



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

PROTEINA C REACTIVA E CREATINA FOSFOQUINASE NO DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

Trabalho submetido por
Miguel Lopes Nogueira Perdigão Queiroga
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2018



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

PROTEINA C REACTIVA E CREATINA FOSFOQUINASE NO DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

Trabalho submetido por
Miguel Lopes Nogueira Perdigão Queiroga
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professora Doutora Margarida Moncada

Outubro de 2018

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Margarida Moncada pela sua enorme ajuda e compreensão, que se mostrou sempre disponível para me ajudar.

Um agradecimento especial também ao Professor Doutor Paulo Maurício, que sempre se demonstrou disponível para qualquer dúvida ou ajuda.

Um obrigado a todos os que de certa forma me ajudaram, desde familiares a amigos, com especial apelo à Francisca Bessa, João Carapinha e a todos os outros que me apoiaram.

Resumo

A medicina dentária é uma área muito dinâmica da medicina que se encontra em constante evolução e mudança. Os métodos de tratamento e diagnóstico sofrem uma constante alteração e actualização.

Assim, é cada vez mais relevante o correto diagnóstico para que o médico dentista reúna o máximo de informação possível de forma a que o tratamento possa ser o mais eficiente e adequado.

Sabemos, também, que existe uma tendência por parte dos profissionais de realizar as técnicas às quais está mais familiarizado e, assim, praticar técnicas que podem já estar desatualizadas ou ultrapassadas, não prestando o serviço de excelência que se pretende.

A área da periodontologia não é uma excepção e está também em constante actualização pelo que é de extrema importância, apesar de manter os métodos de diagnósticos tradicionais, procurar evoluir para testes laboratoriais de análises específicas de biomarcadores para que o diagnóstico e controlo da patologia possa ser o mais correcto possível.

Neste trabalho final o objectivo foi o de aprofundar o estudo do mecanismo da Proteína C Reactiva a par da Creatina Fosfoquinase no diagnóstico de patologias periodontais.

Palavras chave: proteína C reactiva; creatina fosfoquinase; diagnóstico periodontal; biomarcadores.

Abstract

Dentistry is a very dynamic area of medicine that is in constant change and development. For this reason, methods of diagnosis and treatment are constantly being changed and updated.

Therefore, correct diagnosis is increasingly relevant to allow the dentist to gather as much information as possible in order to provide the most efficient and adequate possible treatment.

It is known that professionals have a tendency to carry out the techniques to which they are most familiar with and, thus, practice techniques that may already be outdated and may do not allow them to provide the intended service of excellence.

The area of periodontology is not an exception to this trend of continuous update. Consequently, it is of the utmost importance, despite maintaining traditional diagnostic methods, to seek to evolve to specific laboratory tests of biomarkers in order for the diagnosis and control of the disease be as accurate as possible.

The aim of this final assignment is to deepen the study of the mechanism of Reactive C Protein together with Creatine Phosphokinase in the diagnosis of periodontal pathologies.

Keywords: Reactive C Protein, Creatine Phosphokinase, periodontal diagnosis, biomarkers.

Índice

Introdução	13
Desenvolvimento	14
1. Proteína c reativa	14
1.1. Síntese da proteína c reativa	15
1.2 Estrutura da proteína c reativa	18
1.3 Função da proteína c reativa	20
1.4 Sistema imunitário e a PCR	21
1..5 Função biológica	22
1.6 Proteína c reativa como biomarcador	23
2. Creatina fosfoquinase	25
2.1 Síntese da creatina fosfoquinase	27
2.2 Estrutura da creatina fosfoquinase	28
2.3 Função da creatina fosfoquinase	30
2.4 Creatina fosfoquinase como biomarcador	31
3. Doença Periodontal	33
3.1 Gengivite	36
3.2. Periodontite	37
3.4 Diagnóstico Periodontal	39
4.Biomarcadores e relação com o diagnóstico periodontal	42
Conclusão	51

Índice de Figuras

Fig 1- (Mortensen, 2001) Estrutura da PCR humana pentamérica	18
Fig 2- (Black, Kushner, & Samols, 2004) Modelo da interação da PCR com C1q	19
Fig 3- Diferentes mecanismos e funções fisiológicas da proteína c reactiva (adaptado de Paul M Ridker, 2004)	21
Fig 4- (Eppenberger, 1994) reprodução do que terá sido a primeira imagem de isoenzimas de creatina fosfoquinase provenientes de tecidos de coelho	25
Fig 5- (Eppenberger, 1994) representação dos homógenatos de músculo esquelético de rato de diferentes estágios de desenvolvimento no que terá sido uma das primeiras visualizações de homólogos de creatina fosfoquinase	26
Fig 6- (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012): estrutura do monómero de creatina fosfoquinase com representação dos terminais N e C	28
Fig 7- (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012): estrutura dos substratos naturais conhecidos da creatina fosfoquinase	29
Fig 8- (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012): reação á qual a creatina fosfoquinase serve de catalisador	30
Fig 9- (adaptado de Palavra, F. et al., 2015) factores de risco inflamatório, que podem levar a um aumento da produção de PCR	47
Fig 10- Relação de periodontite, obesidade e doenças crónicas presentes na resposta inflamatória (adaptado de Boesing, Patiño, Da Silva, & Moreira, 2009)	49

Índice de Tabelas

Tabela 1- substâncias com capacidade de bio marcação para patologias cardiovasculares (Palavra, Reis, Marado, & Sena, 2015)	24
Tabela 2- classificação das patologias periodontais (Armitage, 1999)	34

Lista de Siglas

C / EBP	Proteína potenciadora de ligação ao facilitador CCAAT
CIPDs	Polineuropatia desmineralizante inflamatória crónica
CK	Creatina fosfoquinase
C1q	Complexo de proteínas do sistema imune
CRP	Proteína C reativa
DAP	Doença arterial periférica
DP	Desvio padrão
FCG	Fluído crevicular gengival
GUN	Gengivite ulcerativa necrosantes
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
H O	Molécula de água
IgA	Imunoglobina A
IgE	Imunoglobina E
IL-6	Interleucina 6
IL-1	Interleucina 1
MMP8	Metaloproteinases da matriz 8
mPCR	Proteína c reactiva em forma de monómero

mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro (rna mensageiro)
PAMPS	Padrões moleculares associados a patógenos
PCH	Fosfocolina
PDD	Profundidade da bolsa periodontal
PL A2	Fosfolipase A2
Poli(A)	Cauda poli A
pPCR	Proteína C reactiva em forma de pentâmero
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões.
PUN	Periodontite ulcerativa necrosante
SAP	Componente amiloide P sérico
snRNPs	Ribonucleoproteínas nucleares de pequena dimensão
STAT3	Transdutor e ativador de transcriptase 3

Introdução

As doenças periodontais são altamente prevalentes e podem afetar até 90% da população mundial. A gengivite, uma das formas de doença periodontal, é causada pelo biofilme bacteriano. A gengivite não afeta as estruturas subjacentes de suporte dos dentes e é reversível. Porém, a periodontite resulta em perda de tecido conjuntivo e suporte ósseo e é uma das principais causas de perda de dentes em adultos. Os micro organismos patogênicos no biofilme, fatores genéticos e ambientais, como o consumo de tabaco, contribuem para esta patologia oral. Formas comuns de doença periodontal têm sido associadas a resultados adversos da gravidez, patologia cardiovascular e diabetes, embora as relações causais não tenham sido ainda estabelecidas (Pihlstrom, Michalowicz, & Johnson, 2005).

Na pratica atual do tratamento periodontal, o diagnostico é realizado primeiramente com base na história clinica médica e dentária do paciente e, posteriormente, cruzada com o exame clinico oral. Todo o conjunto de sinais e sintomas associados à patologia são tidos em conta antes de ser decidido o diagnostico. Em alguns casos pode ser acrescentada informação proveniente de testes laboratoriais para uma melhor decisão clinica (Armitage, 2004).

As respostas do hospedeiro à doença periodontal incluem a produção de diferentes enzimas que são libertadas pelas células epiteliais ou inflamatórias. Existem importantes enzimas associadas à lesão ou necrose celular, como são exemplos: aspartato e alanina amino-transferase, creatina quinase, fosfatase ácida e alcalina, creatina c reativa. Estas alterações na atividade enzimática refletem mudanças metabólicas tanto na gengiva como no periodonto (Kazmi, Iqbal, Bakr, & Iqbal, 2009).

Os biomarcadores desempenham um papel cada vez mais relevante no diagnóstico, e monitorização de resultados de terapia. O principal objectivo dos biomarcadores é permitir a detecção precoce de evolução da doença e avaliar se a terapia em causa está a surtir efeito. Para que os biomarcadores possam assumir um papel legítimo na prática clinica é essencial que a sua relação com o mecanismo de progressão da doença e terapêutica seja melhor compreendida (Taba, Kinney, Kim, & Giannobile, 2005).

Desenvolvimento

1. Proteína C Reactiva

A proteína C reativa (PCR) foi descoberta no laboratório de Oswald Avery 1930, durante um estudo em pacientes com infecções provenientes de *Streptococcus pneumoniae*. Os soros obtidos desses pacientes, durante a fase inicial aguda da doença, demonstraram o ligante ter presente uma proteína que poderia precipitar o polissacarídeo “C” derivado da parede celular do pneumococo (Carbone et al., 2018).

Cerca de quarenta anos depois, Volanakis e Kaplan identificaram um ligando específico para a PCR no polissacarídeo pneumocócico C. Embora a fosfocolina tenha sido o primeiro ligando definido para a PCR, vários outros ligantes foram identificados. Além de interagir com vários ligandos, a PCR pode ativar a via clássica do complemento, estimular a fagocitose e ligar-se a receptores de imunoglobulina (Patel et al., 2018).

Em humanos, os níveis plasmáticos de PCR podem subir de forma abrupta, na ordem das mil vezes, ou mais, superior ao normal, após um estímulo inflamatório agudo, refletindo em grande parte a síntese aumentada pelos hepatócitos. A indução da PCR faz parte de um quadro maior de reexpressão de genes do fígado durante estes estados inflamatórios, a síntese de muitas proteínas plasmáticas estão aumentadas, enquanto que um número menor, como é o exemplo da albumina, está diminuído (K. I. Paraskevas & Mikhailidis, 2008).

Pelo menos 40 proteínas plasmáticas são definidas como proteínas de fase aguda, com base nas alterações da concentração na circulação de pelo menos 25%, após um estímulo inflamatório. Este grupo inclui proteínas de coagulação, fatores de complemento, anti proteases e proteínas de transporte. Estas mudanças têm como propósito contribuir para a defesa ou capacidade adaptativa (Vashist et al., 2016).

A PCR pertence à família das Pentraxinas, também conhecidas como pentaxins. As pentraxinas são uma super família de proteínas, filogeneticamente conservadas de aracnídeos para mamíferos (Wu, Potempa, El Kebir, & Filep, 2015).

O termo pentraxina foi o primeiro atribuído à PCR. Com base na estrutura primária das subunidades, as pentraxinas são divididas em pentraxinas curtas e longas. As Pentraxinas são capazes de reconhecer uma vasta gama de substâncias patogênicas exógenas e moléculas auto alteradas e comportam-se como proteínas de fase aguda (Papaoikonomou et al., 2013).

1.1. Síntese da PCR

O gene PCR, localizado no braço curto do cromossomo 1, contém apenas um intrão, que separa a região que codifica o péptido sinalizador que por consequente codifica a proteína madura (Papaoikonomou et al., 2013).

A indução da PCR nos hepatócitos é regulada principalmente ao nível transcricional pela citocina interleucina-6 (IL-6) e potenciado pela interleucina-1 (IL-1) (Thiele et al., 2015). Tanto a IL-6 como a IL-1 controlam a expressão de muitos genes proteicos de fase aguda através da ativação dos fatores de transcrição (Shadyab et al., 2018).

A síntese extra-hepática da PCR em neurônios foi também referida. Os mecanismos que regulam a síntese nestes locais são desconhecidos, e é improvável que influenciem substancialmente os níveis plasmáticos de PCR (Vashist et al., 2016).

A PCR é sintetizada principalmente no fígado, por hepatócitos de zona 3, em resposta a vários tipos de inflamações, incluindo trauma, inflamação e infecção. A síntese destas proteínas faz parte do mecanismo de resposta de fase aguda. Sendo a PCR um reagente de fase aguda (proteínas que são sintetizadas em quantidades aumentadas durante a resposta de fase aguda). A PCR é considerada uma proteína de fase aguda clássica, alterando os seus valores de concentração no sangue de menos 1 ug / ml até 600-1000 ug / ml, durante o processo de uma resposta de fase aguda. A Interleucina-6 é o estímulo principal para a síntese de PCR, embora os níveis de mRNA também poderem ser influenciados pela interleucina-1, corticosteroides e outras hormonas. A PCR é sintetizada como um pentâmero, a montagem ocorre no retículo endoplasmático, uma característica única da sua síntese é a regulação da secreção (Wu, Potempa, El Kebir, & Filep, 2015).

A PCR no estado de repouso é retida no retículo endoplasmático por ligação a carboxylesterases. Após a síntese, a ligação de PCR a estes locais é diminuída e o tempo de trânsito a partir do retículo endoplasmático para secreção é também significativamente reduzido. O resultado desta secreção aumentada e o alto nível de PCR é registado no sangue pouco tempo depois de um estímulo de fase aguda (Wu et al., 2015).

O tempo de meia-vida plasmática da PCR no organismo é de aproximadamente 19 horas e é idêntico tanto em condições fisiológicas como em situações patológicas. Assim, a PCR plasmática reflete diretamente a taxa a que esta está a ser sintetizada e, consequentemente, a intensidade do processo patológico pelo aumento de produção de PCR (Omran, Maarouf,

Saleh, & Abdelwahab, 2017).

Na sua gênese a PCR é polimórfica, o que significa que se trata de uma substância que se apresenta em duas ou mais fases cristalinas que diferem no arranjo e / ou conformação das moléculas na estrutura. No gene da PCR humana, este fator influencia os níveis básico de PCR plasmática levantando a questão: será que o processo inflamatório pode ser identificado através destas variações genéticas? A resposta a esta questão permitirá auxiliar na prevenção de futura patologia. Por exemplo, o gene do polimorfismo da PCR não parece estar associado ao risco de doença cardiovascular. (Brittain, 2018), contudo outro estudo revela que este pode predispor ao lúpus sistêmico eritematoso (El-Beshbishy, Maria, & Bardi, 2014).

Referimos que a PCR, existe em pelo menos duas formas conformacionais distintas, ou seja, pentâmera nativa PCR (pCRP) e PCR modificada / monomérica (mCRP) (Wu et al., 2015). Estas isoformas ligam-se a recetores e camadas lipídicas distintos, e por consequência exibem propriedades funcionais distintas. A dissociação de PCR nas suas subunidades ocorre dentro do microambiente da inflamação. Assim, a recém-formada PCR pode então contribuir para localizar a resposta inflamatória (Patel et al., 2018).

A evidência científica indica que a PCR possui dois tipos distintos de ações relativamente à inflamação: pró e anti-inflamatória. Verificando-se a ação pró- inflamatório nas células endoteliais; leucócitos e plaquetas que assim contribuem para amplificação da inflamação esta proteína liga-se á fosfocolina presente nas celular necrosadas para que estas possam ser eliminadas. (Vashist et al., 2016).

A expressão do mRNA da PCR e a síntese da pPCR foi também evidenciado a nível renal, nas células musculares lisas endoteliais e vasculares, em monócitos e neutrões (Shadyab et al., 2018).

No entanto, parece improvável que qualquer um destes compostos possa contribuir significativamente para o aumento da concentração em circulação da pPCR. Embora o mPCR seja menos solúvel que o PCR e geralmente associada a tecidos, o mPCR também foi detetado em micropartículas circulantes e no plasma correspondente a pacientes com relatos de enfarte agudo do miocárdio (Kasap, Gönenç, Şener, & Hisar, 2007) . Continua a ser foco de investigação se o mPCR plasmático reflete realmente mPCR associado a micropartículas ou livre (Shadyab et al., 2018) .

Diversos estudos, através de técnicas de deteção imuno-histoquímica, confirmaram a presença de PCR em tecidos inflamados ou lesionados. A título de exemplo, a PCR encontra-se frequentemente localizada em moléculas de LDL oxidadas, complemento C5b-C9 ou clássico; componentes do complemento presente nas lesões das paredes arteriais e macrófagos (Vashist et al., 2016) .

A interpretação destes resultados deve considerar o facto da maioria dos anti- corpos anti PCR presentes no mercado reconhecem tanto a pPCR como a mPCR. Em particular, o anticorpo monoclonal anti-PCR clone 8, que é frequentemente utilizado para a deteção

de PCR nos tecidos, revelou a sua preferência para reconhecer a mPCR e não pPCR (Dür et al., 2016).

Por outro lado, o antígeno mPCR é possível de detetar em tecidos vasculares normais e em superfície de células danificadas e micropartículas. Torna-se relevante ainda o facto de lesões arterioscleróticas humanas apresentarem mancha positiva para mPCR com mais coloração fibro-necróticas do que nas lesões iniciais (Vashist et al., 2016).

A presença do anti-genio mPCR em áreas inflamadas pode representar a sua deposição após a dissociação de pPCR ou alterações conformacionais em pPCR, embora a síntese direta in situ da mPCR não possa ser completamente excluída. Este mecanismo é justificado ainda pela localização de coloração de mPCR em áreas que tiveram resultado positivo para plaquetas ou macrófagos (Wu et al., 2015).

1.2. Estrutura da PCR

A PCR humana é um pentâmero cíclico composto por cinco subunidades idênticas. Estas subunidades são associadas de forma não covalente (Fig. 1), embora a associação não seja reversível em condições fisiológicas normais. Cada uma das subunidades contém duas moléculas de cálcio que estão ligados a uma face do pentâmero. Estes íons de cálcio estão ligados com afinidade moderada e asseguram a estabilidade do pentâmero. A face oposta deste pentâmero apresenta locais para C1q e recetores Fc (Vashist et al., 2016).

O pentâmero é bastante resistente à degradação térmica e enzimática. Esta molécula não sofre qualquer tipo de modificação pós-traducional conhecida, ao contrário do seu membro da família pentaxina mais próxima, a SAP que é glicolisada (Ablj & Meinders, 2002).

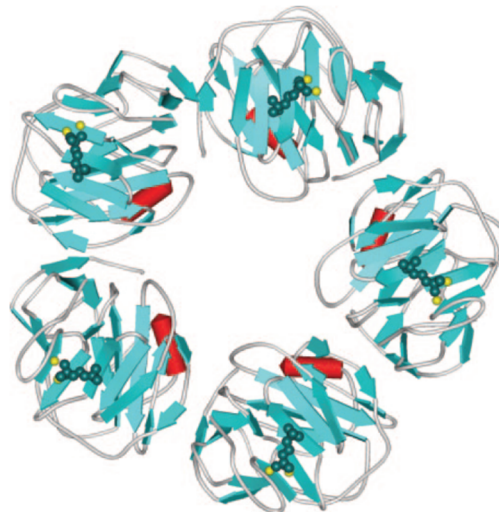


Fig. 1-Estrutura da PCR humana pentamérica (adaptado de Mortensen, 2001)

O termo “pentraxins” tem sido usado para descrever a família de proteínas relacionada com a estrutura da PCR. Cada pentamero foi revelado por cristalografia de raios-x apresentando-se com uma estrutura dobrada em duas folhas antiparalelas com uma topologia jellyroll achatada.

Cada pentamero tem uma face de reconhecimento com um local de ligação para a fosfocolina de dois íons de cálcio coordenados adjacentes a uma zona hidrofóbica. (Patel et al., 2018).

A estrutura cristalina da PCR com fosfocolina sugere que Phe-66 e Glu-81 são os dois resíduos chave que medeiam a ligação da fosfocolina à PCR. (Ironson, Banerjee, Fitch, & Krause, 2018).

Phe-66 fornece interações hidrofóbicas com os grupos metil de fosfocolina, enquanto que o Glu-81 é encontrado no lado oposto no final da região que interage com o nitrogênio da

colina carregado positivamente. A importância de ambos os resíduos foi confirmado por estudos prévios (Ironson et al., 2018).

A ligação do complemento C1q ocorre na fase efetora do pentâmetro. A molécula de PCR apresenta uma fenda no centro do pentâmetro e vários resíduos ao longo dos limites desta região. A estrutura cristalina do domínio da cabeça globular de C1q foi recentemente estudada e proposto um modelo em que o topo da cabeça C1q predominantemente preenchido de cargas positivas interage com o poro central predominantemente negativo da PCR. Neste modelo, que exibe a complementaridade da forma, a cabeça globular do C1q abrange o poro central da PCR e interage com dois dos cinco protômeros do pentâmetro (Fig. 2). Os requisitos estereoscópicos estritos para interação da CRP com a C1q neste modelo implicam que a ligação C1q ideal é acompanhada por ligeiras alterações na conformação estrutural da PCR (Thiele et al., 2015).

Essas alterações conformacionais aparentam diferir dependendo do ligando ao qual a PCR está ligada.

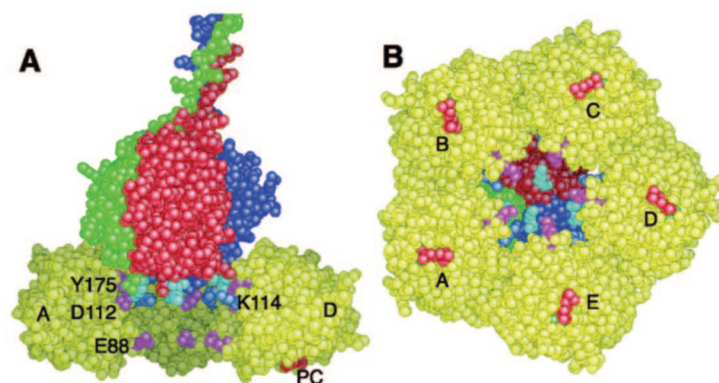


Fig. 2 - Modelo da interação da PCR com C1q (adaptado de Black et al., 2004)

1.3. Função da PCR

A principal função biológica da PCR é determinada pela sua capacidade de reconhecer patogenicias e células danificadas no hospedeiro e mediar a sua eliminação através da ativação do sistema de complemento e células fagocitárias embora esteja presente em muitos outros mecanismo e funções (Fig. 3). O PCH, o principal ligante de PCR, está largamente distribuído em ácidos teicóicos, hidratos de carbono, lipopolissacarídeos capsulares de bactérias e outros microrganismos. A sua presença tem sido relatada em *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre outros (Szalai, Briles, & Volanakis, 1996).

O PCH também está presente na maioria das membranas biológicas como cabeça do grupo polar de lecitina e esfingomiéline. A evidência inicial de PCR para a ligação às membranas celulares foi obtida através de atividades experimentais que demonstram que nos locais de inflamação e necrose o tecido PCR está apenas associado às membranas das células danificadas e necróticas, e não das células normais. Posteriormente, foi demonstrado que a PCR poderia reagir com emulsões da PCH contendo fosfolipídios lecitina e esfingomiéline. Utilizando lipossomas de lecitina e vesículas unilamelares, foi demonstrado que a ligação de PCR para o grupo de cabeça polar PCH de lecitina em bicamadas lipídicas é necessária a adição de concentrações sub-micellar de lisolecitina, um resultado consistente com a exigência anteriormente estabelecida para os danos celulares pela ligação da proteína às membranas celulares em locais inflamatórios. Estas observações foram confirmadas utilizando glóbulos vermelhos: a ligação de PCR foi observada apenas após a adição de concentrações não suficientes para causar a lise celular de lisolecitina ou tratamento das células com a fosfolipase A2 (PLA2). A PLA2 hidrolisa a ligação éster do ácido gordo na posição 2 de lecitina e outros 3-sn-fosfoglicéridos. produzindo lípidos lysophospho sem ocorrer lise dos glóbulos vermelhos (A. Szalai, Agrawal, Greenhough, & Volanakis, 1999).

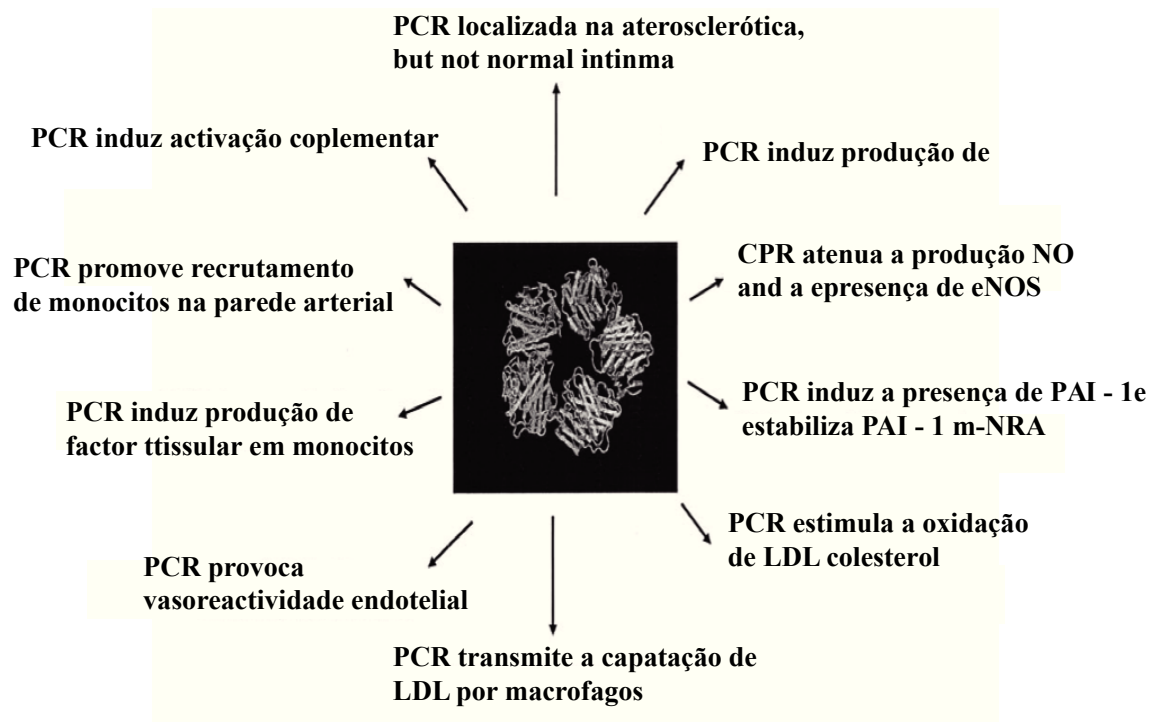


Fig 3- Diferentes mecanismos e funções fisiológicas da proteína c reactiva (adaptado de Paul M Ridker, 2004).

1.4. Sistema Imunitário e PCR

O sistema imunológico humano desenvolve mecanismos de defesa altamente específicos para os diversos patógenos invasores. A maioria das células pertencentes ao processo de defesa imune inato são recetores com reconhecimento de padrão altamente conservados (PRRs) que têm a capacidade de reconhecer agentes patógenos, utilizando padrões moleculares associados a esses mesmos patógenos os (PAMPs) e conseqüentemente, desencadeando uma grande quantidade de mecanismos de remoção de patógenos (Wu et al., 2015).

A família de pentraxina está incluída nas principais proteínas PRR. A proteína C-reativa anteriormente conhecida como a primeira PRR identificada, apresenta-se como um importante biomarcador inflamatório clínico. Conforme anteriormente referido, a PCR é uma proteína de fase aguda positiva cuja concentração plasmática aumenta na presença de patologia inflamatória. O comportamento da PCR varia não só com o grau de inflamação mas também se altera conforme as espécies de organismos. De um conjunto total de mais de 30 proteínas de fase aguda, a PCR e amilóide sérica (SAA) são as únicas duas proteínas cuja concentração poderá aumentar exponencialmente nas primeiras 48 horas da lesão (Thiele et al., 2015).

Os reagentes de fase aguda intervêm em diversas funções biológicas de amplo alcance. Além da PCR, o outro grande APP, a SAA torna-se uma das principais APP, e a sua rápida

ligação ao HDL pode influenciar o metabolismo do colesterol em estados inflamatórios. Foi, igualmente, verificada a grande importância desta APP na adesão e quimiotaxia de células fagocitárias e linfócitos, na inflamação no interior das artérias coronárias ateroscleróticas e na oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Vashist et al., 2016).

Determinados fibrinogênios do tipo APP, como as proteínas do plasma, o ativador de plasminogênio o inibidor tipo 1 (PAI-1) e possivelmente a PCR possuem função pró-coagulante. Esta ação está diretamente relacionada com a formação do abscesso que tem como objetivo isolar os corpos estranhos patogênicos. A PCR e a haptoglobina desempenham funções importantes na cicatrização de feridas (Du Clos & Mold, 2004).

Foi também evidenciado que a PCR partilha muitas propriedades com as imunoglobulinas, como a capacidade de promover a aglutinação, complementar a fixação, encapsulamento bacteriano, fagocitose e precipitação de compostos policatiônico e polianiônico. No entanto, é possível distinguir facilmente a PCR das imunoglobulinas se tivermos em conta a estrutura, de cinco subunidades aparentemente iguais, a antigenicidade, a especificidade de ligação e ainda o seu local de síntese (Matas et al., 2014).

1.5. Função biológica da PCR

A primeira linha de defesa para vários agentes ou partículas são os anticorpos preexistente, imunoglobulinas e as proteínas não-anticorpo presentes no corpo. A PCR pertence ao grupo de proteínas não-anticorpo e está envolvida na primeira linha de imunidade. A PCR, como já referido, compartilha muitas propriedades semelhantes às imunoglobulinas, como a capacidade de promover aglutinação, fixação do complemento, formação de abscesso que visa encapsular as bactérias, fagocitose e ainda a precipitação de compostos policatiônico e polianiônico. No entanto, é facilmente distinguida a nível estrutural (A. J. Szalai, 2002).

A PCR humana relaciona-se a uma ampla gama de ligantes nos quais estão incluídos: tecidos danificados, bactérias diversas e fungos. Os ligantes associados à PCR podem ser divididos em três grupos principais: a) compostos que contêm PC ou estruturas relacionadas; b) compostos de poliaminas e c) carboidratos contendo D-galactose (Wu et al., 2015).

PC é o ligante da PCR que depende totalmente de cálcio. Os restantes ligantes são esfingomielina e os grupos de cabeças polares dos Fosfolipídeos e phosphatidylcholine que se encontram na superfície externa das membranas celulares expostas após a ocorrência de dano (Volanakis, 2001).

A interação entre a PCR lipídica, lipossomas e lipossomas de fosfatidilcolina na presença de lisofosfatidilcolina afeta a bicamada fosfolipídea. Foi também evidenciado que a PCR

apresenta ligação dependente de cálcio e inibição de PC a constituintes eucarióticos, como é o exemplo da cromatina, complexo de DNA (RNA) e proteínas que se encontra dentro do núcleo de células eucarióticas e histonas (H1, H2A e H2B) (Volanakis, 2001).

Estudos evidenciaram a ligação entre a PCR e os lipofosfoglicanos (LPG) , atualmente considerado o principal glico-conjugado de superfície celular na leishmaniose. Através de oligosacarídeos LPG sintéticos e monossacáridos como aminas fosforiladas e carboidratos fosfatados, foi demonstrada a capacidade da PCR reconhecer um grupo patogénico através de uma via carboidratos fosforilado (Wu et al., 2015).

Estando igualmente documentada a capacidade que a PCR tem de se ligar a fatores excretados pela leishmaniose na presença de cálcio, semelhante ao que ocorre entre PCR e vários galactanos mas diferente dos registados nas reações entre os fatores pneumocócitos excretados e a PCR (K. I. Paraskevas & Mikhailidis, 2008).

Estudo recente revelou que a PCR se liga às células apoptóticas. Esta ligação é específica, dependente de cálcio e ocorre apenas na membrana de superfície das células apoptóticas intactas. Estudos cinéticos e conformacionais de microscopia com coloração V sugerem que a PCR se liga a um ligante diferente do snRNPs ou cromatina na superfície das células apoptóticas, mais provável, a lisofosfolipídios em células apoptóticas (Pepys et al., 2012).

1.6. PCR como biomarcador

A quantificação da resposta inflamatória sistémica é essencial para avaliar adequadamente a atividade de doenças com expressão em inflamação. A inflamação é normalmente avaliada pelo nível de fase aguda onde, entre outros, a PCR é uma proteína representante desta fase, sendo considerada um marcador definitivo para inflamação (Saito & Kihara, 2013).

A proteína c reativa foi proposta como um biomarcador sistémico sensível do nível de inflamação, a sua alta concentração está associada à aterosclerose e doenças vasculares. Valores altos de PCR estão também relacionados com morbidade vascular no futuro, acidentes cardiovasculares e cérebro vasculares. Com base nos estudos dos artigos: (Saito & Kihara, 2013) e ao longo de vários estudos longitudinais verificou-se que a maioria dos indivíduos que apresentaram níveis altos de PCR desenvolveram doenças cardíacas isquémicas, acidentes vasculares cerebrais ou doenças artérias periféricas (Saito & Kihara, 2013).

Assim, como marcadores de doença cardiovascular, de entre todo um leque de substâncias (tabela 1) a PCR é uma das principais.

Tabela 1- substâncias com capacidade de bio marcação para patologias cardiovasculares
(Palavra et al., 2015)

Reagentes de fase aguda
Proteína c reativa
Fibrogénios
Amiloide serica A
Citoquinas pró-inflamatórias
Interleucina 1
Fator tumoral alfa
Interferon gama
Ligante CD40/CD40
Citoquinas anti-inflamatórias
Interleucina 4
Transformador de fator de crescimento
Citoquinas adiposas
Moleculas de adesão celular
E-selectin, P-selectin
Quimiocinas
Interleucina 8
Factor inimidor de migração
Quimiotrator de monócitos-1
Moléculas Mediadoras de inflamação
Metaloproteínas de matriz
Mieloperoxidase
Proteínas mielo relacionadas
Glóbulos brancos
Eritropoiese

A associação entre os níveis de PCR, obesidade e síndrome metabólico foi também referido sendo relevante para identificação destes pacientes com risco futuro de acidentes cardiovasculares. (Sharma et al., 2014)

Estudos transversais permitiram verificar que em amostras de adultos portadores de depressão se apresentam níveis aumentados de marcadores, incluindo PCR, TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-2R, quando comparado com os controles. Este aumento confirma a teoria que aponta as citocinas inflamatórias como fator desencadeante de sintomas depressivos. Esta teoria é justificada ainda pelo efeito resultante do tratamento antidepressivo que reduz os níveis séricos de citocinas, IL-6 e PCR (Gümüş, Nizam, Nalbantsoy, Özçaka, & Buduneli, 2014).

2. Creatina Fosfoquinase

Os estudos de Marker e Moller revelaram , pela primeira vez , as isoenzimas ou enzimas com atividade catalisadoras idênticas como complexos multimoleculares. A nomenclatura anteriormente atribuída a estas moléculas não tinha tido em consideração a genética e estrutura destas isoenzimas, pelo que o estudo referido representou uma importante e útil revelação, tendo em conta a grande diversidade de mecanismos biológicos que estão relacionados com as mesmas (Wallimann & Hemmer, 1994).

Uma das enzimas identificada com formas semelhantes e atividades catalisadoras idênticas foi a creatina fosfoquinase (CK) (Rosens, 1978).

Em 1954, a CK começou a ser isolada, purificada e cristalizada a partir do músculo esquelético de coelho, contudo só em 1962 é que os autores Dance e Watts propuseram a hipótese da molécula ativa de CK ser um dímero (Wallimann & Hemmer, 1994).

Ainda nessa década, a CK adquiria um papel importante na deteção de uma patologia com prognóstico reservado com o nome de distrofia muscular de Duchenne (Eppenberger, 1994).

A enzima CK ganhou enorme relevância o que motivou diversos estudos, entre os quais destacamos o da cientista Monika Eppenberger, membro do grupo de Richterich e Aebi da Hospital Universário de Berne, que pela primeira vez isolou as isoenzimas CK (Fig 4) (Eppenberger, 1994) .

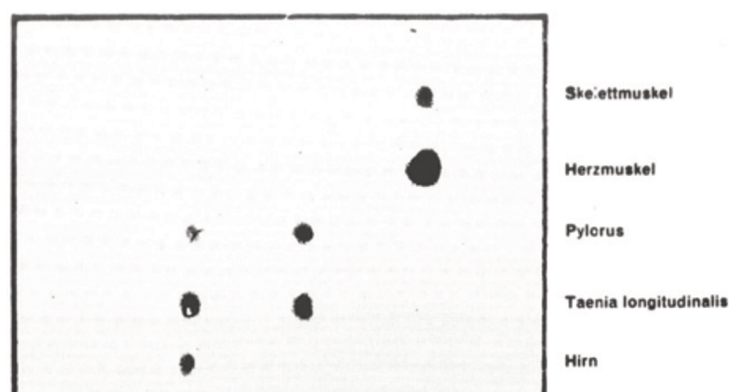


Fig 4 - reprodução do que terá sido a primeira imagem de isoenzimas de creatina fosfoquinase provenientes de tecidos de coelho (adaptado de (Eppenberger, 1994)

Em paralelo foi demonstrado uma alteração distinta entre as isoenzimas Ck no desenvolvimento do rato (fig. 5) Verificado-se a existência de duas subunidades diferentes, que unidas formam um homólogo ou um dímero. Assim, comumente distinguimos a CK utilizando a nomenclatura BB-CK para o dímero da isoenzima comumente encontrado no cérebro e MM-CK para o dímero da isoenzima correspondente ao músculo - esquelético (Eppenberger, 1994) .

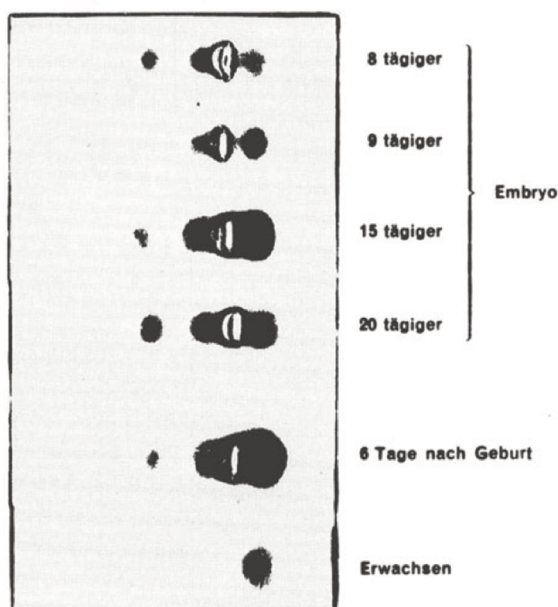


Fig - 5 representação dos homogenatos de músculo esquelético de rato de diferentes estágios de desenvolvimento no que terá sido uma das primeiras visualizações de homólogos de creatina fosfoquinase (adaptado de (Eppenberger, 1994)

Importa referir o facto de que a subunidade BB-CK não é exclusiva das zonas cerebrais, esta subunidade também existe em tecidos não cerebrais ou neuronais, ao contrário da MM-CK que apenas se encontra em tecidos musculares estriados (Wallimann & Hemmer, 1994).

Dado o interesse e importância que esta isoenzima revelou, o estudo da mesma desenvolveu-se. Jacobs et al distinguem mais um subtipo da CK a Mi-CK associada à mitocôndria que foi consequentemente dividida pelo mesmo laboratório em mais duas isoformas: uma específica para o músculo estriado a M e uma outra presente em todas as regiões denominada M (Li et al., 2012).

Estudos posteriores revelaram que o espécime BB-CK através da divisão de um único gene originava duas subespécies, com pontos isoelétricos diferentes, aos quais foi dada a denominação de Ba-CK e Bb-CK (Tsung, 1981).

A partir destes estudos, muitas pesquisas foram realizadas com o intuito de descobrir mudanças nos padrões das isoenzimas CK durante o seu desenvolvimento. Verificou-se a relação entre a transição de isoenzimas e a atividade molecular de diferenciação de células especializadas, conforme o estágio de diferenciação (Li et al., 2012).

Foi necessário esperar 20 anos para que em 1986, Perryman e seus colaboradores conseguissem isolar e sequenciar um cADN correspondente a M-CK. Com o cruzamento desta informação obtida e utilizando uma biblioteca de ADn genômico humano foi assimilado que a M-CK abrange 17,5 kb do genoma humano: oito exões e sete intrões e respectivamente mapeado no cromossoma humano número 19, 19q13.2- q13.3 (Eppenberger, 1994).

Atualmente, é aceite a presença celular de duas subunidades de CK, a cerebral (B) e a muscular (M), estas subunidades originam consequentemente três tipos de isoenzimas sistólicas: CK-MM; CK-BB; CK-MB. Somamos ainda duas isoenzimas de CK mitocondrial em que a tipo 1 pode ainda ser dividida em dois subtipos: M; M (Tsong, 1981).

2.1. Síntese da CK

A creatina quinase (CK), anteriormente conhecida como creatina fosfoquinase, é uma enzima intracelular presente em maior quantidade no músculo esquelético, miocárdio e cérebro; quantidades menores ocorrem em outros tecidos viscerais. O rompimento das membranas celulares devido à hipóxia ou outra lesão libera CK do citosol celular para a circulação sistêmica. Nesta base, níveis séricos elevados de CK têm sido usados como um teste sensível, porém inespecífico, para infarto do miocárdio. A baixa especificidade reflete a onipresença da CK em muitos tecidos além do miocárdio. (Li et al., 2012)

2.2. Estrutura da Creatina Fosfoquinase

A CK sistólica nomeadamente, MM-CK e BB-CK são conservadas na sua própria sequência e quase sempre partilham uma estrutura terciária. A sua estrutura é composta por conjunto de dímeros, cuja cada subunidade é composta por dois domínios: um terminal mais pequeno apenas com hélices em “a” denominado terminal-N e um terminal maior composto por folhas em “b” e estruturas secundárias em hélice “a”. A zona ativa desta enzima encontra-se na fenda formada pelos dois domínios principais (Fig 6.) (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012).

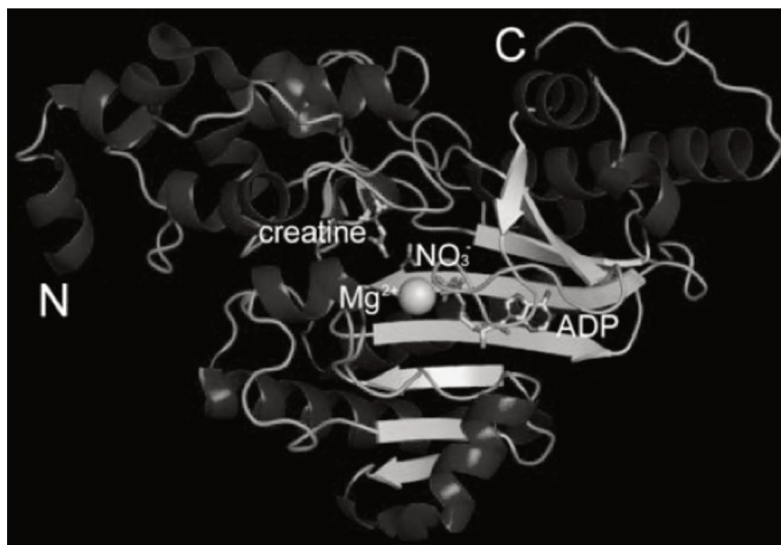


Fig 6- estrutura do monomero de creatina fosfo quinase com representação dos terminais N e C (adaptado de (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012)

A CK é uma enzima de 40 kDa, a sua sequência é idêntica para cerca de 60% de todas as espécies e isoformas. É um membro da família da guanidino quinase fosfatase quinase (ATP-guanidino fosfotransferases) (Eppenberger, 1994).

São diversos os membros desta família, incluindo: a glucocinamina quinase (GK); arginina quinase (AK); taurocianina quinase (TK); hipocalocianina quinase (HTK); linhaça quinase (OK); talassemina quinase (TK) e lombricina cinase (LK). As enzimas, anteriormente referidas, têm sequências primárias relacionadas, mas diferenças na especificidade da guanidina. Para uma melhor visualização dos diferentes substratos apresentamos a imagem (Fig. 7) (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012).

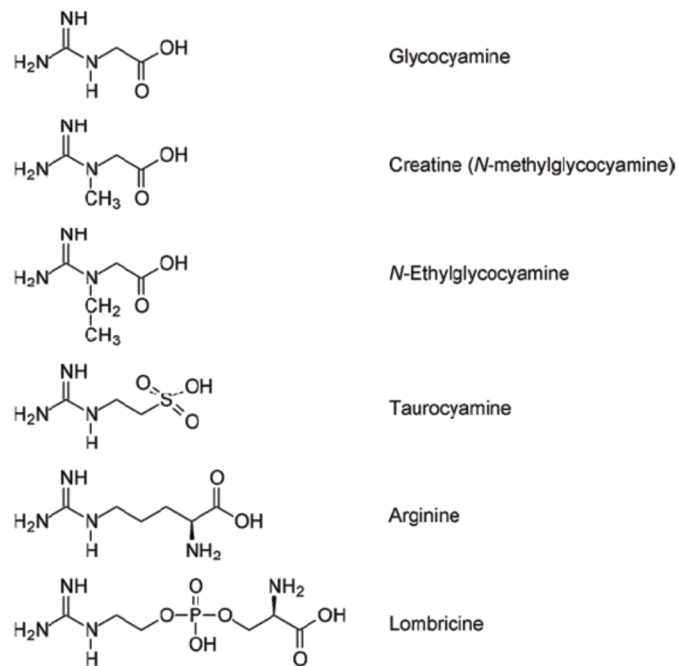


Fig-7: estrutura dos substratos naturais conhecidos da creatina fosfoquinase (adaptado de Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012)

As enzimas CK, AK e GK têm uma especificidade rígida apenas para os seus substratos. A CK é a única encontrada em vertebrados, mas também existe em muitos invertebrados, incluindo esponjas, poliquetas e equinodermes. É possível que a AK seja a fosfatase quinase mais primitiva e que os demais membros da família tenham surgido por duplicação genética, seguida de evolução divergente. Com a presença da CK na mais primitiva de todas, podemos concluir que a divergência de CK do AK ancestral ocorreu no começo do curso da evolução multicelular (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012).

A creatina fosfoquinase é uma enzima citoplasmática, constituída por dois monómeros, sendo as suas ISO enzimas constituídas por dois monómeros CK-MM presentes no músculo; dois monómeros CK-BB predominantes no cérebro, respetivos órgãos e dois monómeros CK-MB predominantes no miocárdio (Henriques, Lélis, & Araújo, 2006).

2.3. Função da CK

Nos seres humanos, a única fosfatase quinase é a creatina fosfoquinase. Esta é responsável pela catalisação reversível do grupo fosfato entre ATP e a creatina (Li et al., 2012).

A Creatina Fosfoquinase tem um importante papel no metabolismo energético, sendo distribuído principalmente em tecidos excitáveis como músculos, cérebro e órgão eletrogêneos. (Wallimann & Hemmer, 1994).

Foi verificado que a ADP produzida pela contração de ATP é resfosforilada na reação da creatina fosfoquinase com o uso da creatina fosfato e é, então, produzido novamente ATP para novos ciclos de contração (Khan, Alhomida, Sobki, Moghairi, & Koronki, 2012). Concluímos, que a energia proveniente das moléculas de creatina fosfoquinase é utilizada na contração muscular através da via ATP-ADP com base na relação próxima entre a creatina fosfoquinase e reações de ATPase myosin. (Vaitla, Munagavalasa, & Vani, 2017). No caso de um tecido muscular, cuja creatina fosfoquinase se encontra inibida, apenas uma pequena fração do ATP total será utilizada, levando à fadiga e perda de resposta ao estímulo ao fim de três a quatro contrações musculares (Laoutidis & Kioulos, 2014).

Assim, podemos afirmar que a creatina quinase catalisa a transferência reversível de um grupo fosforil de MgATP para creatina (Cr), produzindo fosfocreatina (PCr) e MgADP (Fig. 8) (Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012).

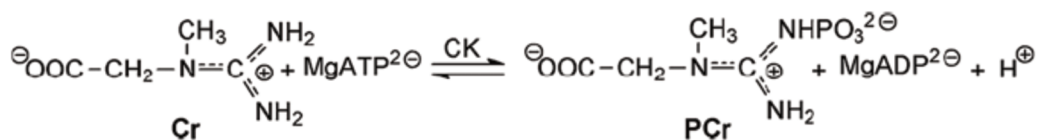


Fig-8: reação á qual a creatina fosfoquinase serve de catalisador (adaptado de Teixeira, Ana Maria; Borges, 2012)

2.4. Creatina fosfoquinase como biomarcador

Devido às suas diversas funções fisiológicas, a Creatina Fosfoquinase tem diversas aplicações clínicas (Li et al., 2012).

Os relatos de doença humana devido a deficiência da creatina fosfoquinase não são significativos (Kazmi et al., 2009) . No entanto, a concentração de creatina fosfoquinase no sangue está associada a enfarte agudo do miocárdio; miosite; miocardite; hipertiroidismo (Tsung, 1981).

O enfarte agudo do miocárdio é a causa de morte com maior prevalência em todo o mundo, tornando o seu diagnóstico prévio muito importante (Mirzaii-Dizgah, Hejazi, Riahi, & Salehi, 2012) . Idealmente, o bio marcador escolhido é a tropamina, caso não seja possível, é utilizado a CK-MB (Horjus, Oudman, van Montfrans, & Brewster, 2011) .Na presença de necrose muscular do miocárdio, é possível detetar um aumento de concentração de algumas proteínas na corrente sanguínea de entre as quais a tropamina e a creatina fosfoquinase (Kazmi et al., 2009).

Devido aos muitos métodos atuais de ensaio em uso, não há valor de referência padrão para a CK do soro. Os valores normais são melhor determinados localmente com base no método usado e nos intervalos para controles saudáveis. Os valores são expressos em unidades internacionais por litro. (Kazmi et al., 2009)

A separação de CK em isoenzimas pode ser realizada por electroforese, cromatografia em coluna ou radioimunoensaio. A maioria dos laboratórios clínicos utiliza eletroforese em gel de agarose ou acetato de celulose combinado com quantificação de bandas por técnicas fluorométricas ou espectrofotométricas. A quantificação também pode ser realizada por eluição das bandas eletroforéticas. Eletroforeticamente CK-BB é mais móvel, CK-MB é intermediário e CK-MM é neutro. (Tsung, 1981)

Como afirmado anteriormente, a determinação dos níveis totais de CK sofre de falta de especificidade. Trauma, cirurgia, doença vascular e doença metabólica do sistema nervoso central podem produzir elevação significativa da CK. Similarmente, várias doenças musculares (como são exemplos, trauma, doença metabólica tal como mixedema, cetoacidose diabética, hipotermia, doença inflamatória tal como polimiosite, e doença degenerativa tal como distrofia muscular de Duchenne) podem elevar os níveis de CK. É de particular importância a elevação da CK com injeções intramusculares, muitas vezes

administradas para dor torácica. (Wallimann & Hemmer, 1994)

Qualquer processo que perturba as membranas cardíacas do sarcolema (por exemplo, miocardite, trauma cardíaco ou cirurgia cardíaca, incluindo biópsia endomiocárdica) pode libertar CK-MB citosólica. Níveis séricos elevados de CK-MB são, portanto, específicos para lesão celular miocárdica, mas não para enfarto agudo do miocárdio.

Após o início dos sintomas do enfarte do miocárdio, o aumento da CK e CK-MB no soro dentro de 3 a 6 horas; os níveis de pico ocorrem entre 16 e 30 horas. A CK-MB desaparece do soro a uma taxa mais rápida que a CK. Por exemplo, a CK-MB retorna ao normal em 24 a 36 horas, enquanto os níveis elevados de CK podem ser detectados por até 60 horas. Esta “janela” determina que a CK e a CK-MB devem ser determinadas o mais rapidamente possível após o início dos sintomas e repetidas várias vezes nas primeiras 48 horas. Os níveis máximos de CK-MB variam de 15 a 30% do total de CK pós-infarto. (Mayr et al., 2011)

A magnitude do enfarto pode ser estimado pela construção de uma curva de tempo-atividade de aparência, pico e desaparecimento da atividade de CK e / ou CK-MB pelo uso do modelo matemático de Roberts, Henry e Sobel (1985). A validade desse método foi confirmada pela demonstração da congruência do tamanho do enfarto anatômico e do valor estimado. Essa metodologia tem sido utilizada de forma intervencionista na redução do tamanho do enfarto, mas não foi clinicamente empregada.

A CK entra no espaço vascular por meio de drenagem venosa e linfática cardíaca após a ruptura das membranas celulares. Acredita-se que a remoção do pool de sangue seja pelo sistema reticuloendotelial, o que pode explicar a capacidade de alguns medicamentos em aumentar os níveis de CK, prolongando o tempo de semi-vida da CK. (Kruse et al., 2014)

Após terapia trombolítica, o pico de liberação de CK e CK-MB ocorre várias horas antes e em maiores quantidades conforme a magnitude do enfarte, ao contrário dos pacientes tratados convencionalmente. Acredita-se que este fenômeno resulte da “lavagem” da enzima por reperfusão. Que tem sido usado como um marcador não invasivo de reperfusão após trombólise intravenosa. (Willerson et al., 1977)

Estudos recentes procuram verificar a possibilidade de utilizar a creatina fosfoquinase como método de diagnóstico salivar através da relação de concentração entre os valores sanguíneos e os presentes na saliva. Foi detetada a correlação positiva nos valores de CK Mb encontrados na saliva de pacientes com enfarte agudo do miocárdio por comparação a pacientes sem qualquer história de necrose em tecidos cardíacos, confirmando o potencial

da saliva como método de diagnóstico (Mirzaii-Dizgah et al., 2012).

A concentração elevada de creatina fosfoquinase no sangue está diretamente relacionada com processos inflamatórios. No caso tanto da miosite como da miocardite, estas patologias têm a inflamação como um dos fatores associados. (Horjus et al., 2011).

No estudo (Vaitla et al., 2017) foi verificado que em comparação ao grupo de controle, pacientes com hipertireoidismo apresentavam valores diminuídos de concentração de CK, ao contrário de pacientes com hipotireoidismo com valores mais altos de concentração, concluindo, assim, que a concentração de creatina fosfoquinase tem uma relação inversa com as doenças de tireoide.

3. Doença Periodontal

É essencial um sistema de classificação que possa fornecer uma estrutura base permitindo estudar cientificamente a etiologia, patogênese, e tratamento de doenças de forma ordenada. Além disso, este tipo de sistemas dão aos médicos uma forma de organizar as necessidades de cuidados de saúde dos seus pacientes. A última vez que cientistas e clínicos no campo de periodontologia e áreas afins acordaram um sistema de classificação para doenças periodontais foi em 1989, no primeiro Workshop de Periodontia Clínica. Posteriormente, uma classificação mais simples foi acordada no primeiro Workshop Europeu em Periodontologia. Estes sistemas de classificação têm sido amplamente utilizados por clínicos e investigadores em todo o mundo.

Infelizmente, a classificação de 1989 tinha muitas deficiências, incluindo: 1) considerável sobreposição nas categorias de doenças; 2) ausência da componente da doença gengival; 3) ênfase inadequada na idade de início da doença e taxas de progressão; e 4) inadequação ou critérios de classificação pouco claros. À classificação europeia de 1993 faltava o detalhe necessário para uma caracterização adequada do amplo espectro de doenças periodontais encontradas na prática clínica. A necessidade de um sistema de classificação revisto acerca das patologias periodontais foi enfatizada durante o ano de 1996 no Workshop em Periodontia. Em 1997, a Academia Americana de Periodontologia respondeu a essa necessidade e formou um comitê, sendo um dos objetivos planejar e organizar um workshop internacional para rever o sistema de classificação de doenças periodontais. O processo envolveu o desenvolvimento de um esboço para uma nova classificação pelo Comitê Organizador. (Armitage, 1999)

Os revisores foram encorajados a partir de um esboço preliminar propor alterações. Nos dias 30 de outubro a 2 de novembro de 1999, a Oficina de Classificação de Doenças e Condições Periodontais foi realizada e uma nova classificação foi acordada (tabela 2) (Armitage, 1999).

I Patologias gengivais

- A. Patologias gengivais associadas à placa dentária
1. gengivite associada apenas a placa bacteriana
 - a. Sem outros fatores locais
 - b. Com presença de fatores locais (ver VIII A)
 2. Patologia gengival modificada por fatores sistêmicos
 - a. Associado a fatores sistêmicos
 - 1) Gengivite associada à puberdade
 - 2) Gengivite associada aos ciclos menstruais
 - 3) Associada à gravidez
 - a) Gengivite
 - b) Granuloma piogénico
 - 4) Gengivite associada a diabetes
 - b. Associado a dicrasias sanguíneas
 - 1) Gengivite associada a leucemias
 - 2) Outras
 3. Patologia gengival modificada por medicação
 - a. Patologia gengival influenciada por consumo de estupfacientes
 - 1) Hiperplasia gengival associada ao consumo de estupfacientes
 - 2) Gengivite influenciada por consumo de estupfacientes
 - a) Gengivite associada a contraceptivos orais
 - b) Outros
 4. Patologia gengival associada a má nutrição
 - a. Gengivite associada a falta de ácido ascórbico
 - b. Outros
- B. Lesões gengivais sem ligação a placa bacteriana
1. Patologia gengival de origem bacteriana específica
 - a. Lesões associadas a *Neisseria gonorrhoeae*
 - b. Lesões associadas a *Treponema pallidum*
 - c. Lesões associadas a streptococcal
 - d. Outras
 2. Lesões gengivais de origem viral
 - a. Infecção pelo hiper vírus
 - 1) Gengivostomatites herpética primária
 - 2) Herpes oral recorrente
 - 3) Infecções por varicel
 - b. Outros
 3. Patologia gengival de origem fungica
 - a. Infecções por espécies candida
 - 1) Candidíase gengival generalizada
 - 2) Eritrema gengival linear
 - 3) Histoplasmose
 - 4) Outras
 4. Lesões gengivais de origem genética
 - a. Fibromatose gengival hereditária
 - b. Outra
 5. Manifestações gengivais de condições sistêmicas
 - a. Patologias muco-cutâneas
 - 1) Líquen plano
 - 2) Penfigoide
 - 3) Pemfigus vulgaris
 - 4) Eritrema multifome
 - 5) Lupus hertiematoso
 - 6) Induzido por fármacos
 - 7) Outros
 - b) Reações alérgicas
 - 1) Materiais restauradores dentários
 - a) Mercurio
 - b) Níquel
 - c) Acrílico
 - d) Outros
 - 2) Reações atribuídas a:
 - a) Dentífricos
 - b) Elixíres\c) pastilha elástica
 - d) Alimentos
 - 3) Outros
 6. Lesões traumáticas
 - a. Lesão química
 - b. Lesão física
 - c. Lesão térmica
 7. Reação de corpo estranho
 8. Não especificado

II Periodontite crónica

- A. Localizada
- B. Generalizada

III Periodontite agressiva

- A. Localizada
- B. Generalizada

IV Periodontite de manifestação de patologia sistémica

- A. Associado a patologias hematológicas
 1. Neutropenia adquirida
 2. Leucemia
 3. Outro
- B. Associado a fatores genéticos
 1. Neutropenia cíclica e familiar
 2. Síndrome de down
 3. Leukocyte adhesion deficiency syndromes
 4. Síndrome de adesão leucocitária
 5. Síndrome Chediak-Higashi
 6. Síndrome de Histiocitose
 7. Patologia associada à acumulação de glicogénio
 8. Agranulocitose infantil genética
 9. Síndrome de Cohen
 10. Síndrome de Ehlers-Danlso Tipo IV e Viii)
 11. Hipofosfatase
 12. Outros
- C. Não especificados

V Patologia periodontal necrosante

- A. Gengivite ulcerativa necrosante
- B. Periodontite ulcerativa necrosante

VI Abscesso no periodonto

- A. Abscesso gengival
- B. Abscesso periodontal
- C. Abscesso periocornal

VII Periodontite associada a lesões endodónticas

- A. Lesão endo-perio

VIII Desenvolvimento de deformidades e condições

- A. Fatores localizados relacionados com o dente que modificam ou predispoem para: Patologia gengival ou periodontite induzida por placa bacteriana
 1. Fatores anatómicos dentários
 2. Restaurações dentárias
 3. Fraturas radiculares
 4. Reabsorção cimentária
- B. Deformações muco gengivais dentárias
 1. Reseção gengival
 - a. Superfícies linguais ou vestibular
 - b. interproximal (papila)
 2. Defice de gengiva queratinizada
 3. Diminuição de profundidade vestibular
 4. Posição anormal de freio ou músculo
 5. Hiperplasia gengival
 - a. Pseudo-bolsas
 - b. margem gengival inconsistente
 - c. Excesso gengival
 - d. Aumento gengival (I.A e I.B.4.)
 6. Cor alterada
- C. Deformações muco gengivais em margens endentuladas
 1. Deficiencia marginal horizontal e vertical
 2. Falta de gengiva ou tecido queratinizado
 3. Aumento de tecidos moles
 4. Posição anormal de freio ou músculos
 5. Diminuição da profundidade vestibular
 6. Cor alterada
- D. Trauma oclusal
 1. Trauma oclusal primário
 2. Trauma oclusal secundário

Tabela 2: classificação das patologias periodontais (Armitage, 1999)

Os progressos atuais acerca da Classificação de Doenças e Condições Periodontais e relacionadas à peri-implantite. O workshop foi copatrocinado pela American Academy of Periodontology (AAP) e Federação Europeia de Periodontologia (EFP) e incluiu participantes especialistas de todo o mundo. (Jepsen et al., 2018)

O planeamento para esta conferência, realizada em Chicago de 9 a 11 de novembro de 2017, começou no início de 2015. (Jepsen et al., 2018)

Um comitê organizador constituído pela AAP e EFP encomendou 19 artigos de revisão e quatro relatórios de consenso, cobrindo áreas relevantes em periodontologia e implantologia. Os autores foram encarregues de atualizar a classificação de patologias periodontais e desenvolver um esquema semelhante para patologias peri-implantares. Revisores e grupos de trabalho também foram solicitados a estabelecer definições de casos pertinentes e fornecer critérios de diagnóstico para auxiliar os clínicos no uso da nova classificação. Todas as descobertas e recomendações do workshop foram acordadas por consenso. (Jepsen et al., 2018)

Contudo, neste trabalho com objetivo de compreender melhor os mecanismos de diagnóstico periodontal e o papel dos bio marcadores no mesmo, focámo-nos mais no mecanismo da patologia e a sua relação com a inflamação e, por sua vez nos seus bio marcadores, abordando, principalmente as condições patológicas, ou seja, a gengivite; a gengivite ulcerativa necrosante; a periodontite crónica; a periodontite agressiva e periodontite ulcerativa necrosante.

3.1. Gengivite

A gengivite é uma patologia oral que normalmente se caracteriza por inflamação da gengiva, com sangramento e dor. Existem diversas causas para o estabelecimento desta enfermidade, entre as quais podemos destacar a gengivite originada pela presença de placa bacteriana, gengivite de origem hormonal (pubertária e gravídica), gengivite mediada por fármacos, gengivite ulcerativa necrosante. (Investigation & Diagnosis, 1966).

No diagnóstico da gengivite, existem alguns fatores a ter em conta como o índice de placa e índice gengival, onde são verificados a presença de placa e a hemorragia presente nas quatro superfícies de cada dente (vestibular, lingual, mesial e distal); hemorragia à sondagem; avaliação do estado de saúde geral do paciente; possível medicação como fator desencadeante desta patologia e fatores de risco, como o tabagismo (Magán-fernández, Valle, Abadía-, Muñoz, & Francisco, 2018).

A gengiva inflamada pode apresentar-se com aspeto avermelhado, aumento de tamanho e pode estar presente sangramento espontâneo ou ao toque (Magán-fernández et al., 2018).

A gengivite pode ser considerada uma pré-condição para a periodontite, embora nem todos os casos progridam para periodontite, nem é possível identificar os casos que evoluíram para periodontite. A hemorragia é frequentemente o primeiro e único sintoma perceptível pelos pacientes até se instalar a mobilidade dentária (Preshaw & Bissett, 2013).

A gengivite ulcerativa necrosante (GUN) é uma forma típica de doença periodontal. Tem uma apresentação clínica com características distintivas de rápido início de necrose gengival interdental, dor gengival, sangramento e halitose. Sintomas sistémicos como linfadenopatia e mal-estar também podem ser encontrados. Existem vários fatores predisponentes, como stress, nutrição deficiente e disfunções do sistema imunológico, especialmente no caso de indivíduos seropositivos para o HIV, que parece desempenhar um papel importante na patogénese da GUN (Jandial, Mishra, Panda, & Lad, 2018).

Atualmente, o diagnóstico da GUN é realizado exclusivamente com base nas características clínicas. Podemos dividir as características clínicas da GUN em essenciais e não essenciais (Jandial et al., 2018)

Essenciais: lesões dolorosas; úlceras gengivais, crateriformes da papila interdentária que podem envolver a gengiva marginal. Não essenciais: “pseudomembrana” que cobre as áreas ulceradas; hálito fétido; febre; mal-estar; linfadenopatia submandibular e cervical.

Para um correto diagnóstico da GUN, temos que ter presente todas as características essenciais, embora a falta de características não essenciais não exclua o diagnóstico da mesma (Magán-fernández et al., 2018).

3.2. Periodontite

As doenças periodontais apresentam-se como a segunda principal causa de perda dentária em populações de adultos no mundo. A periodontite leve e moderada afeta a maioria dos adultos, sendo que a periodontite severa ocupa o lugar de sexta patologia mais predominante no mundo, aumentando gradualmente com a idade, com picos de prevalência na terceira e quarta décadas de vida (Lang, Suvan, & Tonetti, 2015) .

Relatórios de desenvolvimento atribuem à periodontite uma parte cada vez mais importante na futura perda dentária, não só como consequência do declínio da dominância de cárie dentária, mas também devido ao ligeiro aumento na prevalência da periodontite (Jepsen et al., 2018) .

A gravidade da doença é o resultado de um balanço das interações bactéria-hospedeiro condicionado ainda por fatores hereditários e ambientais em indivíduos predispostos. O curso natural da periodontite resulta em perda dentária com sequelas na mastigação e fala (Könönen & Müller, 2014) .

Esta patologia está ainda relacionada com condições sistémicas, como pneumonia por aspiração, diabetes, acidente vascular cerebral ou parto prematuro. A periodontite está fortemente relacionada com os aspetos socioeconómicos e variáveis comportamentais incluindo exposição a fatores de risco e práticas de higiene oral (Mark A. Reynolds, 2014).

A periodontite apresenta-se como uma inflamação do tecido periodontal de suporte: gengiva, cimento, ligamento periodontal e osso. É caracterizada pela perda de inserção do ligamento periodontal e destruição do tecido ósseo-alveolar adjacente. (Piazza, 2013)

A periodontite pode ser patologicamente dividida em: periodontite crónica, agressiva e periodontite ulcerativa necrosante (Papantonopoulos, Takahashi, Bountis, & Loos, 2013).

A periodontite crónica é classificada conforme a sua gravidade: ligeira (menos de 3 mm de perda de inserção clínica); moderada (entre 3 a 4 mm de perda de inserção clínica) e severa (mais de 5 mm de perda de inserção clínica). Pode ainda ser considerada como

periodontite localizada, em casos em que menos de trinta por cento dos locais estão afetados ou periodontite generalizada, quando mais de trinta por cento dos locais estão contaminados. (Albandar, 2014).

Esta patologia está associada a diversos padrões bacterianos. Trata-se de uma patologia que embora possam ser registados períodos de evolução rápidos, a sua principal característica reside numa taxa de progressão lenta a moderada (Salminen et al., 2014) A periodontite crónica tem como uma das suas principais características o facto da destruição presente estar de acordo com os fatores locais. (GI, 2016)

Clinicamente apresenta inflamação gengival indolor, mobilidade dentária de progressão lenta, no raio x é possível detetar defeitos ósseos angulares ou horizontais e alargamento do espaço do ligamento periodontal. (Albandar, 2014)

A periodontite agressiva é caracterizada pela rápida perda de aderência e destruição óssea, podendo ser classificada em localizada (afetando primeiros molares e incisivos) ou generalizada (afetando primeiros molares, incisivos e pelo menos mais 3 dentes permanentes), ao contrário da periodontite crónica, a quantidade de depósitos bacterianos é inconsistente com o grau de gravidade presente nos tecidos periodontais.

A tendência de hereditariedade desta patologia tem sido referenciada, estando também frequentemente associada à infeção por *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* (George Hajishengallis, 2015).

Foram registados alterações funcionais dos neutrófilos e resposta deficiente dos anticorpos aos agentes agressores. (Kudo et al., 2012)

A periodontite ulcerativa necrosante é considerada uma patologia de progressão rápida e severa que se expressa através de um eritema na gengiva livre, aderida e mucosa alveolar instalando-se uma extensa necrose do tecido mole acompanhada de perda de inserção periodontal (Novak, 1999).

Segundo a bibliografia consultada (Novak, 1999) este tipo de lesões é mais comum em indivíduos imunodeprimidos e sistemicamente comprometidos, como é o exemplo de portadores de HIV e má nutrição severa.

A periodontite ulcerativa necrosante não está referenciada como um seguimento da gengivite ulcerativa necrosante, não sendo direta a necessidade de diagnóstico para PUN em pacientes portadores de GUN, especialmente se os pacientes em causa não forem portadores de HIV e sistemicamente saudáveis (Jandial et al., 2018).

A periodontite como patologia oral tem vários fatores etiológicos, que podem ser divididos em fatores determinantes; predisponentes e modificadores. Os fatores determinantes tem que estar presentes para que a patologia ocorra. Os fatores predisponentes interferem direta ou indiretamente promovendo na progressão da doença. Os fatores modificadores alteram o curso natural da doença podendo piorar ou melhorar o prognóstico, estes podem ser locais, ambientais ou sistêmicos. (Piazza, 2013)

3.3. Diagnostico Periodontal

Ao longo do tempo, as teorias da etiologia das doenças periodontais tem se vindo a alterar com base nos estudos mais recentes e nos meios disponíveis para estudar e conhecer a mesma. (Albandar, 2014)

A hipótese atualmente aceite baseia-se no conjunto de 3 vertentes: presença de patógenias específicas presentes na zona sub-gengival; a resposta imunológica do organismo e a suscetibilidade específica do paciente. (Albandar, 2014)

Os estudos sobre o processo de destruição de inserção periodontal têm relacionado esta patologia com a invasão bacteriana da barreira epitelial ou por resposta imunológica deficiente crónica por parte do hospedeiro. (Badran et al., 2015)

Os mecanismos de destruição dos tecidos periodontais estão associados a uma resposta imunológica exacerbada. (Albandar, 2014).

A periodontite, a par de outras doenças periodontais, é controlada por meio de estratégias adequadas envolvendo tanto o paciente como os clínicos, contudo a prevenção é a base da saúde periodontal. A falta de conhecimento por parte das populações tem sido relatada como a razão mais frequente para o insucesso do tratamento periodontal na comunidade. A falta de conhecimento sobre a doença resulta no atraso no tratamento que, geralmente se inicia em estádios avançados, exigindo abordagens complexas, resultando em piores prognósticos. (Kassebaum et al., 2014)

O diagnóstico periodontal é realizado após um exame clínico e radiológico longo e metódico. Para o efeito, devem ser recolhidas informações de presença ou não de sinais clínicos de inflamação; sangramento após sondagem; profundidade de sondagem; perda de inserção clínica e óssea; historial clínico e médico; presença de outros sinais e sintomas incluindo dor, ulceração quantidade de placa presente. (GI, 2016)

O exame clínico periodontal avalia os parâmetros clínicos de higiene oral através do

índice de placa e índice gengival onde são verificados a placa e o sangramento presentes nas quatro superfícies de cada dente (vestibular, lingual, mesial e distal). São, igualmente, avaliados também os parâmetros clínicos de profundidade de sondagem e sangramento, após a mesma em seis regiões de cada dente (mesio-vestibular, vestibular, disto vestibular, mesio-lingual, lingual e dito-lingual) (George Hajishengallis, 2015).

Existem, ainda, exames laboratoriais que podem ser feitos em consultório para recolher mais informação no diagnóstico periodontal. Como o exemplo do exame de índice glicêmico, estando a diabetes diretamente relacionada com doença periodontal, conforme referido no estudo de (Preshaw & Bissett, 2013).

Como método auxiliar de diagnóstico periodontal são frequentemente utilizados bio marcadores, neste caso inflamatórios e kits de identificação e quantificação de bactérias presentes na cavidade oral. (Salminen et al., 2014)

O número coletivo de espécies bacterianas que foram detetadas em amostras orais por análises de microbiomas com base no ADN excede 700 espécies. Este número inclui um grupo central de espécies que estão presentes em praticamente todos os seres humanos e um grupo de espécies que estão presentes de forma variável (Könönen & Müller, 2014). Os colonizadores iniciais da cavidade bucal dos recém-nascidos são adquiridos a partir do canal do parto, do leite materno e da cavidade oral materna. Estes colonizadores iniciais incluem bactérias, como lactobacilos, bifidobactérias e estreptococos, que são estimulados no crescimento por componentes do leite materno. Podemos desta forma afirmar que o método de alimentação afeta o microbioma oral do bebê. A importância do parto é evidenciada pela observação de que o *Streptococcus mutans* foi adquirido quase 1 ano antes em bebês nascidos por cesariana em comparação com bebês que nasceram de parto via vaginal (Gupta, Khan, & Bansal, 2015)

Postula-se que o desenvolvimento pré-natal da tolerância ao microbioma da mãe durante a gravidez seja um fator importante na aquisição bem-sucedida do microbioma normal pelo bebê (Aas, Paster, Stokes, Olsen, & Dewhirst, 2005)

Nas primeiras 6 semanas de vida, a microbiota infantil sofre uma reorganização. A sua estrutura e função são significativamente expandidas e diversificadas. Parâmetros ambientais, como pH, oxigênio e disponibilidade de nutrientes, variam com os diferentes locais na cavidade oral. Assim, muitos nichos diferentes são estabelecidos e podem ser ocupados por grupos particulares de organismos com diferentes características funcionais.

De acordo com dados de identificação no ADN, os estreptococos e espécies de *Veillonella* são os membros mais abundantes do microbioma bucal em bebês com 6 semanas de idade. Alterações fisiológicas subsequentes do ambiente local como resultado da erupção dos dentes, puberdade e gravidez afetam a proporção relativa entre os membros do microbioma oral específica de cada pessoa (G. Hajishengallis, 2014)

As mudanças referidas promovem a aptidão e a sobrevivência. Para além da diversidade observada ao nível da espécie, muitas bactérias orais estão presentes como numerosos clones distintos que mostram flutuações proporcionais aparentemente não relacionadas com as respostas imunitárias em si, mas sim impulsionadas pela competição específica da estirpe. Além disso, diferentes indivíduos carregam clones distintos. Embora pertencendo à mesma espécie, esses clones podem ter capacidades diferentes de produção de ácidos e por essa razão levar a valores de pH oral diferentes (Aas et al., 2005).

Os diversos estudos filogenéticos de comunidades inteiras baseadas em sequências de RNA ribossomal permitem apenas definir a composição da comunidade e não compreender o nível de tensão fisiológica bacteriana, como a produção de ácido (Aas et al., 2005)

Conforme a bibliografia (Könönen & Müller, 2014) é possível relacionar a quantidade de *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi) e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) e o grau de gravidade da doença periodontal. A utilização de kits de análise e identificação destas bactérias, são indicadores úteis para o diagnóstico, prognóstico e sugestibilidade de periodontite. Como é o exemplo do BANA-enzimatic test(tm) Kit (ensaio imuno absorvente para identificar proteases bacterianas).

Com a presença exacerbada de corpos bacterianos característico da doença periodontal, aumenta também a libertação de compostos sulfurosos voláteis responsáveis pela halitose característica das doenças periodontais, podendo esta ser utilizada também como auxiliar no diagnóstico periodontal pelo olfato do médico dentista ou com ajuda de equipamentos de quantificação de gases sulfurosos presentes como são exemplo o Halimeter ou o Oral Chroma (Author, 2018)

Na presença de doença periodontal estabelecida no paciente, é possível verificar, devido a leucocitose presente, um aumento da concentração sérica de citocinas pro-inflamatórias: sendo as mais relevantes: interleucina-1; interleucina-6; prostaglandinas; factor de necrose tumoral.

Consideramos então que as citocinas pro-inflamatórias anteriormente referidas são bio marcadores séricos da periodontite, pois servem de iniciadores do processo inflamatório presente na mesma (Salminen et al., 2014) .

O valor da proteína C reativa de referência considerado normal é inferior a: 0,3mg/dl. Valores entre 0.3 e 1 mg/dl podem sugerir inflamação leve. Valores de proteína C reativa superiores a 1 mg/dl são alertas de inflamação grave. (Chamberlain et al., 2018)

Diversos estudos, como é o exemplo (Salminen et al., 2014) referenciam a presença salivar destes bio marcadores.

Na monografia final de Licenciatura em Ciências da Saúde Queiroga analisou a PCR salivar em quatro grupos com características diferentes (Queiroga, M., 2015): obesidade; gengivite; obesidade e gengivite e um grupo de controlo aparentemente saudável.

No grupo gengivite o resultado obtido foi mais alto que o resultado das amostras de controlo, justificando assim a ligação da PCR com a inflamação. De referir que quando comparado com o estudo Shojaee et al (2013), os valores obtidos foram mais altos, na ordem dos 6000 pg/ml, contudo esta diferença pode ser justificada pelos diferentes graus de inflamação correspondentes a diferentes graus de gengivite.

A amostra do grupo obesidade foi compatível com os valores obtidos na bibliografia consultada. O grupo de obesidade com gengivite obteve uma média de 12015 pg/mg, sendo o grupo com valores mais altos registados, confirmando a relação tanto da obesidade como da gengivite com a concentração de PCR e a sua possível relação cumulativa. (queiroga, M., 2015)

4. Bio marcadores e relação com a doença periodontal

A periodontite, conforme referido, pertence a um grupo de doenças inflamatórias que afetam a relação entre o osso e o tecido conetivo e de suporte em torno dos dentes. É aceite que a iniciação e a progressão da periodontite depende da presença de microrganismos virulentos, embora as bactérias sejam consideradas os agentes iniciadores da patologia. A resposta do hospedeiro a esta infeção patogénica é fundamental para a progressão da doença. Após o seu início, a doença progride com a perda de fibras de colágeno afetando a fixação à superfície cementária, levando a uma possível migração apical do epitélio juncional, formação de bolsas periodontais que podem desencadear fenómenos de reabsorção do osso alveolar. Se não for aplicado qualquer tipo de tratamento ou seguimento, a doença continua com a destruição progressiva do osso, levando à mobilidade dentária e subsequente perda dentária (Preshaw & Bissett, 2013).

O principal objetivo do diagnóstico periodontal é fornecer informações úteis ao clínico relativamente ao tipo, localização e gravidade da doença periodontal do paciente. Estas informações servem como base, não só, para o planeamento do tratamento mas, para fornecer dados essenciais durante a manutenção periodontal e fases de manutenção (Savage, Eaton, Moles, & Needleman, 2009).

As vantagens dos métodos de diagnóstico mais tradicionais usados em clínica, como por exemplo, análise da profundidade de sondagem, hemorragia na sondagem, níveis clínicos de fixação, índice de placa e radiografias para avaliação do nível de osso alveolar, reside na facilidade da sua aplicação, para além da sua positiva relação custo- benefício e, ainda, o facto de regra geral serem relativamente pouco invasivos. Contudo, estes procedimentos diagnósticos tradicionais são altamente limitados na medida em que avalia apenas a história da doença, e não o estado atual da doença. (Gl, 2016)

As leituras clínicas relativas à perda de inserção por meio de uma sonda periodontal e as avaliações radiográficas da perda óssea alveolar permitem medir apenas os danos de episódios passados de destruição e requer um limiar de 2 a 3 mm de diferença até que se possa considerar que estamos na presença de processos anatómico significativos. (Cimbaljevic et al., 2015).

Avanços na pesquisa diagnóstica de patologias orais e periodontais estão evoluir para métodos pelos quais os riscos periodontais possam ser identificados e quantificados através de biomarcadores (Almerich-Silla et al., 2015)

Existem várias questões-chave sobre a tomada de decisão clínica atual: de que forma o médico dentista pode avaliar o risco para doença periodontal? Quais são os métodos laboratoriais e clínicos úteis para avaliação de risco periodontal? E, ainda, o que pode ser alcançado pelo controle da doença periodontal usando um perfil de risco? (Lang et al., 2015).

Os fatores de risco são considerados modificadores da atividade da doença. A não associação com suscetibilidade do hospedeiro e uma variedade de condições locais e sistémicas, podem influenciar a iniciação e progressão da periodontite e sucessivas alterações nos biomarcadores. Os biomarcadores da doença em sucessão têm vindo a assumir um papel cada vez determinante no diagnóstico e monitorização dos resultados da terapia. O desafio é que os biomarcadores permitam a deteção precoce da evolução da doença e das medidas mais eficazes na terapia destas mesmas patologias. Para que os biomarcadores possam assumir o seu papel legítimo na prática do dia a dia é essencial para que a sua relação com

o mecanismo de progressão da doença e a intervenção terapêutica seja bem compreendida (Lang et al., 2015).

Verifica-se, portanto, a necessidade de desenvolver novos testes diagnósticos que permitam detectar a presença de doença ativa, prever a progressão futura e avaliar a resposta da terapia. O diagnóstico de fases ativas da doença periodontal e a identificação de pacientes com risco para doença ativa representam desafios para investigadores clínicos e profissionais. Artigos como (Salminen et al., 2014) revelam avanços no diagnóstico de doenças baseadas em biomarcadores que permitem a identificação da doença periodontal ativa a partir de placa bacteriana, fluido crevicular gengival e saliva, como é o exemplo da CK que se apresenta como futuro candidato biomarcador de patologias peredontais a par de cardiovasculares.

O aumento de fluxo sanguíneo, de permeabilidade e o influxo de células (neutrófilos e monócitos-macrófagos) do sangue periférico para a margem gengival, característicos da gengivite, são responsáveis pelo aparecimento de células T e B no local de infeção. Estas células produzem uma infinidade de citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α e imunoglobulinas como uma resposta específica do antígeno. Inicialmente, a degradação do tecido é limitada a células epiteliais e fibras de colágeno do tecido conjuntivo. Posteriormente, o processo inflamatório pode atingir o tecido de suporte periodontal, levando a uma possível reabsorção (Valkanova, Ebmeier, & Allan, 2013).

O fluido crevicular gengival (FCG) tem sido objeto de diversas investigações, com o intuito de melhor compreender a capacidade de resposta do hospedeiro. O FCG tem na sua constituição uma mistura de moléculas presentes no sangue, tecido hospedeiro e placa bacteriana, como eletrólitos, proteínas, citocinas, anticorpos, antígenos bacterianos e enzimas (Pradeep, Kumari, Kalra, & Priyanka, 2013).

As célula hospedeiras e enzimas derivadas, tais como metaloproteinases de matriz (MMPs), são um importante grupo de proteinases neutras implicadas no processo destrutivo da doença periodontal que pode ser medido no FCG. Os neutrófilos são as principais células responsáveis pela liberação de MMP no local inflamado, especificamente MMP-8 (colagenase-2) e MMP-9 (gelatinase-B) (Gupta et al., 2015)

Embora a MMP-8 seja capaz de degradar potencialmente o colágeno intersticial, a MMP-9 degrada várias proteínas da matriz extracelular. O estudo de Kinane et al e Mantyla et al apresentaram a possibilidade de utilização de um teste rápido aplicável em consultório, baseado na deteção imunológica de MMP-8 elevado no FCG com o intuito de diagnosticar e monitorizar o curso e tratamento da periodontite. Com um limiar de 1 mg /L MMP-8, o

teste forneceu uma sensibilidade de 0,83 e especificidade de 0,96, demonstrando, assim, o seu potencial valor como uma ferramenta para diferenciar periodontite de gengivite, identificar regiões saudáveis e monitorizar o tratamento da mesma. (Gupta et al., 2015)

Em resposta aos efeitos quimioatrativos dos lipopolissacarídeos bacterianos, os macrófagos e leucócitos polimorfonucleares são ativados, produzindo importantes mediadores de inflamação, a TNF- α , IL-1, IL-6 e outras citocinas relacionadas não só com a resposta do hospedeiro, mas também com a destruição celular. (Assuma, Oates, Cochran, Amar, & Graves, 1998)

Os investigadores Holmlund et al levaram a cabo pesquisas na atividade da reabsorção óssea; IL-1 α ; IL-1 β e nos níveis de recetores antagonistas no FCG, em locais sem sinais de doença periodontal, comparando-os com locais com perda óssea periodontal horizontal ou angular. As quantidades de IL-1 α , IL-1 β e recetores antagonistas de IL-1 no FCG foram quantificados pelo kit ELISA, observando-se que os níveis de atividade de reabsorção óssea, IL-1 α , IL-1 β e recetores antagonistas de IL-1 foram significativamente maiores no FCG de locais afetados por periodontite, quando comparados com regiões saudáveis, embora não estejam diretamente relacionados com a morfologia dos defeitos (Valkanova et al., 2013)

A gravidade da periodontite está associada a aumentos locais da IL-1 β , TNF- α , prostaglandinas (como prostaglandina E2) e MMPs,; enquanto que a quando da inibição destas substâncias apontam para reduções substanciais no desenvolvimento da doença periodontal (Assuma et al., 1998)

No estudo (Assuma et al., 1998) , especificamente para a IL-1 e TNF, o bloqueio local destas proteínas num modelo de periodontite em macacos revelou reduções na perda óssea, evidenciando o importante papel destes mediadores na doença periodontal.

Os estados avançados de lesões periodontais são povoados por uma grande proporção de linfócitos B, plasmócitos e níveis aumentados de imunoglobulinas no FCG (Pradeep et al., 2013)

Plombas et al, investigaram o FCG e a saliva total de pacientes com periodontite comparando-os com adultos periodontalmente saudáveis, verificando a presença de anticorpos IgA e IgG para *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* , e *Fusobacterium nucleatum*. Ao comparar estes valores com pacientes saudáveis, o FCG de pacientes com periodontite apresentava níveis significativamente

mais altos de anticorpos IgA e IgG para os quatro microorganismos testado.

Os patógenos Gram-negativos, *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* estão presentes na resposta imune e inflamatória do hospedeiro na doença periodontal. *Porphyromonas gingivalis* produz a maior proteína proteolítica por peptidases, elastases, proteases semelhantes a tripsina e collagenases, que pode ser monitorizado por análise do FCG. No estudo de Figueredo et al, foi comparada a elastase e atividade do colagênio no FCG, antes e após o tratamento periodontal, não cirúrgico. Este estudo permitiu verificar melhorias nos parâmetros clínicos após a terapia, sendo esta acompanhada por uma redução significativa nos valores da elastase, elastase livre, MMP-8 e atividade colagenolítica na gengivite e locais de periodontite ativa (Gupta et al., 2015).

O FCG é veículo de múltiplos fatores moleculares derivados da resposta do hospedeiro e é, por isso, considerado um mecanismo protetor significativo na infecção periodontal. Estes fatores de resposta do hospedeiro representam importantes mediadores que podem auxiliar no desenvolvimento de um correto diagnóstico periodontal (Badran et al., 2015).

Sendo um biomarcador ou marcador biológico, de acordo com a definição mais recente, uma substância que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica, podemos considerar que a saliva o FCG, fluídos facilmente coletados e que contém marcadores locais e sistemicamente derivados da doença periodontal, podem oferecer a base para uma avaliação biomarcadora específica do paciente para periodontite e outras doenças sistêmicas. (Palavra et al., 2015)

Devido à natureza não invasiva e simples de sua coleta, a análise da saliva e do FCG pode ser especialmente benéfico na determinação do estado periodontal atual e um meio de monitorização da resposta ao tratamento. Diversos estudos evidenciaram a determinação de mediadores inflamatórios em fluídos biológicos como bons indicadores de atividade inflamatória. Neste sentido, estudos relacionados à patogênese das doenças periodontais relacionam os marcadores bioquímicos e imunológicos na saliva ou FCG de forma a aferir a extensão da periodontite, destruição e possivelmente prever a progressão futura da doença. (Salminen et al., 2014)

Os biomarcadores de fluídos orais, objeto de estudo para diagnóstico periodontal, para além dos referidos anteriormente, incluem ainda proteínas de hostorigina (ou seja, enzimas e imunoglobulinas), marcadores fenotípicos, células hospedeiras, hormonas, bactérias,

produtos bacterianos e íons (Salminen et al., 2014) .

Nos estudos mais recentes, a proteína c reativa e a interleucina 6 têm vindo a tornar-se mais relevantes na medicina atual devido à sua associação a doenças cardiovasculares e outros fatores de risco inflamatório (Fig 9) (Valkanova et al., 2013)

A relação entre estes marcadores inflamatórios e doenças periodontais tem vindo a ganhar a sua importância, pois os marcadores de risco cardiovascular têm como base a etiologia inflamatória sistémica que atualmente está relacionada com o leque de doenças periodontais. (Almerich-Silla et al., 2015)

Tendo em conta esta relação entre doença periodontal, risco cardiovascular e os seus biomarcadores comuns, o estudo (Delange et al., 2018) sugeriu a possibilidade de doenças crónicas orais, como é o exemplo da periodontite, possam promover a entrada de bactérias na corrente sanguínea e por conseguinte, promover a formação de ateromas.

Este estudo (Delange et al., 2018) propôs-se investigar se a presença de doença periodontal em populações jovens desencadeia um aumento dos biomarcadores para risco cardiovascular. Os resultados indicaram que a periodontite moderada está associada a valores aumentados de interleucina 6, os níveis de PCR estão de acordo com a bibliografia até à data, tendo em conta a sua relação tanto com a doença periodontal como com o risco cardiovascular. Contudo, os autores evidenciam a necessidade de estudos com maiores amostras para melhor compreender a relação entre a PCR e IL-6 e a doença periodontal.

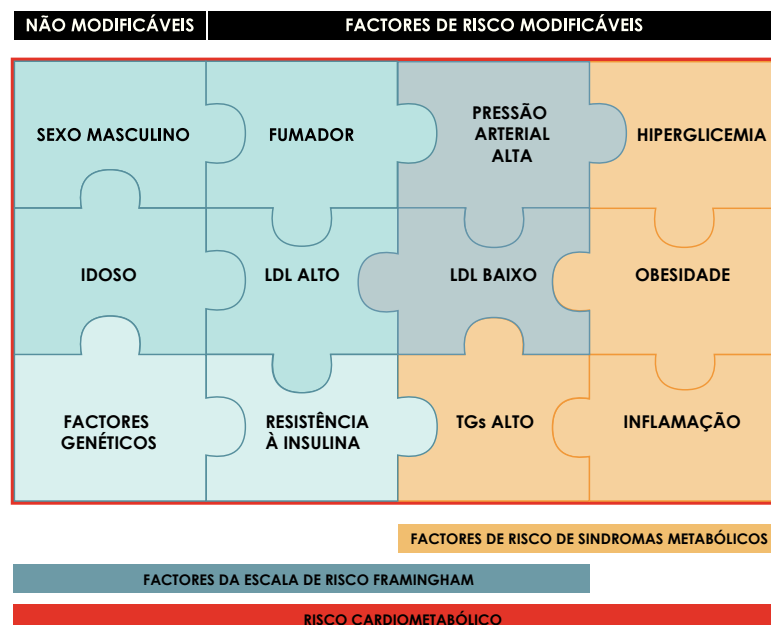


Fig 9- fatores de risco inflamatório, que podem levar a um aumento da produção de PCR (adaptado de Palavra, F. et al., 2015)

Existem agora vários relatórios que indicam a possibilidade da bacteriemia poder ocorrer com frequência em pacientes com periodontite, como é o exemplo do estudo de Forner et al. 2006. O organismo responde a uma bacteremia de curto período de vida e à citocina sistêmica levando a uma periodontite latente com lesões de maneira semelhante, o que surge no caso infecções crônicas ou outros processos inflamatórios, como são os exemplos, de níveis elevados de interleucina-6 (IL-6), conhecido por induzir hepatócitos para produzir PCR e outras proteínas de fase aguda, pro-coagulantes, mediadores também foram associados a pacientes com periodontite.

Assim, não é surpreendente que na periodontite as mudanças celulares e moleculares (Fig 10). dos componentes sanguíneos tenham sido observadas. As mudanças sanguíneas associadas à periodontite são bastante modestas e quando presentes podem não ser consideradas de valor clinicamente anormal. (Valkanova et al., 2013) ;(forner et al. 2006).

Na revisão sistemática (S. Paraskevas, Jd, &Bg, 2008) ficou demonstrado a convincente evidência de que a PCR é consistentemente elevada em pacientes com periodontite em comparação com controles saudáveis. Análogo à hipótese de que algumas doenças infecciosas e doenças inflamatórias podem ser associadas a DCV, é concebível que os níveis PCR cronicamente elevados em pacientes com periodontite exacerbam processos inflamatórios em curso, lesões ateroscleróticas, risco de eventos cardiovasculares e cerebrovasculares. Níveis elevados de PCR (maior que 2,1 mg/l) estão associados a uma maior incidência de trombose aguda, acidente vascular cerebral e enfarte no miocárdio. Indivíduos saudáveis com níveis elevados de PCR (maior que 2.1 mg/l) podem estar associados a estados pró-coagulantes crônicos, podendo estes servir como marcadores para um aumento risco a longo prazo de DCV.

Embora os Estudos de tratamento a longo prazo que avaliam o efeito do tratamento periodontal nos valores de PCR em relação a controles sejam escassos, demonstram um efeito nos níveis de PCR a favor do tratamento periodontal (Yamazaki et al. 2005; (Ide et al. 2003).

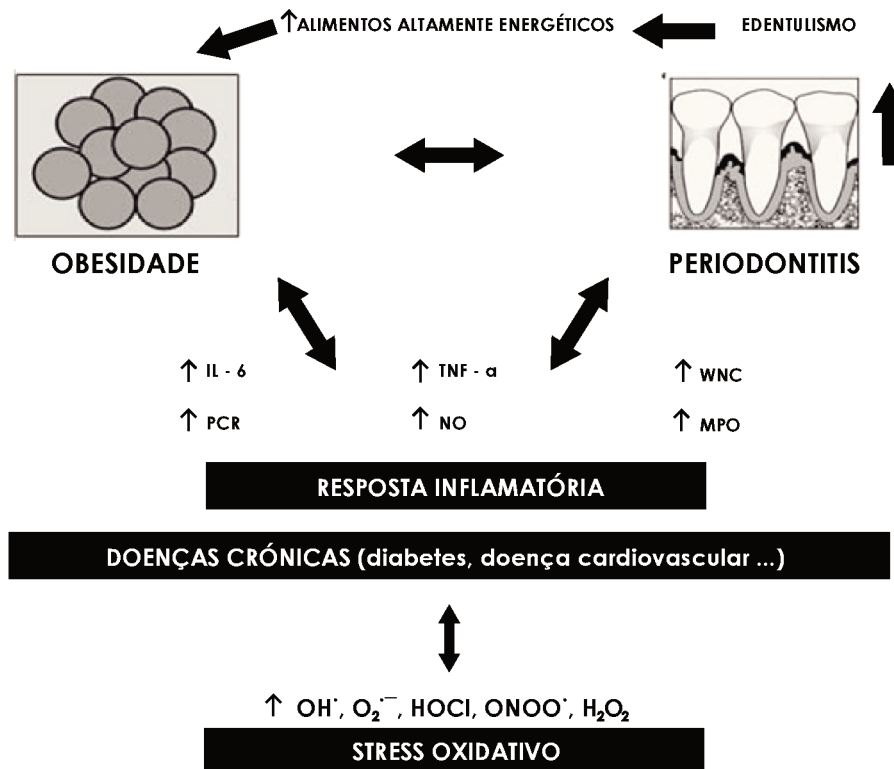


Fig 10- Relação entre obesidade e periodontite. O excesso de tecido adiposo secreta citocinas pró-inflamatórias, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6), induzindo ainda a proliferação de leucócitos. Levando a um aumento de outros marcadores importantes da resposta inflamatória, como a Proteína C-reativa (CRP), óxido nítrico (NO) e mieloperoxidase (MPO). A hiperinflamação observada na periodontite pode ser induzida pela altos níveis de citocinas secretadas pelo tecido adiposo, enquanto a periodontite promove um aumento nos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias, que são diretamente envolvidas na manifestação de outras doenças crônicas, como a diabetes e doenças cardiovasculares. (adaptado de Boesing, Patifeo, Da Silva, & Moreira, 2009)

É necessário enfatizar que a PCR é um marcador não específico da resposta de fase aguda. Isto é, muitos estímulos potenciais, incluindo infecções crônicas (desconhecidas) e/ou condições inflamatórias, tabagismo, obesidade e trauma, também podem induzir aumentos moderados na PCR, torna legítimo especular que a periodontite, além de outros fatores e infecções relatadas na literatura, resultará em níveis moderadamente elevados de PCR e talvez em parte, através deste reagente de resposta de fase aguda pode contribuir para um maior risco de DCV (Ide et al. 2003).

Conclusão

No âmbito da Licenciatura em Ciências da Saúde, realizei o trabalho “Doseamento da proteína C Reactiva Salivar” (2015), tive nesse contexto oportunidade de estudar diversos mecanismos presentes no diagnóstico periodontal através de bio-marcadores.

Foi-me possível compreender alguns mecanismos presentes no diagnóstico periodontal através de bio-marcadores. Neste sentido, interessou-me estudar o que justificava todos aqueles resultados e assim dei início a esta monografia que visa compreender a importância e função da PCR e a CK no diagnóstico periodontal.

De referir que tendo em conta o objectivo de estudar os diversos mecanismos das patologias periodontais optamos por abordar a gengivite; GUN; periodontite crónica; periodontite agressiva; e a PUN.

Atualmente, na área de medicina, é cada vez mais importante prever a patologia de modo a evitar o seu aparecimento e, caso se manifeste, que sejam tomadas medidas o mais rápido possível de modo a permitir o melhor prognóstico possível. Assim, torna-se cada vez mais importante para o médico dentista estar a par do maior número possível de avanços quer na área do tratamento quer na área de diagnóstico.

Foi possível, após este trabalho, melhor compreender a função da PCR e da CK no organismo; forma como interagem com o mesmo e o porquê da sua utilização como bio-marcadores de diversas patologias que permitiu concluir que ambas têm potencial para futuramente serem utilizadas como bio-marcadores de patologias periodontais e, assim, contribuírem para um avanço no diagnóstico periodontal.

Relativamente à periodontologia, é inegável o avanço que se tem produzido e que em muito tem contribuído para a prevenção e tratamentos praticados. Podemos afirmar que é essencial este investimento, quer por parte dos clínicos, quer por parte dos investigadores e que deverá continuar para que se possa aproveitar da melhor maneira todos os possíveis bio-marcadores do organismo.

Bibliografia

Aas, J. a, Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721>

Ablij, H. C., & Meinders, A. E. (2002). C-reactive protein: History and revival. *European Journal of Internal Medicine*, 13(7), 412–422. [https://doi.org/10.1016/S0953-6205\(02\)00132-2](https://doi.org/10.1016/S0953-6205(02)00132-2)

Albandar, J. M. (2014). Aggressive periodontitis: Case definition and diagnostic criteria. *Periodontology 2000*, 65(1), 13–26. <https://doi.org/10.1111/prd.12014>

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. <https://doi.org/10.1155/2015/653537>

Armitage, G. C. (1999). Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.1902/annals.1999.4.1.1>

Armitage, G. C. (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 34, 9–21. <https://doi.org/10.1046/j.0906-6713.2002.003421.x>

Assuma, R., Oates, T., Cochran, D., Amar, S., & Graves, D. T. (1998). Experimental Periodontitis Inflammatory Response and Bone Loss in IL-1 and TNF Antagonists Inhibit the IL-1 and TNF Antagonists Inhibit the Inflammatory Response and Bone Loss in Experimental Periodontitis. *J Immunol References*, 160, 403–409. <https://doi.org/papers3://publication/uuid/9E057C99-203D-4E86-9CE9-50389CCCF767>

Author, H. C. (2018). INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH ADVANCED DIAGNOSTIC AIDS FOR ORAL MALODOUR DETECTION - A REVIEW Periodontics Sneha Purushottam Nayak * Sushma Das, (5), 72–75.

Badran, Z., Struillou, X., Verner, C., Clee, T., Rakic, M., Martinez, M. C., & Soueidan, A. (2015). Periodontitis as a risk factor for systemic disease: Are microparticles the missing link? *Medical Hypotheses*, *84*(6), 555–556.

<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.02.013>

Black, S., Kushner, I., & Samols, D. (2004). C-reactive protein. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(47), 48487–48490. <https://doi.org/10.1074/jbc.R400025200>

Boesing, F., Patiño, J. S. R., Da Silva, V. R. G., & Moreira, E. A. M. (2009). The interface between obesity and periodontitis with emphasis on oxidative stress and inflammatory response: Obesity Comorbidities. *Obesity Reviews*, *10*(3), 290–297. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2008.00555.x>

Brittain, H. G. (2018). *Mid-Infrared Spectroscopy of Pharmaceutical Solids. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology* (1st ed., Vol. 43). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2017.12.002>

Carbone, F., Nulli Migliola, E., Bonaventura, A., Vecchié, A., De Vuono, S., Ricci, M. A., Lupattelli, G. (2018). High serum levels of C-reactive protein (CRP) predict beneficial decrease of visceral fat in obese females after sleeve gastrectomy. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *1*–7. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2018.01.014>

Chamberlain, S. R., Cavanagh, J., de Boer, P., Mondelli, V., Jones, D. N. C., Drevets, W. C., Bullmore, E. T. (2018). Treatment-resistant depression and peripheral C-reactive protein. *The British Journal of Psychiatry*, *1*–9. <https://doi.org/10.1192/bjp.2018.66>

Cimbaljevic, M. M., Spin-Neto, R. R., Miletic, V. J., Jankovic, S. M., Aleksic, Z. M., & Nikolic-Jakoba, N. S. (2015). Clinical and CBCT-based diagnosis of furcation involvement in patients with severe periodontitis. *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)*, *46*(10), 863–870. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a34702>

Delange, N., Lindsay, S., Lemus, H., Finlayson, T. L., Kelley, S. T., & Gottlieb, R. A. (2018). Periodontal disease and its connection to systemic biomarkers of cardiovascular disease in young american Indian/Alaskan natives. *Journal of Periodontology*, *89*(2), 219–227. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0319>

Du Clos, T. W., & Mold, C. (2004). C-reactive protein: An activator of innate immunity

and a modulator of adaptive immunity. *Immunologic Research*, 30(3), 261–277. <https://doi.org/10.1385/IR:30:3:261>

Dür, M., Steiner, G., Stoffer, M. A., Fialka-Moser, V., Kautzky-Willer, A., Dejaco, C., ... Stamm, T. A. (2016). Initial evidence for the link between activities and health: Associations between a balance of activities, functioning and serum levels of cytokines and C-reactive protein. *Psychoneuroendocrinology*, 65, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.12.015>

El-Beshbishy, H. A., Maria, R. A., & Bardi, F. A. (2014). Biochemical and C-reactive protein alterations in myocardial infarction periodontitis patients. *American Journal of the Medical Sciences*, 348(3), 181–185. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0000000000000253>

Eppenberger, H. M. (1994). A brief summary of the history of the detection of creatine kinase isoenzymes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 133–134(1), 9–11. <https://doi.org/10.1007/BF01267944>

Gl, T. (2016). O estado atual e os avanços no diagnóstico da doença periodontal e da cárie dentária, 70(4), 358–362.

Gümüş, P., Nizam, N., Nalbantsoy, A., Özçaka, Ö., & Buduneli, N. (2014). Saliva and Serum Levels of Pentraxin-3 and Interleukin-1 β in Generalized Aggressive or Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 85(3), e40–e46. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130281>

Gupta, A., Khan, S., & Bansal, N. (2015). Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Frontiers of Medicine*, 9(1), 72–76. <https://doi.org/10.1007/s11684-014-0347-x>

Hajishengallis, G. (2014). The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular Oral Microbiology*, 29(6), 248–257. <https://doi.org/10.1111/omi.12065>

Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 15(1), 30–44. <https://doi.org/10.1038/nri3785>

Henriques, S., Lélis, M., & Araújo, J. N. (2006). Biomarcadores cardíacos nas síndromes coronárias agudas. *Artigos de Revisão*, 13.

Horjus, D. L., Oudman, I., van Montfrans, G. A., & Brewster, L. M. (2011). Creatine and creatine analogues in hypertension and cardiovascular disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (11). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005184.pub2>

Investigation, B., & Diagnosis, O. (1966). Experimental gingivitis in man, 1–13.

Ironson, G., Banerjee, N., Fitch, C., & Krause, N. (2018). Positive emotional well-being, health Behaviors, and inflammation measured by C-Reactive protein. *Social Science and Medicine*, 197, 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2017.06.020>

Jandial, A., Mishra, K., Panda, A., & Lad, D. (2018). Necrotising Ulcerative Gingivitis : A Rare Manifestation of Pseudomonas Infection. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. <https://doi.org/10.1007/s12288-018-0927-z>

Jepsen, S., Caton, J. G., Albandar, J. M., Bissada, N. F., Bouchard, P., Cortellini, P., ... Yamazaki, K. (2018). Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*, 45(March), S219–S229. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12951>

Kasap, S., Gönenç, A., Şener, D. E., & Hisar, İ. (2007). Serum Cardiac Markers in Patients with Acute Myocardial Infarction: Oxidative Stress, C-Reactive Protein and N-Terminal Probrain Natriuretic Peptide. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 41(1), 50–57. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.2007007>

Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. L., & Marcenes, W. (2014). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: A systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research*, 93(11), 1045–1053. <https://doi.org/10.1177/0022034514552491>

Kazmi, K. A., Iqbal, S. P., Bakr, A., & Iqbal, M. P. (2009). Admission creatine kinase as a prognostic marker in acute myocardial infarction. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 59(12), 819–822. Adquirido em <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=20201171>

Khan, H. a, Alhomida, A. S., Sobki, S. H., Moghairi, A. Al, & Koronki, H. El. (2012). Blood cell counts and their correlation with creatine kinase and C-reactive protein in patients

with acute myocardial infarction. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 5(1), 50–55. Adquirido em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3272686&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Könönen, E., & Müller, H. P. (2014). Microbiology of aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, 65(1), 46–78. <https://doi.org/10.1111/prd.12016>

Kruse, J. M., Enghard, P., Schröder, T., Hasper, D., Kühnle, Y., Jörres, A., & Storm, C. (2014). Weak diagnostic performance of troponin, creatine kinase and creatine kinase-MB to diagnose or exclude myocardial infarction after successful resuscitation. *International Journal of Cardiology*, 173(2), 216–221. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.02.033>

Kudo, C., Naruishi, K., Maeda, H., Abiko, Y., Hino, T., Iwata, M., ... Takashiba, S. (2012). Assessment of the plasma/serum IgG test to screen for periodontitis. *Journal of Dental Research*, 91(12), 1190–1195. <https://doi.org/10.1177/0022034512461796>

Lang, N. P., Suvan, J. E., & Tonetti, M. S. (2015). Risk factor assessment tools for the prevention of periodontitis progression a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(S16), S59–S70. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12350>

Laoutidis, Z. G., & Kioulos, K. T. (2014). Antipsychotic-induced elevation of creatine kinase: A systematic review of the literature and recommendations for the clinical practice. *Psychopharmacology*, 231(22), 4255–4270. <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3764-2>

Li, C., Zhang, Q., Hu, W. J., Mu, H., Lin, Z., Ma, L., ... Zhou, H. M. (2012). Effect of SNPs on Creatine Kinase Structure and Function: Identifying Potential Molecular Mechanisms for Possible Creatine Kinase Deficiency Diseases. *PLoS ONE*, 7(9), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045949>

Magán-fernández, A., Valle, F. O., Abadía-, F., Muñoz, R., & Francisco, P. P. (2018). Characterization and comparison of neutrophil extracellular traps in gingival samples of periodontitis and gingivitis : A pilot study, (July), 1–7. <https://doi.org/10.1111/jre.12621>

Mark A. reynolds. (2014). Modifiable risk factors in periodontitis : at the intersection of aging and disease, 64(81), 7–19.

Matas, A. J., Gillingham, K. J., Payne, W. D., Najarian, J. S., Pepys, M. B., Hirschfield, G.

M., Lakkis, F. G. (2014). Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques. *Circulation*, *366*(8), 857–859. <https://doi.org/10.1172/JCI200318921>. Introduction

Mayr, A., Mair, J., Klug, G., Schocke, M., Pedarnig, K., Trieb, T., ... Metzler, B. (2011). Cardiac troponin T and creatine kinase predict mid-term infarct size and left ventricular function after acute myocardial infarction: A cardiac MR study. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *33*(4), 847–854. <https://doi.org/10.1002/jmri.22491>

Miguel Queiroga. (n.d.). comparação dos valores séricos e sanguíneos da Potina C reactiva., 1–50.

Mirzaii-Dizgah, I., Hejazi, S. F., Riahi, E., & Salehi, M. M. (2012). Saliva-based creatine kinase MB measurement as a potential point-of-care testing for detection of myocardial infarction. *Clinical Oral Investigations*, *16*(3), 775–779. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0578-z>

Mortensen, R. F. (2001). C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunologic Research*, *24*(2), 163–176. <https://doi.org/10.1385/IR:24:2:163>

Novak, M. J. (1999). Necrotizing Ulcerative Periodontitis. *Annals of Periodontology*, *4*(1), 74–77. <https://doi.org/10.1902/annals.1999.4.1.74>

Omran, A., Maarooif, A., Saleh, M. H., & Abdelwahab, A. (2017). Salivary C-reactive protein, mean platelet volume and neutrophil lymphocyte ratio as diagnostic markers for neonatal sepsis. *Jornal de Pediatria*, *94*(1), 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2017.03.006>

Palavra, F., Reis, F., Marado, D., & Sena, A. (2015). *Biomarkers of cardiometabolic risk, inflammation and disease. Biomarkers of Cardiometabolic Risk, Inflammation and Disease.* <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16018-4>

Papantonopoulos, G., Takahashi, K., Bountis, T., & Loos, B. G. (2013). Mathematical Modeling Suggests That Periodontitis Behaves as a Non-Linear Chaotic Dynamical Process. *Journal of Periodontology*, *84*(10), e29–e39. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.120637>

Papaoikonomou, S., Tousoulis, D., Tentolouris, N., Papadogiannis, D., Miliou, A., Hatzis, G., ... Stefanadis, C. (2013). The role of C-reactive protein genetic variability in the onset

of carotid artery disease and renal function impairment in patients with diabetes mellitus type 2. *International Journal of Cardiology*, 168(4), 4331–4332. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.05.087>

Paraskevas, K. I., & Mikhailidis, D. P. (2008). C-reactive protein (CRP): more than just an innocent bystander? *Current Medical Research and Opinion*, 24(1), 75–78. <https://doi.org/10.1185/030079908X253654>

Paraskevas, S., Jd, H., & Bg, L. (2008). A systematic review and meta-analyses on C-reactive protein in relation to periodontitis, (Cvd), 277–290. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01173.x>

Patel, A., Szydło, R. M., Auner, H. W., Kanfer, E. J., MacDonald, D. H., Milojkovic, D., Pavlů, J. (2018). C-reactive protein prior to myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation identifies patients at risk of early- and long-term mortality. *British Journal of Haematology*, 180(6), 889–892. <https://doi.org/10.1111/bjh.14454>

Pepys, M. B., Gallimore, J. R., Lloyd, J., Li, Z., Graham, D., Taylor, G. W., ... Hawkins, P. N. (2012). Isolation and characterization of pharmaceutical grade human pentraxins, serum amyloid P component and C-reactive protein, for clinical use. *Journal of Immunological Methods*, 384(1–2), 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.07.013>

Piazza, T. (2013). Patologia geral - db-301, unidade v, fop/unicamp áreas de semiologia e patologia 1. *Áreas de Patologia e Semiologia*, 1–5.

Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809–1820. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67728-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67728-8)

Pradeep, A. R., Kumari, M., Kalra, N., & Priyanka, N. (2013). Correlation of MCP-4 and high-sensitivity C-reactive protein as a marker of inflammation in obesity and chronic periodontitis. *Cytokine*, 61(3), 772–777. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.12.022>

Preshaw, P. M., & Bissett, S. M. (2013). Periodontitis. Oral Complication of Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 42(4), 849–867. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.05.012>

Rosens, L. V. (1978). Role of crerttine phosphokinase in cellular function.

Saito, K., & Kihara, K. (2013). Role of C-reactive protein in urological cancers: A useful biomarker for predicting outcomes. *International Journal of Urology*, *20*(2), 161–171. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2012.03121.x>

Salminen, A., Gursoy, U. K., Paju, S., Hyvärinen, K., Mäntylä, P., Könönen, E., Pussinen, P. J. (2014). Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *41*(5), 442–450. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12234>

Savage, A., Eaton, K. A., Moles, D. R., & Needleman, I. (2009). A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of Clinical Periodontology*, *36*(6), 458–467. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01408.x>

Shadyab, A. H., Terkeltaub, R., Kooperberg, C., Reiner, A., Eaton, C. B., Jackson, R. D., LaCroix, A. Z. (2018). Prospective associations of C-reactive protein (CRP) levels and CRP genetic risk scores with risk of total knee and hip replacement for osteoarthritis in a diverse cohort. *Osteoarthritis and Cartilage*, *26*(8), 1038–1044. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.05.002>

Sharma, A., Astekar, M., Metgud, R., Soni, A., Verma, M., & Patel, S. (2014). A study of C-reactive protein, lipid metabolism and peripheral blood to identify a link between periodontitis and cardiovascular disease. *Biotechnic and Histochemistry*, *89*(8), 577–582. <https://doi.org/10.3109/10520295.2014.918280>

Szalai, A., Agrawal, A., Greenhough, T., & Volanakis, J. (1999). C-reactive protein: Structural biology and host defense function. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *37*(3), 265–270.

Szalai, A. J. (2002). The biological functions of C-reactive protein. *Vascular Pharmacology*, *39*(3), 105–107. [https://doi.org/10.1016/S1537-1891\(02\)00294-X](https://doi.org/10.1016/S1537-1891(02)00294-X)

Taba, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, *49*(3 SPEC. ISS.), 551–571. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2005.03.009>

Teixeira, Ana Maria; Borges, G. F. C. (2012). CREATINE KINASE: STRUCTURE AND

FUNCTION.

Thiele, J. R., Zeller, J., Bannasch, H., Stark, G. B., Peter, K., & Eisenhardt, S. U. (2015). Targeting C-reactive protein in inflammatory disease by preventing conformational changes. *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/372432>

Tsung, S. (1981). Several conditions causing elevation of serum CK-MB and CK-BB. *American Journal of Clinical Pathology*, 75(5), 711–715. <https://doi.org/10.1093/ajcp/75.5.711>

Vaitla, P., Munagavalasa, S., & Vani, N. (2017). Levels of serum creatine phosphokinase in thyroid disorders, 4(October), 16–18.

Valkanova, V., Ebmeier, K. P., & Allan, C. L. (2013). CRP, IL-6 and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Journal of Affective Disorders*, 150(3), 736–744. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.06.004>

Vashist, S. K., Venkatesh, A. G., Marion Schneider, E., Beaudoin, C., Luppa, P. B., & Luong, J. H. T. (2016). Bioanalytical advances in assays for C-reactive protein. *Biotechnology Advances*, 34(3), 272–290. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.010>

Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*, 38(2), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0161-5890\(01\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0161-5890(01)00042-6)

Wallimann, T., & Hemmer, W. (1994). Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 133–134(1), 193–220. <https://doi.org/10.1007/BF01267955>

Willerson, J. T., Stone, M. J., Ting, R., Mukherjee, A., Gomez-Sanchez, C. E., Lewis, P., & Hersh, L. B. (1977). Radioimmunoassay of creatine kinase-B isoenzyme in human sera: results in patients with acute myocardial infarction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(4), 1711–1715. Adquirido em <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med1&NEWS=N&AN=266211>

Wu, Y., Potempa, L. A., El Kebir, D., & Filep, J. G. (2015). C-reactive protein and inflammation: Conformational changes affect function. *Biological Chemistry*, 396(11), 1181–1197. <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0149>

Pepys, M. B., Gallimore, J. R., Lloyd, J., Li, Z., Graham, D., Taylor, G. W., ... Hawkins, P. N. (2012). Isolation and characterization of pharmaceutical grade human pentraxins, serum amyloid P component and C-reactive protein, for clinical use. *Journal of Immunological Methods*, 384(1–2), 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.07.013>

Piazza, T. (2013). Patologia geral - db-301, unidade v, fop/unicamp áreas de semiologia e patologia 1. *Áreas de Patologia e Semiologia*, 1–5.

Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W. (2005). Periodontal diseases. *Lancet*, 366(9499), 1809–1820. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67728-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67728-8)

Pradeep, A. R., Kumari, M., Kalra, N., & Priyanka, N. (2013). Correlation of MCP-4 and high-sensitivity C-reactive protein as a marker of inflammation in obesity and chronic periodontitis. *Cytokine*, 61(3), 772–777. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.12.022>

Preshaw, P. M., & Bissett, S. M. (2013). Periodontitis. Oral Complication of Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 42(4), 849–867. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.05.012>

Rosens, L. V. (1978). Role of creatine phosphokinase in cellular function.

Saito, K., & Kihara, K. (2013). Role of C-reactive protein in urological cancers: A useful biomarker for predicting outcomes. *International Journal of Urology*, 20(2), 161–171. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2012.03121.x>

Salminen, A., Gursoy, U. K., Paju, S., Hyvärinen, K., Mäntylä, P., Könönen, E., Pussinen, P. J. (2014). Salivary biomarkers of bacterial burden, inflammatory response, and tissue destruction in periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(5), 442–450. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12234>

Savage, A., Eaton, K. A., Moles, D. R., & Needleman, I. (2009). A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 36(6), 458–467. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01408.x>

Shadyab, A. H., Terkeltaub, R., Kooperberg, C., Reiner, A., Eaton, C. B., Jackson, R. D., LaCroix, A. Z. (2018). Prospective associations of C-reactive protein (CRP) levels and CRP genetic risk scores with risk of total knee and hip replacement for osteoarthritis in a

diverse cohort. *Osteoarthritis and Cartilage*, 26(8), 1038–1044. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.05.002>

Sharma, A., Astekar, M., Metgud, R., Soni, A., Verma, M., & Patel, S. (2014). A study of C-reactive protein, lipid metabolism and peripheral blood to identify a link between periodontitis and cardiovascular disease. *Biotechnic and Histochemistry*, 89(8), 577–582. <https://doi.org/10.3109/10520295.2014.918280>

Szalai, A., Agrawal, A., Greenhough, T., & Volanakis, J. (1999). C-reactive protein: Structural biology and host defense function. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37(3), 265–270.

Szalai, A. J. (2002). The biological functions of C-reactive protein. *Vascular Pharmacology*, 39(3), 105–107. [https://doi.org/10.1016/S1537-1891\(02\)00294-X](https://doi.org/10.1016/S1537-1891(02)00294-X)

Taba, M., Kinney, J., Kim, A. S., & Giannobile, W. V. (2005). Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dental Clinics of North America*, 49(3 SPEC. ISS.), 551–571. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2005.03.009>

Teixeira, Ana Maria; Borges, G. F. C. (2012). CREATINE KINASE: STRUCTURE AND FUNCTION.

Thiele, J. R., Zeller, J., Bannasch, H., Stark, G. B., Peter, K., & Eisenhardt, S. U. (2015). Targeting C-reactive protein in inflammatory disease by preventing conformational changes. *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/372432>

Tsung, S. (1981). Several conditions causing elevation of serum CK-MB and CK-BB. *American Journal of Clinical Pathology*, 75(5), 711–715. <https://doi.org/10.1093/ajcp/75.5.711>

Vaitla, P., Munagavalasa, S., & Vani, N. (2017). Levels of serum creatine phosphokinase in thyroid disorders, 4(October), 16–18.

Valkanova, V., Ebmeier, K. P., & Allan, C. L. (2013). CRP, IL-6 and depression: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Journal of Affective Disorders*, 150(3), 736–744. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.06.004>

Vashist, S. K., Venkatesh, A. G., Marion Schneider, E., Beaudoin, C., Luppá, P. B., & Luong, J. H. T. (2016). Bioanalytical advances in assays for C-reactive protein. *Biotechnology Advances*, 34(3), 272–290. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.010>

Volanakis, J. E. (2001). Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*, 38(2), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0161-5890\(01\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0161-5890(01)00042-6)

Wallimann, T., & Hemmer, W. (1994). Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 133–134(1), 193–220. <https://doi.org/10.1007/BF01267955>

Willerson, J. T., Stone, M. J., Ting, R., Mukherjee, A., Gomez-Sanchez, C. E., Lewis, P., & Hersh, L. B. (1977). Radioimmunoassay of creatine kinase-B isoenzyme in human sera: results in patients with acute myocardial infarction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(4), 1711–1715. Adquirido em <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med1&NEWS=N&AN=266211>

Wu, Y., Potempa, L. A., El Kebir, D., & Filep, J. G. (2015). C-reactive protein and inflammation: Conformational changes affect function. *Biological Chemistry*, 396(11), 1181–1197. <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0149>

I. Anexos