doença periodontal (LUKE et al., 2015; QIN et al., 2017).

Rezende et al. (2008) avaliaram 50 indivíduos com carcinoma espinocelular bucal e de orofaringe para verificar a associação entre hábitos de higiene oral, doença periodontal e câncer, comparando com indivíduos sem a doença. Observaram que nos pacientes com câncer a doença periodontal apresentou-se mais grave.

Gupta et al. (2017) estudaram uma possível associação entre a incidência de câncer bucal na Índia, hábitos de higiene oral, dieta, fumo e consumo de álcool. Concluíram que a higiene oral deficitária foi associada com um significativo risco de câncer bucal (OR=6.98; 95% IC 3,72-13,05).

Em lesões com potencial de malignização e malignas bucais, existem alterações moleculares nas células da mucosa a nível de DNA, as quais levam a níveis anormais de proteínas e possível mudança nos componentes enzimáticos (CASTAGNOLA et al., 2017). Muitos indicadores salivares de dano tecidual têm sido pesquisados para detectar o câncer bucal em estágio inicial. Esses indicadores podem ser influenciados pelo meio bucal, condição sistêmica e pela resposta imune (KAUR et al., 2018).

Devido às alterações celulares, estudos demonstram modificação de indicadores de dano tecidual tanto na carcinogênese oral quanto em doença periodontal, entre os indicadores estão as citocinas pró-inflamatórias, isoenzimas catabólicas, eletrólitos, proteínas de membranas, ROS, antioxidantes e componentes estruturais do DNA/RNA (Tabela 1).

Tabela 1. Exemplos de indicadores relatados na literatura como de dano tecidual em doença periodontal e carcinogênese oral.

Classe	Indicador	Doença Periodontal	Carcinogênese oral
Mediadores inflamatórios	IL-1 β	Ebersole et al. (2015)	Vesty et al. (2018)
	IL-1 α	Lee; Choi (2017)	Korostoff et al. (2011)
	IL-4	Jia et al. (2017)	Aziz et al. (2015)
	IL-6	Ebersole et al. (2015)	Sahibzada et al. (2017)
	IL-8	Finoti et al. (2017)	Sahibzada et al. (2017)
	IL-10	Gomes et al. (2019)	Aziz et al. (2015)
	IL 13	Zhang et al. (2018)	Aziz et al. (2015)
	TNF alfa	Gomes et al. (2019)	Kaur et al. (2018)
	MMP-9	Yee et al. (2017)	Peisker et al. (2017)
Enzimas	FAL	Jeyasree et al. (2018)	Bassalyk et al. (1992)
	LDH	Ekuni et al. (2017)	Joshi; Golgire (2014 e Kallalli et al. (2016 e Mohajertehran et al. (2019)
	Amilase	Acquier et al. (2015)	Vedam et al. (2017)
Agente químico	Acetaldeído	Bright et al. (2018)	Kocaelli H et al. (2014)
	Antioxidante	CAT	Wang, Y. et al. (2017a)
Hormônio	Cortisol	Ardila; Guzmán (2016)	Giebułtowicz et al. (2011)
Célula	CD 44	Kaur et al. (2014)	(Sharma et al., 2018)
Íon	Cálcio	Patel et al. (2016)	Pereira et al. (2011)
Carboidrato	Ácido Siálico	Rathod et al. (2018)	(Dziewulska et al., 2013)
Proteínas	Serotransferrina	Shirmohamadi et al. (2016)	Achalli et al. (2017)
	Albumina	Kaur et al. (2015)	Jessie et al. (2013)
	KI-67	Preethi et al. (2014)	Metgud; Patel (2014)
			Gonçalves et al. (2017)

IL = Interleucinas; TNF = Fator de Necrose Tumoral; MMP = Metaloproteinase da Matriz; CAT = Capacidade Antioxidante Total; LDH = Lactato desidrogenase; FAL = Fosfatase Alcalina

FONTE: A autora.

Patel; Metgud (2015) avaliaram os níveis salivares de LDH em indivíduos com leucoplasia e carcinoma epidermoide, em comparação com controles saudáveis. A LDH salivar, quando comparada com os controles, apresentava valores aumentados nos casos de leucoplasia e um aumento ainda maior nos casos de carcinoma epidermoide. A LDH salivar também aumentava conforme avançava o grau de diferenciação celular do carcinoma. Da mesma forma, Joshi; Golgire (2014) compararam grupos similares e obtiveram valores aumentados de LDH salivar coincidindo com o grau de displasia tecidual. D'Cruz; Pathiyil (2015) também avaliaram a precisão da LDH salivar como biomarcador para o diagnóstico de Carcinoma epidermoide, correlacionando os níveis de LDH salivar com a diferenciação histológica do tumor. Os resultados mostraram concordância entre os níveis salivares de LDH e diferenciação histológica do carcinoma epidermoide.

Bassalyk et al. (1992) avaliaram a atividade e o perfil salivar da LDH e FAL no câncer bucal (n=100), leucoplasia (n=7) e indivíduos saudáveis (n=66). Verificaram que a atividade da LDH e FAL foram maiores em indivíduos com leucoplasia e câncer bucal, quando comparados com indivíduos saudáveis, assim como o perfil da LDH foi do tipo IV e V.

Em relação ao SO, Bahar et al. (2007) avaliaram parâmetros relacionados ao stress oxidativo e perfil antioxidante salivar em indivíduos com Carcinoma oral de células escamosas. Os grupos foram divididos em 25 controles saudáveis e 25 indivíduos com câncer bucal. Demonstraram que houve uma diminuição dos antioxidantes salivares e aumento da ROS no grupo com câncer bucal.

Por estes motivos, controlar a inflamação periodontal pode auxiliar na identificação dos biomarcadores corretos. Nesse sentido, se a diminuição da inflamação, coincide com o controle da expressão dos indicadores de dano tecidual, os mesmos poderão ser utilizados em futuros estudos de indivíduos com lesões bucais, mesmo na presença de doenças periodontais.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as concentrações da lactato desidrogenase (LDH), fosfatase alcalina (FAL) e ácido úrico (AU) salivares em indivíduos com gengivite e periodontite ao longo de uma semana de uso de gluconato de clorexidina a 0,12%.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o ISS após 3, 5 e 7 dias de uso gluconato de clorexidina 0,12%.
- Comparar os níveis de LDH, FAL e AU na saliva no início e após 3, 5 e 7 dias de uso gluconato de clorexidina 0,12%.
- Correlacionar o ISS com os níveis de LDH, AU e FAL na saliva.

3. Capítulo

3. ARTIGO 1

EFEITO DO CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME SOBRE OS COMPONENTES SALIVARES EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL

Artigo formatado de acordo com as normas da revista "Archives of Oral Biology."

EFEITO DO CONTROLE QUÍMICO DO BIOFILME SOBRE OS COMPONENTES SALIVARES EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA PERIODONTAL

Carolina Eurich Mazur^{1*}, Aline Borsato Hauser², Geisla Mary Silva Soares¹, José Miguel Amenábar¹

¹ Universidade Federal do Paraná - UFPR, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, departamento de Estomatologia, Curitiba, PR, Brasil;

² Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curso de Farmácia, Curitiba, PR, Brasil.

Autora correspondente: Carolina Eurich Mazur

Endereço: Rua Doutor Corrêa Coelho – 744 CEP: 80210-350

Telefone: +55 041 999791581

e-mail: carol.cem@gmail.com

RESUMO

Objetivo

O objetivo desse estudo foi avaliar o Índice de Sangramento à Sondagem (ISS) e as concentrações de LDH, FAL e AU salivares em indivíduos com doenças periodontais após 3, 5 e 7 dias do uso solução de gluconato de clorexidina a 0,12% sem álcool.

Materiais e métodos

Foram avaliados 36 indivíduos sistemicamente saudáveis de ambos os sexos, com idade entre 18 e 70 anos e no mínimo 20 dentes em boca. Foram realizados exame clínico periodontal e coleta de saliva não estimulada. Após a coleta de dados, os pacientes foram instruídos quanto ao uso da solução para bochecho. Após 3, 5 e 7 dias de uso da solução foi reavaliado o ISS e realizada nova coleta de saliva. As concentrações de LDH, FAL e AU salivar foram mensuradas por meio de espectrofotometria.

Resultados

A média de idade dos participantes foi de 40,9 (\pm 13,5) anos. O ISS inicial em indivíduos com gengivite foi 25% (mín: 13 máx: 61), enquanto que nos participantes com periodontite de 38,9% (mín: 11 máx: 67). Todos os participantes apresentaram diminuição significativa do ISS após 3, 5 e 7 dias ($p < 0,05$). Em relação aos componentes salivares, a concentração de LDH e FAL permaneceram semelhantes durante todo o período de avaliação. Já a concentração de AU teve aumentou em todos os tempos analisados em comparação ao tempo inicial nos participantes com periodontite.

Conclusão

O controle químico do biofilme reduz o ISS a partir do terceiro dia em todos os indivíduos, enquanto que a concentração de AU aumenta somente em indivíduos com periodontite. As concentrações de LDH e FAL permaneceram constantes, sugerindo que não são influenciadas pela presença de doenças periodontais.

1. Introdução

A saliva é considerada atualmente um fluido corporal importante para avaliação e monitoramento tanto de condições fisiológicas quanto patológicas, devido à presença de moléculas provenientes dessas condições e que podem ser analisadas com facilidade (Ilea et al., 2019; C.-Z. Zhang et al., 2016). Estas moléculas podem ser denominadas de indicadores biológicos, já que indicam alguma alteração tecidual local ou sistêmica (Gutiérrez-Corrales, Campano-Cuevas, Castillo-Dalí, Torres-Lagares, & Gutiérrez-Pérez, 2017).

Diversos tipos de lesões e doenças bucais podem liberar na saliva um número expressivo de moléculas associadas a processos inflamatórios, espécies reativas de oxigênio (ROS) e antioxidantes. Por esse motivo, vários estudos utilizam estas moléculas como marcadores de dano tecidual local (Almerich-Silla et al., 2015; Gualtero & Suarez Castillo, 2016; Ullmann et al., 2010; T. Zhang et al., 2016). Dentre esses componentes pode-se destacar a lactato desidrogenase (LDH), fosfatase alcalina (FAL) e o ácido úrico (AU).

A LDH é uma isoenzima que participa da fase final da respiração celular anaeróbica. O aumento significativo de sua expressão em saliva está associada ao dano tecidual, e se estima que 75% da sua expressão tem sua origem no tecido epitelial bucal (Nagler, Lischinsky, Diamond, Klein, & Reznick, 2001). Por outra parte, a FAL é considerada um marcador metabólico durante o processo inflamatório, sendo uma enzima que quebra a molécula de fósforo e se liga ao cálcio e fosfato. A FAL é liberada por células inflamatórias e está associada ao processo de reabsorção óssea ou dano/morte celular (Sridharan, Sravani, Satyanarayan, Kiran, & Shetty, 2017).

Da mesma forma, o sistema antioxidante salivar tem sido utilizado para mensurar o dano tecidual na mucosa bucal. Dentre os antioxidantes, o AU é responsável por 70% da capacidade antioxidante total salivar (Al-Rawi & Shahid, 2017). Tanto a FAL quanto a LDH e o AU têm sido sugeridos como potenciais biomarcadores nas doença periodontais assim como em outras

doenças bucais como o câncer (Al-Rawi & Shahid, 2017; Ali, Telgi, Tirth, Tantry, & Aleem, 2018; Babiuch et al., 2019; Bassalyk, Gus'kova, Pashintseva, & Liubimova, 1992; Dabra & Singh, 2012; Patel & Metgud, 2015).

Como estas moléculas têm sido propostas como indicadores de inflamação nas doenças periodontais e em lesões bucais, a aplicabilidade do seu uso clínico ainda pode ser colocada em dúvida. Uma alternativa para solucionar essa dúvida é estudar o comportamento de indicadores salivares em indivíduos que não apresentam lesões bucais, após o controle da inflamação proveniente exclusivamente dos tecidos periodontais. Diante disso, o objetivo desse estudo é avaliar as concentrações da LDH, FAL e AU salivares em indivíduos com gengivite e periodontite durante uma semana de uso da solução de gluconato de clorexidina a 0,12%.

2. Materiais e métodos

2.1 Perfil da Amostra

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná (UFPR) com o número 2.751.685. O recrutamento dos indivíduos foi realizado na sala de espera da clínica de odontologia da UFPR. Os indivíduos foram convidados a participar do estudo. A metodologia da pesquisa foi explicada e caso o paciente concordasse, foi oferecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A amostra foi por conveniência, compreendendo 36 indivíduos recrutados de agosto de 2018 a abril de 2019. Os critérios de inclusão foram: Apresentar pelo menos 20 dentes em boca, ter pelo menos 10% de todos os sítios dentários analisados com sangramento à sondagem. Foram considerados excluídos do estudo indivíduos que realizaram raspagem e alisamento radicular nos últimos 3 meses; apresentaram condições físicas que não permitiram o exame; gestantes e/ou lactantes, possuíam doenças sistêmicas com alteração em sistema imune; usaram

antibióticos ou medicação imunossupressora nos últimos 3 meses; apresentaram diabetes descompensado; possuíam qualquer tipo de lesão bucal inflamatória.

2.2 Avaliação clínica

O estudo foi dividido em duas etapas: clínica e laboratorial. A etapa clínica teve como sequência: Assinatura do TCLE, anamnese, coleta de saliva total não estimulada e diagnóstico periodontal por um examinador previamente calibrado (Kappa intraexaminador = 0,89).

Após assinatura do TCLE e anamnese, foi realizada avaliação e diagnóstico periodontal. Os parâmetros de avaliação foram registrados para seis sítios em todos os dentes com condição de análise, terceiros molares ou dentes com destruição coronária. Dentre os registros, foram mensurados índice de placa visível (IPV), índice de sangramento à sondagem (ISS), profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), supuração, mobilidade e grau de furca. Cada participante foi diagnosticado quanto à gengivite ou periodontite estágio I/II.

Após a coleta de dados foi fornecido a todos os participantes do estudo um frasco de 250 ml da solução de gluconato clorexidina sem álcool a 0,12% (Perioplak®, Brasil). O paciente foi instruído a bochechar 15 ml da solução durante um minuto a cada 12 horas, por 7 dias. Juntamente com a explicação verbal, foi fornecido um manual de instruções de como realizar o procedimento. Os participantes retornaram para reavaliação do ISS e coleta de saliva após 3, 5 e 7 dias, seguindo os mesmos procedimentos metodológicos descritos anteriormente.

As amostras salivares foram coletadas anteriormente à avaliação bucal, em recipientes descartáveis. O participante foi orientado a despejar a saliva no frasco por um período de aproximadamente 5 minutos. A coleta foi realizada com intervalo de uma hora após a refeição e/ou com mesmo intervalo da última higiene bucal. As amostras foram mantidas em gelo durante todo o período de coleta. Após a coleta, as amostras foram armazenadas a -20 °C.

2.3 Avaliação laboratorial

Todas as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 2600 g por dois minutos, antes da análise por espectrofotometria.

Análise da LDH

A atividade da LDH foi determinada pela conversão do piruvato a lactato na presença de NADH. O decréscimo da absorbância em 340nm devido à oxidação do NADH é proporcional à atividade da LDH na amostra. A mensuração foi realizada por meio de kit específico (LDH Liquiform, Labtest®) em aparelho automatizado Labmax 400 (Labtest®) sistema aberto.

Análise da FAL

A atividade da FAL foi determinada mediante a reação colorimétrica com formação de complexo da cor amarela no meio alcalino. A mensuração foi realizada por meio de kit específico (Fosfatase alcalina, Labtest®). As leituras foram feitas a 405nm em aparelho automatizado Labmax 400 (Labtest®) sistema aberto.

Análise do AU

As dosagens do ácido úrico foram realizadas por meio do método enzimático por reação de ponto final em amostras de saliva pela técnica manual. As leituras foram feitas a 505nm. A mensuração foi realizada por meio de kit comercial específico (Ácido úrico liquifo Liquiform, Labtest®). As amostras foram analisadas em triplicata e foi utilizada a média como expressão final do AU.

2.4 Análise estatística dos dados

Os dados foram tabulados e organizados no *software* Excel® 2013. Estes foram analisados estatisticamente por meio do *Software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 25.0, com significância estatística determinada no nível de 0,05 para diminuir a possibilidade de erro do Tipo I. Foi utilizado o teste de Shapiro Wilk para verificação da distribuição dos dados. Os valores de PS, NCI, ISS e IPV foram calculados pela divisão do número de sítios alterados pelo número de sítios presentes.

Para todos os cálculos foi considerada a média da frequência relativa do IPV e ISS. Foram considerados indivíduos com gengivite aqueles que apresentaram mais de 10% de todos os sítios analisados com sangramento à sondagem e NCI de até 3mm. Foram considerados com periodontite os indivíduos com NCI igual ou superior a 4 mm em mais de dois sítios interproximais não contíguos. Quanto à gravidade da doença, foi considerado periodontite estágio I quando houve perda de inserção de 1 a 2 mm interproximal no pior sítio e estágio II de 3 a 4 mm Interproximal no pior sítio. Quanto à extensão do sangramento à sondagem foi considerado sangramento localizado ($\leq 30\%$ de todos os sítios analisados) ou generalizado ($>30\%$ de todos os sítios analisados).

Para comparação das médias/medianas das variáveis clínicas entre o grupo com periodontite e o grupo com gengivite foi utilizado Teste-T para amostras independentes nos dados paramétricos e Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes para os dados não paramétricos.

Os testes para averiguar diferença entre as médias dos dias de avaliação foram ANOVA para medidas relacionadas nos dados paramétricos e ajustamento de Bonferroni para comparações múltiplas. Enquanto que os Testes de Friedman por Postos de amostras relacionadas e ajustamento de Bonferroni para comparações múltiplas foram utilizados para comparar a mediana dos dias em dados não paramétricos.

O ISS e a concentração dos componentes salivares foram correlacionadas pelo coeficiente de correlação de Pearson em dados paramétricos e coeficiente de correlação de Spearman em dados não paramétricos.

3. Resultados

A amostra foi composta inicialmente por 46 participantes, porém 10 tiveram sua exclusão, seis devido à ausência em um dos dias de avaliação, quatro por problemas durante o processamento das amostras, totalizando um número amostral de 36 indivíduos com idades entre 23 e 69 anos.

A maioria dos indivíduos é da etnia branca (75%).

TABELA 1. Caracterização da amostra

Variável	Valor
Idade (média)	40,9 (\pm 13,5)
Sexo n(%)	
Feminino	24 (66,7)
Masculino	12 (33,3)
Etnia n(%)	
Branco	27 (75)
Não Branco	9 (25)
Procedência n(%)	
Curitiba	31 (86,1)
Região Metropolitana	5 (13,9)
Diagnóstico n(%)	
Gengivite	15 (41,7)
Periodontite	21 (58,3)

Todos os participantes apresentaram mais que 50% de biofilme visível durante a avaliação inicial. Quando os grupos foram divididos por doença, houve diferença estatística em relação ao número de dentes, número total de sítios analisados e ISS inicial, sendo que em todos estes parâmetros o grupo de indivíduos com periodontite apresentaram um maior número. Quanto ao IPV, embora houve um aumento da média dos indivíduos com periodontite, em relação aos indivíduos com gengivite, não ocorreu diferença estatisticamente significativa. Não houve diferença estatisticamente significativa na PS entre os grupos com gengivite e periodontite, porém a média do NCI dos indivíduos com periodontite foi maior que a média daqueles com gengivite.

TABELA 2. Média e medianas (Min-Max) das variáveis clínicas por diagnóstico de doença

Variável	Gengivite	Periodontite	p
Número de dentes	27,13 ±2,5 / 28 (22-31)	24,7 ±2,8 / 24 (20-30)	0,011 ^α
Número total de sítios analisados	162,4 ±14,8 / 168 (132-186)	147,7 ±17,5 / 144 (120-180)	0,013 ^α
IPV (%)	72,5 ± 16,9 / 69 (51,2-100)	81,1 ±7,7 /	0,083 ^β
ISS inicial	27,1 ±12,8 / 25 (13-61)	38,9 (10,9-66,7)	0,018 ^α
PS	2,28 ±0,3 / 2,3 (1,89-2,95)	2,5 ±0,4 / 2,5 (2-3,5)	0,160 ^β
NCI	1,63 ±0,2 / 1,57 (1,38-2,11)	2,1 ±0,4 / 2 (1,6-3,2)	0,019 ^β
NCI ≥ 4 mm (%)	NA	11,3 ±9,9 / 7,6 (2,8 – 40,9)	NA

α=Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes. β=Teste-T para amostras independentes; IPV = Índice de Placa Visível; ISS = Índice de Sangramento à Sondagem; PS = Profundidade de Sondagem; NCI = Nível Clínico de Inserção; NA = Não se aplica.

Quanto à extensão do sangramento inicial, indivíduos com periodontite apresentaram maior sangramento generalizado, enquanto que a maioria dos indivíduos com gengivite apresentaram sangramento localizado.

TABELA 3. Extensão do sangramento inicial de acordo com o diagnóstico periodontal.

		Extensão do sangramento inicial		
Diagnóstico		Localizado (≤ 30%)	Generalizado (> 30%)	TOTAL
	Gengivite	12	3	15
	Periodontite	7	14	21
TOTAL		19	17	36

Em relação aos indicadores de inflamação em indivíduos com gengivite, o ISS apresentou diferença significativa entre o dia de avaliação inicial e os outros tempos. Enquanto que a LDH, FAL e AU mantiveram-se semelhantes durante todo o período avaliado.

TABELA 4. Medianas (25%-75%) do ISS, LDH, FAL e AU dos indivíduos com diagnóstico de gengivite.

Variável	Avaliação inicial	Avaliação após 3 dias	Avaliação após 5 dias	Avaliação após 7 dias	p
ISS (%)	25 (17,3-28) ^{A,B,C}	13,7 (8,3-18,4) ^A	8,8 (7,1-17,4) ^B	10,1 (7,7-13,6) ^C	<0,001
LDH	147 (52-240)	129 (64-308)	133 (69-440)	155 (89-404)	0,247
FAL	4 (2-7)	4 (2-6)	4 (3-6)	2 (1-7)	0,128
AU	3,5(2,9-4,9)	4,1 (3,6-4,7)	4,1 (3,8-4,9)	3,9 (3,6-4,5)	0,131

ISS = Índice de de Sangramento à Sondagem; LDH = Lactato Desidrogenase (U/L); FAL = Fosfatase Alcalina (U/L); AU= Ácido Úrico (mg/dL). *Teste de Friedman por Postos de amostras relacionadas. Ajustamento para diversas comparações: Bonferroni, letras semelhantes, valores diferentes estatisticamente.

No grupo com periodontite, além da diminuição significativa do ISS durante em todos os dias de avaliação em relação ao dia inicial, houve também aumento significativo do nível de AU todos os dias de avaliação em relação ao dia de avaliação inicial.

TABELA 5. Média (DP) ou medianas (25 % - 75%) do ISS, LDH, FAL e AU dos indivíduos com diagnóstico de periodontite.

Parâmetro	Avaliação inicial	Avaliação após 3 dias	Avaliação após 5 dias	Avaliação após 7 dias	p
ISS (%)	38,9 (\pm 15,4) ^{A,B,C}	21,6 (\pm 11,2) ^A	21,3 (\pm 9,6) ^B	18,6(\pm 9,4) ^C	<0,01 ^{β}
LDH	183 (99,5-450)	130 (68,5-279)	230 (62,5-424)	232 (73-511,5)	0,219 ^{α}
FAL	4 (1,5-5,5)	2 (1,5-4)	3 (1-5,5)	4 (2-6,5)	0,174 ^{α}
AU	3,8 (\pm 1,2) ^{A,B,C}	4,7 (\pm 1,3) ^A	4,5 (\pm 1,2) ^B	4,7 (\pm 1,3) ^C	<0,001 ^{β}

ISS = Índice de de Sangramento à Sondagem; LDH = Lactato Desidrogenase (U/L); FAL = Fosfatase Alcalina (U/L); AU= Ácido Úrico (mg/dl). α = Teste de Análise de Variância de dois Fatores de Friedman por Postos de amostras relacionadas. β = ANOVA para amostras relacionadas. Ajustamento para diversas comparações: Bonferroni, letras semelhantes, valores diferentes estatisticamente.

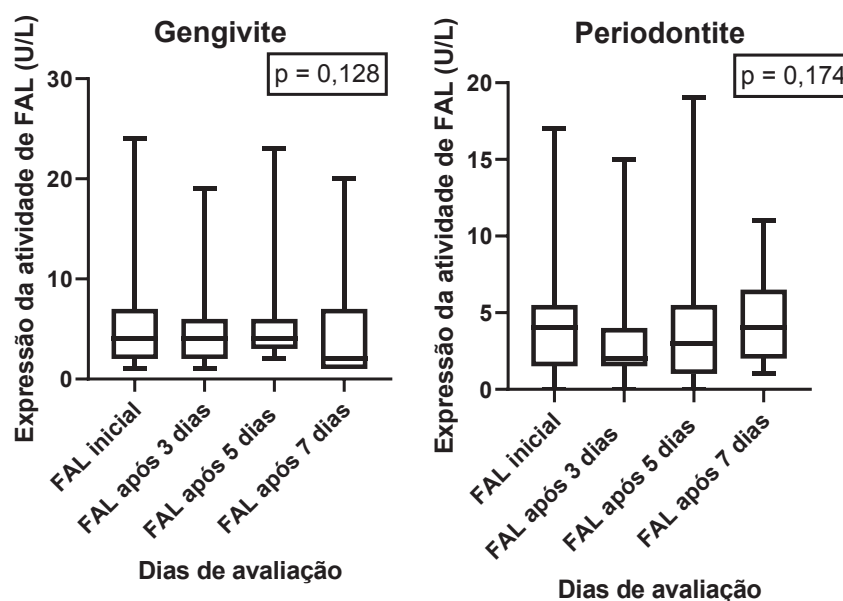


Figura 1: Expressão da atividade de Fosfatase alcalina salivar durante os dias de avaliação em indivíduos com gengivite e periodontite.

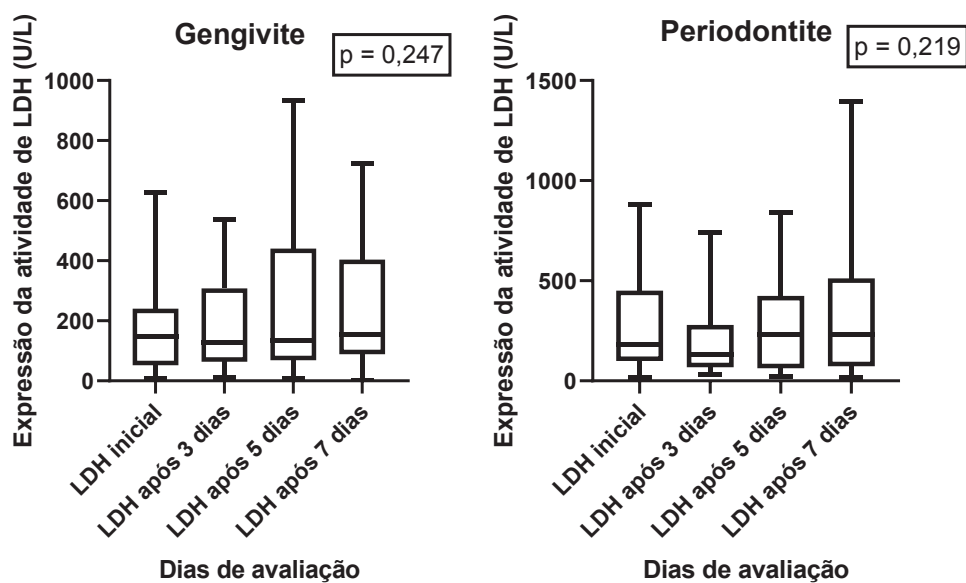


Figura 2: Expressão da atividade da Lactato Desidrogenase salivar durante os dias de avaliação em indivíduos com gengivite e periodontite.

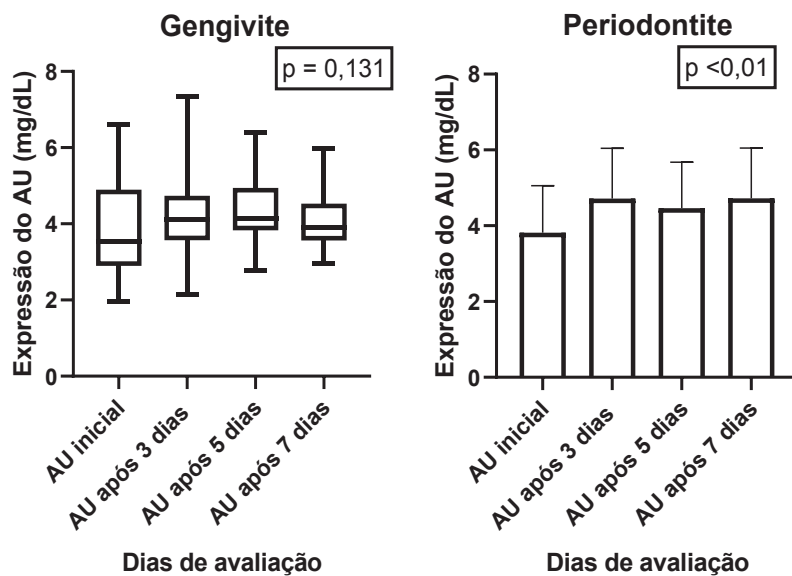


Figura 3: Expressão da concentração de ácido úrico salivar durante os dias de avaliação em indivíduos com gengivite e periodontite.

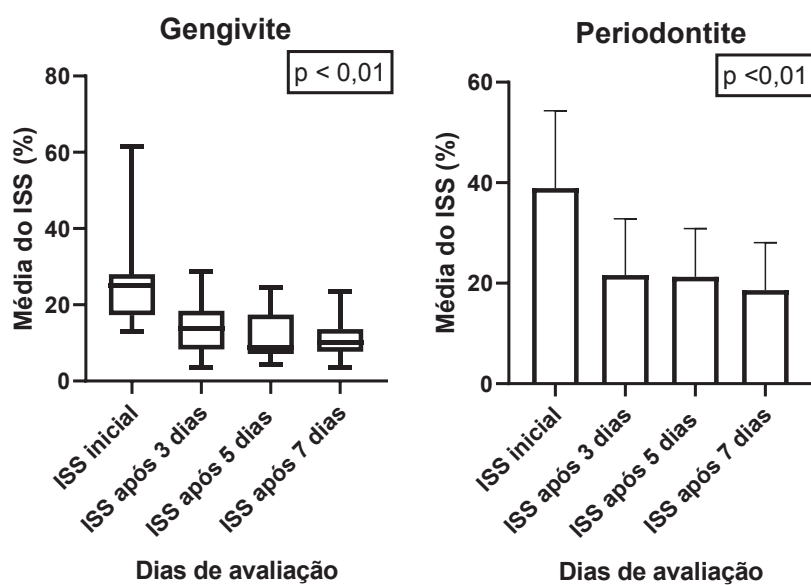


Figura 4: Percentual do Índice de sangramento à sondagem durante os dias de avaliação em indivíduos com gengivite e periodontite.

Colocar as barras

Não houveram correlações entre os componentes salivares e o ISS, exceto o ácido úrico em indivíduos com periodontite, no qual houve uma correlação negativa moderada ($\rho = -0,504$; $p=0,02$).

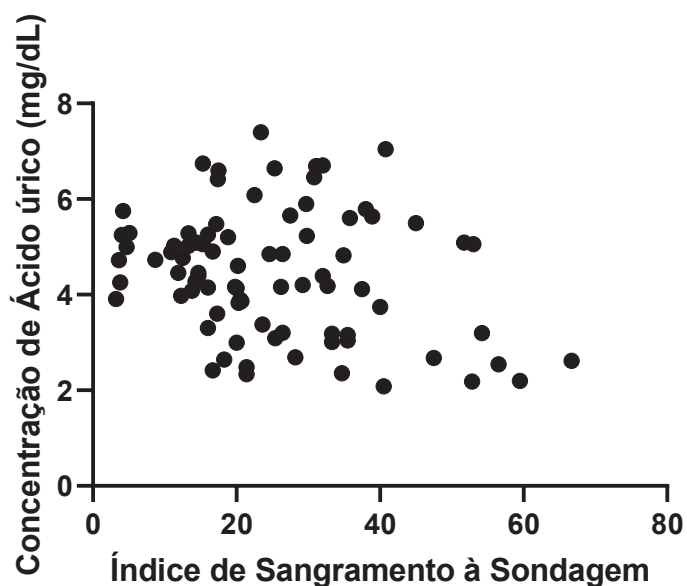


Figura 5: Gráfico de correlação entre a expressão do ácido úrico e o sangramento à sondagem (Correlação de Pearson).

4. Discussão

O presente estudo comparou os níveis de LDH, FAL e ácido úrico na saliva de indivíduos com diferentes graus de inflamação periodontal ao longo de sete dias de uso do gluconato de clorexidina 0,12%. Durante o período avaliado houve diminuição significativa do ISS tanto no grupo de pacientes com gengivite quanto, periodontite, entretanto os componentes salivares LDH e FAL não acompanharam a diminuição da inflamação, somente o AU aumentou significativamente no grupo de indivíduos com periodontite.

A comparação dos níveis de indicadores de dano tecidual com um controle saudável é comumente empregado para justificar o aumento da expressão dos níveis salivares em indivíduos com variedade de lesões bucais e doenças inflamatórias como é o caso da doença periodontal (Jawzali, 2016; Liu et al., 2017). Entretanto, ainda existe uma lacuna sobre os valores de referência para uma população saudável. Em um estudo conduzido por Kallalli et al. (Kallalli et al., 2016), no qual estimou os níveis de LDH salivar entre pacientes com fibrose submucosa, câncer bucal e controles saudáveis, teve uma média da LDH dos indivíduos saudáveis de $182,21 \pm 34,85$, enquanto que um outro estudo realizado por Patel et al (Patel & Metgud, 2015) comparou os níveis de LDH de indivíduos normais com os níveis de indivíduos com leucoplasia e carcinoma de células escamosas, a média do valor da expressão da LDH no controle saudável foi de $261,16 \pm 75,8$.

Em estudos com doença periodontal também existe uma variação nos valores do grupo dos controles saudáveis, como o de Kugahara (Kugahara, Shosenji, & Ohashi, 2008) no qual encontrou que a mediana da LDH em gestantes sem doença periodontal foi semelhante à daquelas com gengivite: 363 (143-611) e 358 (159-697), respectivamente. Um outro estudo conduzido por Ali et al. (Ali et al., 2018) verificou os níveis de LDH salivar em indivíduos com periodontite fumantes, não fumantes e controle. O valor da média para o grupo controle, composto por indivíduos não fumantes sem ou com gengivite leve foi de $285,34 \pm 35,76$. Esses

dados justificam o desenho desse estudo, no qual foi utilizado como parâmetro de caso-controle o próprio indivíduo.

Os resultados demonstraram que embora houvesse um nível de inflamação gengival determinado pelo ISS, a expressão dos indicadores de dano não acompanhou a diminuição significativa do processo inflamatório após o uso do agente antimicrobiano. Semelhantemente, um estudo conduzido por Syndergaard (Syndergaard et al., 2014) comparou os níveis de alguns indicadores inflamatórios como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), Prostaglandina E₂ (PGE₂), metalloproteinase – 8 (MMP-8) e Proteína inflamatória do macrófago (MIP-1 α) na saliva de indivíduos com gengivite e com saúde periodontal. Em seguida verificou se a profilaxia dentária poderia alterar as concentrações de tais biomarcadores salivares nos indivíduos com gengivite em até 30 dias após o tratamento. Tiveram como resultados que ainda que houvesse uma significativa melhora clínica com retorno à saúde periodontal dos indivíduos com gengivite, não houve alteração significativa nos mediadores inflamatórios 30 após tratamento.

Uma metanálise realizada por Di Lenardo (Di Lenardo et al., 2019) avaliou a relação entre níveis salivares de diversas enzimas indicadoras de dano tecidual em amostras de indivíduos com periodontite comparados com controles saudáveis. Concluíram que tanto a FAL (IC 95% = 20,02–36,99) quanto a LDH (IC 95% = 54,13–104,37) estão associados à periodontite. Embora vários estudos demonstrem associação entre LDH, FAL e inflamação periodontal (Nomura et al., 2012; Nomura et al., 2006; Sridharan et al., 2017), o presente estudo demonstrou que não houveram alterações nesses indicadores até 7 dias de controle químico do biofilme.

Foi evidenciado nos resultados desse estudo o aumento significativo do AU já com três dias de uso da solução em indivíduos com periodontite, enquanto que em indivíduos com gengivite os níveis de AU permaneceram semelhantes nos tempos analisados. Estes resultados

podem ser explicados pelo fato da maioria dos indivíduos com periodontite apresentar níveis de sangramento à sondagem inicial generalizado maiores (66,7%), enquanto que aqueles com gengivite, em sua maioria (80%) apresentaram sangramento localizado, com proximidade da saúde periodontal, o que justificaria a não alteração do indicador durante os tempos avaliados. Uma pesquisa que realizou tratamento periodontal em indivíduos com gengivite demonstrou que houve aumento significativo do AU após tratamento (Tripathi et al., 2019). Um estudo conduzido por Novaković et al. (Novaković et al., 2013) investigaram a CAT por meio dos antioxidantes glutathiona peroxidase, superóxido dismutase, albumina e ácido úrico na saliva de 21 indivíduos com doença periodontal. Foi realizado raspagem, alisamento radicular e instrução de higiene bucal em todos os indivíduos recrutados. As avaliações clínicas e salivares foram realizadas antes da consulta inicial e dois meses após o tratamento. Foi observado que houve significativa melhora clínica, acompanhada de um aumento significativo de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, dentre eles o ácido úrico, sugerindo que o controle da doença periodontal pode aumentar os valores dos antioxidantes salivares.

Como conclusões desse estudo pode-se afirmar que o controle do biofilme supragengival, por meio de bochecho com solução de clorexidina 0,12% 2x/dia levou à diminuição significativa do ISS em todos os tempos analisados em relação ao tempo inicial em indivíduos com periodontite e gengivite. Não houve diferença estatística na expressão da atividade de FAL e LDH longo dos tempos de avaliação. o controle químico do biofilme reduz o ISS a partir do terceiro dia em todos os indivíduos, enquanto que a concentração de AU aumentou somente em indivíduos com periodontite. Tanto a concentração de LDH quanto a de FAL permaneceram constantes, sugerindo que não são influenciadas pela presença de doenças periodontais.

Estes resultados sugerem que tanto a LDH quanto a FAL não acompanham a diminuição do sangramento periodontal. Sendo considerados possíveis indicadores de dano tecidual em

doenças bucais, mesmo na presença de doenças periodontais. Novos estudos com amostras maiores e acompanhamento a longo prazo após diminuição clínica da inflamação periodontal, um estabelecimento dos níveis dos indicadores de dano tecidual e perfil antioxidante são sugeridos, tanto na doença periodontal quanto em outras doenças que acometem a mucosa oral.

Declaração de conflito de interesse

Não existe conflito de interesse.

Referências

- Al-Rawi, N. H., & Shahid, A. M. (2017). Oxidative stress, antioxidants, and lipid profile in the serum and saliva of individuals with coronary heart disease: is there a link with periodontal health? *Minerva stomatologica*. <https://doi.org/10.23736/S0026-4970.17.04062-6>.
- Alghadir, A. H., Gabr, S. A., & Aly, F. A. (2015). The effects of four weeks aerobic training on saliva cortisol and testosterone in young healthy persons. *Journal of physical therapy science*, 27(7), 2029–2033. <https://doi.org/10.1589/jpts.27.2029>.
- Ali, S. A., Telgi, R. L., Tirth, A., Tantry, I. Q., & Aleem, A. (2018). Lactate Dehydrogenase and β -Glucuronidase as Salivary Biochemical Markers of Periodontitis Among Smokers and Non-Smokers. *Sultan Qaboos University Medical Journal [SQUMJ]*, 18(3), 318. <https://doi.org/10.18295/squmj.2018.18.03.009>.
- Almerich-Silla, J. M., Montiel-Company, J. M., Pastor, S., Serrano, F., Puig-Silla, M., & Dasí, F. (2015). Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. *Disease Markers*, 2015, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/653537>.
- Babiuch, K., Bednarczyk, A., Gawlik, K., Pawlica-Gosiewska, D., Kęsek, B., Darczuk, D., Kaczmarzyk, T. (2019). Evaluation of enzymatic and non-enzymatic antioxidant status and biomarkers of oxidative stress in saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral

leukoplakia: a pilot study. *Acta Odontologica Scandinavica*, 1–11.

<https://doi.org/10.1080/00016357.2019.1578409>.

Bassalyk, L. S., Gus'kova, N. K., Pashintseva, L. P., & Liubimova, N. V. (1992). [Enzyme and isoenzyme activity in patients with malignant tumors of the oral mucosa]. *Voprosy onkologii*, 38(3), 291–299. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1300720>.

Bel'skaya, L. V, Kosenok, V. K., & Massard, Z. (2018). Activity of metabolic enzymes of saliva with neuroendocrine tumors of the lung of various degrees of malignancy. *Klinicheskaiia laboratornaia diagnostika*, 63(11), 677–682. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-11-677-682>.

Dabra, S., & Singh, P. (2012). Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series. *Dental Research Journal*. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.92942>.

Di Lenardo, D., Silva, F. R. P. da, de Carvalho França, L. F., Carvalho, J. dos S., Alves, E. H. P., & Vasconcelos, D. F. P. (2019). Evaluation of Biochemical Parameters Present in the Saliva of Patients with Chronic Periodontitis: Results from a Meta-Analysis. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 23(4), 255–263. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2017.0272>.

Gualtero, D. F., & Suarez Castillo, A. (2016). Biomarkers in saliva for the detection of oral squamous cell carcinoma and their potential use for early diagnosis: a systematic review. *Acta Odontologica Scandinavica*, 74(3), 170–177. <https://doi.org/10.3109/00016357.2015.1110249>.

Gutiérrez-Corrales, A., Campano-Cuevas, E., Castillo-Dalí, G., Torres-Lagares, D., & Gutiérrez-Pérez, J.-L. (2017). Ability of salivary biomarkers in the prognostic of systemic and buccal inflammation. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 9(5), e716–e722. <https://doi.org/10.4317/jced.53776>.

Ilea, A., Andrei, V., Feurdean, C., Băbțan, A.-M., Petrescu, N., Câmpian, R., ... Cristea, C. (2019). Saliva, a Magic Biofluid Available for Multilevel Assessment and a Mirror of General

- Health—A Systematic Review. *Biosensors*, 9(1), 27. <https://doi.org/10.3390/bios9010027>.
- Jawzali, J. I. (2016). Association between salivary sialic acid and periodontal health status among smokers. *The Saudi Dental Journal*, 28(3), 124–135. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2016.05.002>.
- Kallalli, B. N., Rawson, K., Muzammil, Singh, A., Awati, M. A., & Shivhare, P. (2016). Lactate dehydrogenase as a biomarker in oral cancer and oral submucous fibrosis. *Journal of oral pathology & medicine: official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 45(9), 687–690. <https://doi.org/10.1111/jop.12451>.
- Kugahara, T., Shosenji, Y., & Ohashi, K. (2008). Screening for periodontitis in pregnant women with salivary enzymes. *The journal of obstetrics and gynaecology research*, 34(1), 40–46. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2007.00681.x>.
- Liu, J., Shi, Q., Yang, S., Wang, Q., Xu, J., & Guo, B. (2017). The relationship between levels of salivary and serum interleukin-6 and oral lichen planus: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dental Association (1939)*. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2017.05.007>.
- Nagler, R. M., Lischinsky, S., Diamond, E., Klein, I., & Reznick, A. Z. (2001). New insights into salivary lactate dehydrogenase of human subjects. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 137(5), 363–369. <https://doi.org/10.1067/MLC.2001.114710>.
- Nomura, Y., Shimada, Y., Hanada, N., Numabe, Y., Kamoi, K., Sato, T., Yoshie, H. (2012). Salivary biomarkers for predicting the progression of chronic periodontitis. *Archives of Oral Biology*, 57(4), 413–420. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.09.011>.
- Nomura, Y., Tamaki, Y., Tanaka, T., Arakawa, H., Tsurumoto, A., Kirimura, K., ... Kamoi, K. (2006). Screening of periodontitis with salivary enzyme tests. *Journal of oral science*, 48(4), 177–183.

- Novaković, N., Cakić, S., Todorović, T., Raicević, B. A., Dozić, I., Petrović, V., Colak, E. (2013). Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal treatment. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*, *141*(3–4), 163–168.
- Patel, S., & Metgud, R. (2015). Estimation of salivary lactate dehydrogenase in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma: a biochemical study. *Journal of cancer research and therapeutics*, *11*(1), 119–123. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.138193>.
- Sharma, U., Pal, D., & Prasad, R. (2014). Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *29*(3), 269–278. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0408-y>.
- Sridharan, S., Sravani, P., Satyanarayan, A., Kiran, K., & Shetty, V. (2017). Salivary Alkaline Phosphatase as a Noninvasive Marker for Periodontal Disease in Children with Uncontrolled Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, *41*(1), 70–74. <https://doi.org/10.17796/1053-4628-41.1.70>.
- Syndergaard, B., Al-Sabbagh, M., Kryscio, R. J., Xi, J., Ding, X., Ebersole, J. L., & Miller, C. S. (2014). Salivary biomarkers associated with gingivitis and response to therapy. *Journal of periodontology*, *85*(8), e295-303. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.130696>.
- Tripathi, P., Blaggana, V., Upadhyay, P., Jindal, M., Gupta, S., & Nishat, S. (2019). Antioxidant therapy (lycopene and green tea extract) in periodontal disease: A promising paradigm. *Journal of Indian Society of Periodontology*, *23*(1), 25. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_277_18.
- Ullmann, Y., Klein, Y., Savulescu, D., Borovoi, I., Egozi, D., Gavish, M., & Nagler, R. (2010). Salivary monitoring related to major surgery. *European Journal of Clinical Investigation*, *40*(12), 1074–1080. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2010.02355.x>.
- Zhang, C.-Z., Cheng, X.-Q., Li, J.-Y., Zhang, P., Yi, P., Xu, X., & Zhou, X.-D. (2016). Saliva in the diagnosis of diseases. *International journal of oral science*, *8*(3), 133–137. <https://doi.org/10.1038/ijos.2016.38>.
- Zhang, T., Andrukhov, O., Haririan, H., Müller-Kern, M., Liu, S., Liu, Z., & Rausch-Fan, X.

(2016). Total Antioxidant Capacity and Total Oxidant Status in Saliva of Periodontitis Patients in Relation to Bacterial Load. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 97. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00097>.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Houve diminuição significativa do ISS em todos os tempos analisados em relação ao tempo inicial em indivíduos com periodontite e gengivite após o uso da solução de clorexidina 0,12%. Bem como houve aumento significativo de Ácido úrico em todos os tempos analisados em relação ao tempo inicial em indivíduos com periodontite. Em contrapartida, não houve diferença estatística na expressão da atividade de FAL e LDH longo dos tempos de avaliação, assim como não foi possível correlacionar os níveis dos componentes salivares com o ISS. Os resultados sugerem FAL e LDH como possíveis indicadores de dano tecidual em lesões bucais mesmo na presença de doença periodontal.

5. REFERÊNCIAS

ACHALLI, S. et al. Sialic acid as a biomarker of oral potentially malignant disorders and oral cancer. **Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research**, v. 28, n. 4, p. 395–399, 2017.

ACQUIER, A. B. et al. Comparison of salivary levels of mucin and amylase and their relation with clinical parameters obtained from patients with aggressive and chronic periodontal disease. **Journal of Applied Oral Science**, v. 23, n. 3, p. 288–294, jun. 2015.

AL-RAWI, N. H.; SHAHID, A. M. Oxidative stress, antioxidants, and lipid profile in the serum and saliva of individuals with coronary heart disease: is there a link with periodontal health? **Minerva stomatologica**, v.66, n.5, p.212-225, 2017.

ALMERICH-SILLA, J. M. et al. Oxidative Stress Parameters in Saliva and Its Association with Periodontal Disease and Types of Bacteria. **Disease Markers**, v. 2015, p. 1–7, 2015.

ARALDI, N. R. et al. Ácido úrico e reparação tecidual. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v. 28, n. 4, p. 290–292, 2015.

ARDILA, C. M.; GUZMÁN, I. C. Association of *Porphyromonas gingivalis* with high levels of stress-induced hormone cortisol in chronic periodontitis patients. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, v. 7, n. 4, p. 361–367, nov. 2016.

AZIZ, S. et al. Salivary Immunosuppressive Cytokines IL-10 and IL-13 Are Significantly Elevated in Oral Squamous Cell Carcinoma Patients. **Cancer Investigation**, v. 33, n. 7, p. 318–328, 9 ago. 2015.

BAHAR, G. et al. Salivary analysis in oral cancer patients. **Cancer**, v. 109, n. 1, p. 54–

59, 1 jan. 2007.

BANU, S. et al. Correlation of Toll-like receptor 4, interleukin-18, transaminases, and uric acid in patients with chronic periodontitis and healthy adults. **Journal of periodontology**, v. 86, n. 3, p. 431–9, mar. 2015.

BASSALYK, L. S. et al. Enzyme and isoenzyme activity in patients with malignant tumors of the oral mucosa. **Voprosy Onkologii**, v.38, n.3, p.291-9, 1992.

BOGDANOVSKA, L. et al. Chemometric evaluation of the efficacy of locally administered chlorhexidine in patients with periodontal disease. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 7, p. 1022–1031, 1 nov. 2017.

BOSTANCI, N. et al. Targeted proteomics guided by label-free global proteome analysis in saliva reveal transition signatures from health to periodontal disease. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 17, n. 7, p. 1392-1409, 2018.

BRIGHT, R. et al. Gingival tissue, an extrasynovial source of malondialdehyde-acetaldehyde adducts, citrullinated and carbamylated proteins. **Journal of Periodontal Research**, v. 53, n. 1, p. 139–143, fev. 2018.

CANON, F.; NEIERS, F.; GUICHARD, E. Saliva and Flavor Perception: Perspectives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 30, p. 7873–7879, 2 ago. 2018.

CASTAGNOLA, M. et al. Salivary biomarkers and proteomics: future diagnostic and clinical utilities. **Acta otorhinolaryngologica Italica**, v. 37, n. 2, p. 94–101, abr. 2017.

CATON, J. G. et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, n.20, p. 1–8, jun. 2018.

CHAPPLE, I. L. C. et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **Journal of Periodontology**, v. 89, n.1, p. 74–84, jun. 2018.

D'CRUZ, A. M.; PATHIYIL, V. Histopathological differentiation of oral squamous cell carcinoma and salivary lactate dehydrogenase: A biochemical study. **South Asian journal of cancer**, v. 4, n. 2, p. 58–60, 2015.

DEMMER, R. T.; PAPAPANOU, P. N. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 53, p. 28–44, jun. 2010.

DEUTSCH, O.; PALMON, A.; AFRAMIAN, D. J. Screening saliva. **Refu'at ha-peh veha-shinayim**, v. 30, n. 2, p. 16–23, 78, abr. 2013.

DI LENARDO, D. et al. Evaluation of Biochemical Parameters Present in the Saliva of Patients with Chronic Periodontitis: Results from a Meta-Analysis. **Genetic Testing and Molecular Biomarkers**, v. 23, n. 4, p. 255–263, abr. 2019.

DOGRA, S. et al. Evaluation of physio-chemical properties of saliva and comparison of its relation with dental caries. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v. 31, n. 4, p. 221, 2013.

DZIEWULSKA, A. et al. Salivary mineral composition in patients with oral cancer. **Magnesium research**, v. 26, n. 3, p. 120–4, 2013.

EBERSOLE, J. L. et al. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 62, 2015.

EKUNI, D. et al. Validity of a New Kit Measuring Salivary Lactate Dehydrogenase Level

for Screening Gingivitis. **Disease markers**, v. 2017, p. 9547956, 2017.

FINOTI, L. S. et al. Association between interleukin-8 levels and chronic periodontal disease. **Medicine**, v. 96, n. 22, p. 6932, jun. 2017.

GIEBUŁTOWICZ, J.; WROCZYŃSKI, P.; SAMOLCZYK-WANYURA, D. Comparison of antioxidant enzymes activity and the concentration of uric acid in the saliva of patients with oral cavity cancer, odontogenic cysts and healthy subjects. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 40, n. 9, p. 726–730, out. 2011.

GOMES, A. M. et al. Periodontal disease, peri-implant disease and levels of salivary biomarkers IL-1 β , IL-10, RANK, OPG, MMP-2, TGF- β and TNF- α : follow-up over 5 years. **Journal of applied oral science**, v. 27, p. 20180316, 21 fev. 2019.

GONÇALVES, A. S. et al. Overexpression of immunomodulatory mediators in oral precancerous lesions. **Human Immunology**, v. 78, n. 11–12, p. 752–757, nov. 2017.

GUALTERO, D. F.; SUAREZ CASTILLO, A. Biomarkers in saliva for the detection of oral squamous cell carcinoma and their potential use for early diagnosis: a systematic review. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 74, n. 3, p. 170–177, 2 abr. 2016.

GUPTA, B. et al. Associations between oral hygiene habits, diet, tobacco and alcohol and risk of oral cancer: A case–control study from India. **Cancer Epidemiology**, v. 51, p. 7–14, dez. 2017.

GURSOY, U. K.; KÖNÖNEN, E. Editorial: Use of Saliva in Diagnosis of Periodontitis: Cumulative Use of Bacterial and Host-Derived Biomarkers. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, 22 dez. 2016.

ILEA, A. et al. Saliva, a Magic Biofluid Available for Multilevel Assessment and a Mirror of General Health—A Systematic Review. **Biosensors**, v. 9, n. 1, p. 27, 14 fev. 2019.

JAMES, P. et al. Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 3, n. 3, p. 8676, 2017.

JAWZALI, J. I. Association between salivary sialic acid and periodontal health status among smokers. **The Saudi Dental Journal**, v. 28, n. 3, p. 124–135, jul. 2016.

JESSIE, K. et al. Aberrant proteins in the saliva of patients with oral squamous cell carcinoma. **Electrophoresis**, v. 34, n. 17, p. 2495–2502, set. 2013.

JEYASREE, R. M. et al. Evaluation of serum and salivary alkaline phosphatase levels in chronic periodontitis patients before and after nonsurgical periodontal therapy. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 22, n. 6, p. 487–491, 2018.

JIA, X.-W. et al. Association between IL-4 and IL-4R Polymorphisms and Periodontitis: A Meta-Analysis. **Disease Markers**, v. 2017, p. 1–10, 2017.

JOSHI, P. S.; GOLGIRE, S. A study of salivary lactate dehydrogenase isoenzyme levels in patients with oral leukoplakia and squamous cell carcinoma by gel electrophoresis method. **Journal of oral and maxillofacial pathology**. **J Oral Maxillofac Pathol**, v. 18, n. 1, p 39– 44, set. 2014.

KACZOR-URBANOWICZ, K. E. et al. Salivary exRNA biomarkers to detect gingivitis and monitor disease regression. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 45, n. 7, p. 806–817, jul. 2018.

KALLALLI, B. N. et al. Lactate dehydrogenase as a biomarker in oral cancer and oral submucous fibrosis. **Journal of oral pathology & medicine**, v. 45, n. 9, p. 687–690, out. 2016.

KARPIŃSKI, T. M.; SZKARADKIEWICZ, A. K. Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. **European review for medical and pharmacological**

sciences, v. 19, n. 7, p. 1321–6, abr. 2015.

KATAKWAR, P. et al. Oxidative stress marker in oral cancer: A review. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 12, n. 2, p. 438, 2016.

KAUR, J. et al. Salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, n. 2, p. 633–640, 17 mar. 2018.

KAUR, N.; KAUR, N.; SARANGAL, V. A study to evaluate the correlation of serum albumin levels with chronic periodontitis. **Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research**, v. 26, n. 1, p. 11–4, 2015.

KAUR, S.; NARAYANSWAMY, S.; RAMESH, A. V. Comparative evaluation of salivary soluble CD44 levels in periodontal health and disease. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 18, n. 6, p. 734–8, 2014.

KESSLER, A.; BHATT, A. Review of the Major and Minor Salivary Glands, Part 1: Anatomy, Infectious, and Inflammatory Processes. **Journal of Clinical Imaging Science**, v. 8, n. 1, p. 47, 2018.

KINANE, D. F.; STATHOPOULOU, P. G.; PAPAPANOU, P. N. Periodontal diseases. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 17038, 22 jun. 2017.

KOCAELLI H et al. Evaluation of potential salivary acetaldehyde production from ethanol in oral cancer patients and healthy subjects. **Hippokratia**, v. 18, n. 3, p. 269-274, 2014.

KOROSTOFF, A. et al. The role of salivary cytokine biomarkers in tongue cancer invasion and mortality. **Oral Oncology**, v. 47, n. 4, p. 282–287, abr. 2011.

LEE, S.-J.; CHOI, B.-K. Involvement of NLRP10 in IL-1 α induction of oral epithelial cells by periodontal pathogens. **Innate Immunity**, v. 23, n. 7, p. 569–577, 2 out. 2017.

LISA CHENG, Y.-S. et al. Salivary Interleukin-6 and -8 in Patients With Oral Cancer and Patients With Chronic Oral Inflammatory Diseases. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 7, p. 956-65, jul, 2013.

LORENZO-POUSO, A. I. et al. Protein-Based Salivary Profiles as Novel Biomarkers for Oral Diseases. **Disease markers**, v. 2018, p. 6141845, 2018.

LUKE, R. et al. Estimation of Specific Salivary Enzymatic Biomarkers in Individuals with Gingivitis and Chronic Periodontitis: A Clinical and Biochemical Study. **Journal of international oral health**, v. 7, n. 9, p. 54–7, set. 2015.

MAFESSONI, T. P.; MAZUR, C. E.; AMENÁBAR, J. M. Salivary lactate dehydrogenase (LDH) as a tool for early diagnosis of oral cancer in individuals with Fanconi anemia. **Medical hypotheses**, v. 119, p. 29–31, out. 2018.

MALICKA, B.; SKOSKIEWICZ-MALINOWSKA, K.; KACZMAREK, U. Salivary lactate dehydrogenase and aminotransferases in diabetic patients. **Medicine**, v. 95, n. 47, p. 5211, nov. 2016.

METGUD, R.; PATEL, S. Serum and salivary levels of albumin as diagnostic tools for oral pre-malignancy and oral malignancy. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 89, n. 1, p. 8–13, 5 jan. 2014.

MIKAMI, T.; SORIMACHI, M. Uric acid contributes greatly to hepatic antioxidant capacity besides protein. **Physiological research**, v. 66, n. 6, p. 1001–1007, 20 dez. 2017.

MITTAL, M. et al. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants & redox signaling**, v. 20, n. 7, p. 1126–67, 1 mar. 2014.

MIYASAKI, K. T. The Neutrophil: Mechanisms of Controlling Periodontal Bacteria.

Journal of Periodontology, v. 62, n. 12, p. 761–774, dez. 1991.

MOHAJERTEHRAN, F. et al. Overexpression of Lactate Dehydrogenase in the Saliva and Tissues of Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. **Reports of biochemistry & molecular biology**, v. 7, n. 2, p. 142–149, jan. 2019.

MOTAMEDI, M. et al. Salivary enzymes in peptic ulcer disease. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 3, n. 2, p. 83–87, maio 2013.

NAGLER, R. M. et al. New insights into salivary lactate dehydrogenase of human subjects. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 137, n. 5, p. 363–369, 1 maio 2001.

NOMURA, Y. et al. Screening of periodontitis with salivary enzyme tests. **Journal of oral science**, v. 48, n. 4, p. 177–83, dez. 2006.

NOMURA, Y. et al. Salivary biomarkers for predicting the progression of chronic periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 4, p. 413–420, abr. 2012.

NOVAKOVIĆ, N. et al. Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal treatment. **Srpski arhiv za celokupno lekarstvo**, v. 141, n. 3–4, p. 163–8, 2013.

PAGE, R. C. Gingivitis. **Journal of clinical periodontology**, v. 13, n. 5, p. 345–59, maio 1986.

PATEL, R. M. et al. Estimation and Comparison of Salivary Calcium, Phosphorous, Alkaline Phosphatase and pH Levels in Periodontal Health and Disease: A Cross-sectional Biochemical Study. **Journal of clinical and diagnostic research**, v. 10, n. 7, p. ZC58-61, jul. 2016.

PATEL, S.; METGUD, R. Estimation of salivary lactate dehydrogenase in oral

leukoplakia and oral squamous cell carcinoma: a biochemical study. **Journal of cancer research and therapeutics**, v. 11, n. 1, p. 119–23, 2015.

PEISKER, A. et al. Salivary MMP-9 in the detection of oral squamous cell carcinoma. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 22, n. 3, p. 0–0, 1 maio 2017.

PEREIRA, L. H. M. et al. Salivary markers and risk factor data: a multivariate modeling approach for head and neck squamous cell carcinoma detection. **Cancer biomarkers : section A of Disease markers**, v. 10, n. 5, p. 241–9, 2011.

PODZIMEK, S. et al. Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. **Disease markers**, v. 2016, p. 9179632, 2016.

PREETHI, P. et al. Immunolocalization of Ki-67 in different periodontal conditions. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 18, n. 2, p. 161, mar. 2014.

QIN, R.; STEEL, A.; FAZEL, N. Oral mucosa biology and salivary biomarkers. **Clinics in Dermatology**, v. 35, n. 5, p. 477–483, set. 2017.

RATHOD, S. et al. Comparative analysis of salivary sialic acid levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic periodontitis patients: A biochemical study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 29, n. 1, p. 22, 2018.

REHAK, N. N.; CECCO, S. A.; CSAKO, G. Biochemical Composition and Electrolyte Balance of "Unstimulated" Whole Human Saliva. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 38, n. 4, 30 jan. 2000.

REZENDE, C. P. DE et al. Alterações da saúde bucal em portadores de câncer da boca e orofaringe. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 74, n. 4, p. 596–600, ago. 2008.

SAHIBZADA, H. A. et al. Salivary IL-8, IL-6 and TNF- α as Potential Diagnostic

Biomarkers for Oral Cancer. **Diagnostics**, v. 7, n. 2, p. 21, 9 abr. 2017.

SAXENA, S. et al. A Review of Salivary Biomarker: A Tool for Early Oral Cancer Diagnosis. **Advanced Biomedical Research**, v. 6, n. 1, p. 90, 2017.

SCHIPPER, R. G.; SILLETTI, E.; VINGERHOEDS, M. H. Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 12, p. 1114-35, 2007.

SHARMA, P. et al. Estimation of cortisol levels in patients with premalignant disorders and oral squamous cell carcinoma. **Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP**, v. 22, n. 1, p. 27–34, 2018.

SHIRMOHAMADI, A. et al. Effect of non-surgical periodontal treatment on transferrin serum levels in patients with chronic periodontitis. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, v. 10, n. 3, p. 169–175, 17 ago. 2016.

SRIDHARAN, S. et al. Salivary Alkaline Phosphatase as a Noninvasive Marker for Periodontal Disease in Children with Uncontrolled Type 1 Diabetes Mellitus. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 41, n. 1, p. 70–74, jan. 2017.

STEFFENS, J. P.; MARCANTONIO, A.R. Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares 2018: guia Prático e Pontos-Chave, **Rev Odontol UNESP**, v. 47, n. 4, p. 189–197, 2018.

SYNDERGAARD, B. et al. Salivary biomarkers associated with gingivitis and response to therapy. **Journal of periodontology**, v. 85, n. 8, p. e295-303, ago. 2014.

TAYLOR, J. J.; PRESHAW, P. M. Gingival crevicular fluid and saliva. **Periodontology 2000**, v. 70, n. 1, p. 7–10, fev. 2016.

TONETTI, M. S.; GREENWELL, H.; KORNMAN, K. S. Staging and grading of

periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition.

Journal of Periodontology, v. 89, p. 159–172, jun. 2018.

TRIPATHI, P. et al. Antioxidant therapy (lycopene and green tea extract) in periodontal disease: A promising paradigm. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 23, n. 1, p. 25, 2019.

VEDAM, V. K. V. et al. Salivary Amylase as a Marker of Salivary Gland Function in Patients Undergoing Radiotherapy for Oral Cancer. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 31, n. 3, p. e22048, maio 2017.

VESTY, A. et al. Microbial and inflammatory-based salivary biomarkers of head and neck squamous cell carcinoma. **Clinical and Experimental Dental Research**, v. 4, n. 6, p. 255–262, dez. 2018.

WANG, X.; KACZOR-URBANOWICZ, K. E.; WONG, D. T. W. Salivary biomarkers in cancer detection, **Medical Oncology**, v. 34, n. 1, p.1-12, 2017.

WANG, Y.; ANDRUKHOV, O.; RAUSCH-FAN, X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 910, 2017.

YAMAMOTO, M.; INOHARA, H.; NAKAGAWA, T. Targeting metabolic pathways for head and neck cancers therapeutics, **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 36, n. 3, p. 503-5014, set., 2017.

YEE, E. H. et al. Detection of Biomarkers of Periodontal Disease in Human Saliva Using Stabilized, Vertical Flow Immunoassays. **ACS Sensors**, v. 2, n. 11, p. 1589–1593, 22 nov. 2017.

YOSHIZAWA, J. M. et al. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 781–791, 1 out. 2013.

ZHANG, T. et al. Total Antioxidant Capacity and Total Oxidant Status in Saliva of Periodontitis Patients in Relation to Bacterial Load. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, p. 97, 6 jan. 2016.

ZHANG, W. et al. IL-13 -1112 polymorphism and periodontitis susceptibility: a meta-analysis. **BMC Oral Health**, v. 18, n. 1, p. 21, 7 dez. 2018.

6. APÊNDICE 1 - METODOLOGIA ESTENDIDA

O presente estudo é um estudo clínico observacional longitudinal. O recrutamento foi realizado na sala de espera da clínica de odontologia da UFPR. Os indivíduos foram convidados a participar do estudo. O tamanho da amostra foi composto por 36 indivíduos recrutados de agosto de 2018 a abril de 2019 (amostra por conveniência).

A metodologia da pesquisa foi explicada e caso o paciente/responsável concordasse, foi oferecido o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Crítérios de inclusão:

- Ter pelo menos 20 dentes em boca.
- Apresentar pelo menos 10% de todos os sítios dentários analisados com sangramento à sondagem.

Crítérios de exclusão :

- Pacientes com condições físicas que não permitam o exame.
- Pacientes gestantes e/ou lactantes.
- Pacientes que fizeram uso de antibióticos ou medicação imunossupressora contínua nos últimos 3 meses.
- Pacientes com diabetes descompensado ou doenças que alteram o sistema imunológico.
- Pacientes com qualquer tipo de lesão bucal inflamatória.
- Pacientes que realizaram tratamento periodontal nos últimos 3 meses.

Os Procedimentos metodológicos ocorreram em duas etapas:

- 1) Etapa Clínica
- 2) Etapa Laboratorial

1) Etapa Clínica: Anamnese, exame físico, coleta de saliva total não estimulada e exame clínico e diagnóstico periodontal, tudo realizado por um único avaliador previamente calibrado.

A calibração do examinador ocorreu no período de sete dias, na qual foram avaliados dois indivíduos não incluídos no estudo em duas avaliações em dias distintos, pelo mesmo examinador. O valor final de Kappa foi 0,89. Após anamnese

foi realizada avaliação e diagnóstico periodontal. Os índices periodontais foram avaliados em seis sítios em todos os dentes com condição de análise (aqueles que não apresentassem destruição coronária ou alteração anatômica que não permitissem realizar a sondagem periodontal). Os parâmetros clínicos utilizados mensurar a doença foram índice de placa visível (IPV), ISS, profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), supuração, mobilidade e grau de furca. O participante foi diagnosticado quanto à saúde periodontal, gengivite ou periodontite.

Após a coleta de dados foi fornecido a todos os participantes do estudo um frasco de 250 ml da solução de gluconato clorexidina sem álcool a 0,12% (Perioplak®, Brasil). O paciente foi instruído a bochechar 15 ml da solução durante um minuto a cada 12 horas, por 7 dias. Juntamente com a explicação oral, foi fornecido um manual de instruções de como realizar o procedimento. Os participantes retornaram para reavaliação do ISS e coleta de saliva após 3, 5 e 7 dias, seguindo os mesmos procedimentos metodológicos descritos anteriormente.

As amostras de saliva foram coletadas antes da avaliação física, em recipientes descartáveis, por um período de 5 minutos. A coleta foi realizada com intervalo de uma hora após a refeição e/ou com mesmo intervalo da última higiene bucal. O participante foi orientado a permanecer sentado verticalmente em local confortável e antes do início da coleta. As amostras mantiveram-se em gelo durante todo o período de coleta. Após a coleta, as amostras foram armazenadas a -20 °C.

2) Etapa Laboratorial: Foram mensurados os níveis de LDH, FAL e AU no início e 3, 5 e 7 dias após avaliação inicial.

Todas as amostras foram descongeladas e centrifugadas a 2600 g por dois minutos, antes da análise por espectrofotometria.

Avaliação da LDH

A atividade da LDH foi determinada pela conversão do piruvato a lactato na presença de NADH. O decréscimo da absorbância em 340nm devido à oxidação do NADH é proporcional à atividade da LDH na amostra. A mensuração foi realizada por meio de kit específico (LDH Liquiform, Labtest®, Lagoa Santa/MG, Brasil) em aparelho automatizado Labmax 400 (Labtest®) sistema aberto.

Avaliação da FAL

A atividade da FAL foi determinada mediante a reação colorimétrica com formação de complexo da cor amarela no meio alcalino. A mensuração foi realizada por meio de kit específico (Fosfatase alcalina, Labtest®, Lagoa Santa/MG, Brasil). As leituras foram feitas a 405nm em aparelho automatizado Labmax 400 (Labtest®) sistema aberto.

Avaliação do AU

As dosagens do ácido úrico foram realizadas por meio do método enzimático por reação de ponto final em amostras de saliva pela técnica manual.

O ácido úrico é oxidado pela uricase alantoína e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio na presença da peroxidase, reage com DHBS e 4-aminoantipirina, formando o cromogênio antipirilquinonimina. A intensidade da coloração vermelha formada foi diretamente proporcional à quantidade de ácido úrico presente na amostra.

A mensuração foi realizada por meio de kit comercial específico (Ácido úrico liquifo Liquiform, Labtest®, Lagoa Santa/MG, Brasil). O kit é composto pelo reagente 1, reagente 2 e padrão (6,0 mg/dL de ácido úrico).

Para análise, inicialmente foi realizado preparo do reagente de trabalho (RT), utilizando a proporção de quatro volumes do reagente 1 (0,8 ml) para um volume do reagente 2 (0,2 ml). Depois foram adicionados 1,0 ml do RT em cada tubo de ensaio, 0,02 ml da solução padrão em um tubo de ensaio (padrão), somente RT em outro tubo (branco) e 0,02 ml de amostra salivar em cada tubo restante. O conteúdo foi homogeneizado e incubado em banho-maria a 37° C por 5 minutos, o nível de água nos tubos foi superior ao nível dos reagentes em cada tubo de ensaio. Após esse período, foi realizada a leitura a 505 nm.

Para calcular o valor final de AU, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{Ácido úrico (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \times 6$$

As amostras foram analisadas em triplicata e foi utilizada a média como expressão final do AU.

Análise estatística dos dados

Os dados foram tabulados e organizados no *software* Excel® 2013. Estes foram analisados estatisticamente por meio do *Software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 25.0, com significância estatística determinada no nível de 0,05 para diminuir a possibilidade de erro do Tipo I. Foi utilizado o teste de Shapiro Wilk para verificação da distribuição dos dados. Os valores de profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI), ISS e índice de placa visível (IPV) foram calculados pela divisão do número de sítios alterados pelo número de sítios presentes.

Para todos os cálculos foi considerada a média da frequência relativa do IPV e ISS. Foram considerados indivíduos com gengivite aqueles que apresentaram mais de 10% de todos os sítios analisados com sangramento à sondagem e NCI de até 3mm. Foram considerados com periodontite os indivíduos com NCI igual ou superior a 4 mm em mais de dois sítios interproximais não contíguos. Quanto à gravidade, foi considerado periodontite estágio I aqueles que apresentassem perda de inserção de até 2 mm, estágio II de 2 a 4 mm. Em relação à extensão do sangramento à sondagem foi considerado sangramento localizado ($\leq 30\%$ de todos os sítios analisados) ou generalizado ($>30\%$ de todos os sítios analisados).

Para comparação das médias ou medianas das variáveis clínicas entre o grupo com periodontite e o grupo com gengivite foi utilizado Teste-T para amostras independentes nos dados paramétricos e Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes para os dados não paramétricos.

O teste para verificar diferença entre as médias dos dias de avaliação foi ANOVA para medidas relacionadas e ajustamento para diversas comparações de Bonferroni nos dados paramétricos, enquanto que o Teste de Friedman por Postos de amostras relacionadas e ajustamento para diversas comparações de Bonferroni foram utilizados para comparar as medianas dos dias em dados não paramétricos.

A média do ISS e a média de concentração dos componentes salivares foram correlacionadas pelo coeficiente de correlação de Pearson em dados paramétricos e Spearman em dados não paramétricos.

6. APÊNDICE 2 – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Carolina Eurich Mazur, aluna de pós-graduação, José Miguel Amenábar e Geisla Mary Silva Soares professores da pós graduação da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando o Sr.(a) paciente da clínica de odontologia da Universidade Federal do Paraná a participar do estudo intitulado "EFEITO DO GLUCONATO DE CLOREXIDINA 0,12% EM MARCADORES DE DANO TECIDUAL NA SALIVA".

O acúmulo de bactérias na boca provoca processos inflamatórios que danificam a gengiva. O gluconato de clorexidina 0,12% é a solução antisséptica mais eficaz contra as bactérias bucais sendo utilizada para auxiliar no controle da inflamação de doenças das gengivas.

a) O objetivo desta pesquisa é verificar qual o menor tempo possível de uso da solução antisséptica (Clorexidina) nos marcadores de inflamação gengival, verificados clinicamente e na saliva.

b) Caso você participe da pesquisa, será realizada uma avaliação de sua boca para verificar se há a presença de placa bacteriana, doença da gengiva e em qual grau se encontra. Além disso, você deverá realizar bochechos com a solução a cada 12 horas durante 7 dias e comparecer para avaliações aos 3, 5 e 7 dias após o início do tratamento.

c) O local de avaliação será a clínica de estomatologia da UFPR (Av. Prefeito Lothário Meissner, 632, bloco de odontologia, clínica 2 - Jardim Botânico- Curitiba, PR). Os atendimentos possuirão média de duração de 30 minutos, de acordo com sua necessidade. Essa consulta será realizada 4 vezes. No primeiro dia para diagnóstico da saúde da sua boca, depois de 3 dias, 5 e 7 dias para reavaliação, a fim de verificar se houve diferença nos índices analisados.

Rubricas:
Participante da Pesquisa _____
Pesquisador Responsável ou quem aplicou
o TCLE _____

d) Em cada dia será coletada saliva para realizar a avaliação dos marcadores de inflamação, motivo pelo qual você não poderá ter comido, nem bebido, nem ter escovado os dentes por pelo menos uma hora antes da consulta. Você poderá se sentir com algum descontentamento ou desconforto na realização do exame inicial, porém a sensibilidade é momentânea, não precisa de anestesia e serão tomados todos os cuidados para seu resguardo, para que não haja prejuízos à sua integridade física e moral.

e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser: contaminação pela saliva e materiais utilizados em sua boca, manchamento dentário pelo uso da solução para bochecho e alteração do paladar, para tanto alguns cuidados serão tomados no sentido de diminuir a chance de ocorrência dessas situações, como: utilizar materiais estéreis e desinfetados, não permitir que utilize a solução para bochecho por mais de 7 dias para não ocorrência dos efeitos colaterais, os quais geralmente acontecem após 30 dias de uso contínuo. Caso ocorra manchamento dentário decorrente do uso do produto, o pesquisador se responsabiliza pela remoção das manchas.

f) Os benefícios esperados com essa pesquisa são: 1) Verificar qual o menor tempo possível de uso do enxaguatório; 2) Propiciar ao Sr.(a) ensino da técnica correta de escovação, orientação com relação aos riscos da má higiene para saúde sistêmica 3) Melhora da saúde da sua gengiva e caso necessite de tratamento odontológico, será encaminhado para as devidas disciplinas dentro do curso de Odontologia desta universidade..

g) Os pesquisadores Carolina Eurich Mazur (Mestranda do Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPR); telefone: (42) 99929 1581; e-mail: carolmazur6@hotmail.com), Dr.º José Miguel Amenábar (Professor da disciplina de estomatologia da UFPR); telefone: (41) 33804050; e-mail: jamenaba@ufpr.br e Geisla Mary Silva Soares (Professora da disciplina de periodontia da UFPR); telefone (41) 3380 4013; e-mail: geislamary@ufpr.br, responsáveis por este estudo, poderão ser contatados na sala da disciplina de estomatologia da UFPR, localizada na Av. Lothário Meissner, 632, bloco 1 de odontologia, para esclarecer eventuais dúvidas que o Sr.(a) possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

h) A sua participação neste estudo é voluntária e se não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado. A sua recusa não implicará na interrupção de seu atendimento e/ou tratamento, que está assegurado.

i) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas: pesquisadora Carolina Eurich Mazur, orientador Dr.º José Miguel Amenábar e co-orientadora Dra Geisla Mary Silva Soares. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob a forma codificada, para que a sua identidade seja preservada e seja mantida a confidencialidade.

j) A amostra de saliva será utilizada unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado em descarte específico ao término do estudo.

k) As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Os gastos necessários para sua locomoção até a universidade serão de responsabilidade dos pesquisadores envolvidos.

l) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

m) Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360-7250. O Comitê de Ética em Pesquisa é um órgão colegiado multi e transdisciplinar, independente, que existe nas instituições que realizam pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil e foi criado com o objetivo de proteger os participantes de pesquisa, em sua integridade e dignidade, e assegurar que as pesquisas sejam desenvolvidas dentro de padrões éticos (Resolução nº 466/12 Conselho Nacional de Saúde).

Eu, _____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha

decisão e sem qualquer prejuízo para mim. Eu entendi o que os bochechos devem ser realizados seguindo as instruções determinadas pelo pesquisador e que devo comparecer nos dias agendados para avaliação. Fui informado que se eu apresentar algum dos problemas relacionados no item e), serei encaminhado para atendimento.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

[Curitiba, ___ de _____ de ____]

Assinatura do Participante de Pesquisa .



Carolina Eurich Mazur (Mestranda do programa de pós graduação em Odontologia da UFR).



José Miguel Amenábar (Professor do Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPR, responsável pela pesquisa).



Geisla Mary Silva Soares (Professora do Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFPR, co-orientadora da pesquisa).

6. APÊNDICE 3 – FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

AVALIAÇÃO DO PACIENTE

Dados Pessoais		
Nome:	Idade:	Sexo: M () F ()
Data de Nasc.: / /		
Procedência:		
Grupo Étnico: () Leucoderma () Melanoderma () Feoderma () Xantoderma		
Data da avaliação inicial:		

HISTÓRIA MÉDICA
Medicamentos em uso:
Fumante: () SIM () NÃO Etilista: () SIM () NÃO
Doenças:

EXAME CLÍNICO ODONTOLÓGICO INICIAL
Queixa principal:
Presença de lesão em mucosa: SIM () NÃO ()
Anotações relevantes

7. ANEXO 1 – TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPR

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DO GLUCONATO DE CLOREXIDINA 0,12% EM MARCADORES DE DANO TECIDUAL NA SALIVA

Pesquisador: José Miguel Amenábar Céspedes

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 87445018.8.0000.0102

Instituição Proponente: Departamento de Estomatologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.751.685

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta às pendências elencadas nos Pareceres 2.620.471 e 2.685.196 do projeto de autoria do Professor Dr. José Miguel Amenábar, tendo como colaboradores Carolina Eurich Mazur e Gelsia Mary Soares. Foram

realizadas adequações e segue para novo parecer. A proposta é utilização de amostras de saliva de pacientes diagnosticados com gengivite ou periodontite que farão uso de bochechos de gluconato de clorexidina 0,12% por 7 dias, sendo estes pacientes avaliados clinicamente e com coleta de saliva em baseline, dias 3, 5 e 7.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo com os autores, o objetivo geral é "verificar qual o menor tempo possível de uso do gluconato de clorexidina 0,12% para controle da inflamação gengival por meio de indicadores clínicos e salivares.", enquanto citam como objetivos específicos:

*- Avaliar o grau de inflamação gengival no início do estudo e após 3, 5 e 7 dias de uso gluconato de clorexidina 0,12%.

Endereço: Rua Pedro Camargo, 285 - Térreo

Bairro: Alto da Glória

CEP: 80.060-240

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.751.685

Emenda – ver modelo de carta em nossa página: www.cometica.ufpr.br (obrigatório envio)

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1108475.pdf	14/06/2018 20:49:57		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_Carolina_comite_corrigido_junho.docx	14/06/2018 20:49:11	Carolina Eurich Mazur	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Resposta_inadequacoes_tcle_jun.docx	14/06/2018 20:48:30	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	declaracao_laboratorio_bioquimica.pdf	18/05/2018 13:36:28	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	Resposta_inadequacoes.docx	17/05/2018 22:12:36	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_comite_alterado_maio.doc	17/05/2018 22:11:38	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	declaracao_tomar_publico.pdf	10/04/2018 10:10:02	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	aprov_colegiado.pdf	10/04/2018 10:08:51	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	analise_merito.pdf	10/04/2018 10:08:18	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	term_inicio.pdf	10/04/2018 10:07:48	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	ao_comi.pdf	10/04/2018 10:07:23	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	Check_list_final.pdf	10/04/2018 10:06:43	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	decl_uso_dado.pdf	10/04/2018 10:06:12	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	termo_conf.pdf	10/04/2018 10:05:43	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Outros	responsabilidade_pesquisa.pdf	10/04/2018 10:05:14	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_2589718.pdf	10/04/2018 10:04:12	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Orçamento	orcamento.docx	10/04/2018	Carolina Eurich	Aceito

UFPR - SETOR DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO PARANÁ -



Continuação do Parecer: 2.751.685

Orçamento	orcamento.docx	10:02:33	Mazur	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_material_biologico.pdf	10/04/2018 09:54:27	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	decla_inst.pdf	10/04/2018 09:53:58	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	10/04/2018 09:48:50	Carolina Eurich Mazur	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto.pdf	10/04/2018 00:40:18	Carolina Eurich Mazur	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 03 de Julho de 2018

Assinado por:
IDA CRISTINA GUBERT
(Coordenador)

7. ANEXO 2 - PERIOGRAMA

Paciente:	Data:	Examinador:
-----------	-------	-------------

		VESTIBULAR																																	
		18		17		16		15		14		13		12		11		21		22		23		24		25		26		27		28			
		D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	
IPV																																			
ISG																																			
PS																																			
NCI																																			
SS																																			
SUP																																			
F																																			
M																																			

		PALATAL																																	
		18		17		16		15		14		13		12		11		21		22		23		24		25		26		27		28			
		D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	D	P	M	
IPV																																			
ISG																																			
PS																																			
NCI																																			
SS																																			
SUP																																			

		VESTIBULAR																																	
		48		47		46		45		44		43		42		41		31		32		33		34		35		36		37		38			
		D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	
IPV																																			
ISG																																			
PS																																			
NCI																																			
SS																																			
SUP																																			
F																																			
M																																			

		LINGUAL																																	
		48		47		46		45		44		43		42		41		31		32		33		34		35		36		37		38			
		D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	D	L	M	
IPV																																			
ISG																																			
PS																																			
NCI																																			
SS																																			
SUP																																			
F																																			
M																																			

IPV=Índice de Placa Visível (D/1)	SS=Sangramento a Sondagem (D/1)	NCI=Nível Clínico de Inserção (mm)	F=Forca (1/2/3)
ISG=Índice de Sangramento Gingival (D/1)	PG=Profundidade de Sondagem (mm)	SUP=Supuração (D/1)	M=Mobilidade (D/1/2/3)

Sítios de coleta	Sítios ≥ 5mm	Sítios fotografados
------------------	--------------	---------------------