



Biomarcadores usados no diagnóstico e progressão da periodontite.

Fabiana de Lima Coutinho¹, Bernardo Oliveira de Campos², Guilherme Bianchine de Moura³

REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

Os parâmetros utilizados na clínica odontológica para o diagnóstico da periodontite e detecção da sua progressão, como profundidade de bolsa, nível de perda de inserção, imagens radiográficas, não são suficientes para detectar as perdas precoces de tecidos periodontais, o momento em que a doença se torna ativa, após períodos de estabilidade, bem como os diferentes graus de severidade. Biomarcadores são substâncias ou metabólitos, que representam modificações bioquímicas, fisiológicas, moleculares, identificados e mensurados em tecidos, fluidos e compartimentos, que possuem relação com a exposição a um agente e com um efeito de resposta a esta exposição. Alguns pacientes não respondem satisfatoriamente ao tratamento periodontal, podendo evoluir para formas severas. Os biomarcadores podem ser utilizados pelo periodontista, permitindo precisão na definição do diagnóstico e um melhor controle da resposta do paciente, durante o tratamento. Este estudo trata-se de uma revisão da literatura, que teve como objetivo revisar os principais biomarcadores que podem ser utilizados no diagnóstico, na identificação da progressão da doença e na decisão pelo melhor tratamento.

Palavras-chave: Biomarcadores, periodontite crônica, interleucina.

Biomarkers used in the diagnosis and progression of periodontitis.

ABSTRACT

The parameters used in the dental clinic for the diagnosis of periodontitis and its progression, such as pocket depth, level of insertion loss, radiographic images, are not sufficient to detect the early loss of periodontal tissues, the moment when the disease becomes active after periods of stability, as well as different degrees of severity. Biomarkers are substances or metabolites that represent biochemical, physiological, molecular, identified and measured changes in tissues, fluids and compartments, which are related to exposure to an agent and with a response effect to this exposure. Some patients do not respond satisfactorily to periodontal treatment, and can progress to severe and rapidly progressing forms. The biomarkers can be used by the periodontist, allowing the diagnosis to be defined accurately, a control of the patient's response during treatment.

Key-words: Biomarkers, chronic periodontitis; interleukin.

Instituição afiliada: 1- Especialista Periodontia ABO. 2- Doutor Periodontia UERJ. Professor Implantodontia e Periodontia São Leopoldo Mandic Rio de Janeiro. 3- Doutor e Pós Doutorando Periodontia UERJ. Professor Implantodontia e Periodontia São Leopoldo Mandic Rio de Janeiro.

Dados da publicação: Artigo recebido em 02 de Agosto e publicado em 06 de Setembro de 2023.

DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n4p1437-1449>

Autor correspondente: *Guilherme Bianchine de Moura* gbmodonto@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



INTRODUÇÃO

Periodontite é uma doença multifatorial crônica inflamatória, em que ocorre a destruição de tecidos de suporte dentário, levando a perda óssea alveolar e de nível de inserção (DUQUE, 2016; HSIAO *et al.*, 2016; TSAI *et al.*, 2015). As bactérias do biofilme oral, embora funcionem como fatores iniciadores da doença, não são responsáveis exclusivas por ocasionar a periodontite (BOUKORTT *et al.*, 2014).

O início e a progressão da doença dependem das interações entre as bactérias periodontopatogênicas e células do sistema imune do hospedeiro, mas fatores ambientais, de suscetibilidade, genéticos, hábitos sociais, condições sistêmicas, uso de medicamentos/drogas, influenciam na manifestação, desenvolvimento, variabilidade, na severidade e no prognóstico da periodontite (HSIAO *et al.*, 2016; BOUKORTT *et al.*, 2014; GUEDES *et al.*, 2015; HERANE *et al.*, 2013).

Em geral, os parâmetros avaliados tanto para o diagnóstico como para a progressão da periodontite são profundidade de bolsa, índice de placa, recessão gengival, perda de inserção clínica e imagens radiográficas (KHONGKHUNTHIAN *et al.*, 2014). Contudo, estes parâmetros não são suficientes para detectar a perda precoce de tecidos periodontais, determinar os diferentes graus de severidade da doença e os períodos em que a doença se torna ativa após um período de estabilidade, sendo necessários mais elementos que indiquem os sítios ativos e a progressão da doença (ZHANG *et al.*, 2016a; KHONGKHUNTHIAN *et al.*, 2014).

O fluido crevicular gengival possui mais de 65 elementos considerados biomarcadores potenciais que podem ser utilizados para detecção do início da doença periodontal e na avaliação da sua progressão (ZHANG *et al.*, 2016a). O sangue, o plasma e o soro apresentam biomarcadores sistêmicos, e, a saliva, além de biomarcadores sistêmicos, possui biomarcadores locais, que informam o estado do paciente (STATHOPOULOU *et al.*, 2015).

Uma parcela dos pacientes que são submetidos ao tratamento periodontal não apresenta respostas satisfatórias ou apresentam uma progressão rápida da doença periodontal, evoluindo para um maior grau de severidade. O conhecimento do uso dos biomarcadores pelo periodontista permite um fechamento do diagnóstico com maior

precisão, uma melhor conduta a ser seguida durante o curso do tratamento, permitindo um controle maior da resposta do paciente.

O objetivo deste trabalho é realizar a revisão de literatura dos principais biomarcadores que podem auxiliar no diagnóstico e na avaliação da progressão da periodontite, contribuindo para condutas de tratamento mais específicos e eficientes no controle da atividade da doença periodontal.

REVISÃO DE LITERATURA

Biomarcadores são substâncias ou metabólitos, que representam alterações bioquímicas, fisiológicas, moleculares, detectadas e mensuradas nos fluidos biológicos, em tecidos, nos compartimentos corporais, apresentando relação com exposição a agentes químicos, físicos ou biológicos e também com os efeitos de resposta a exposição (GRANDJEAN, 2012).

A predisposição genética ao desenvolvimento da doença periodontal pode ser detectada por meio de biomarcadores de suscetibilidade, como os polimorfismos. Polimorfismos genéticos são variações alélicas com ocorrência igual ou maior a 1% na população (MANEY & OWENS, 2015).

Além dos biomarcadores de suscetibilidade, temos aqueles que avaliam o nível de estresse oxidativo celular, gerado a partir das injúrias teciduais promovidas pela ação dos microorganismos; os biomarcadores associados ao processo inflamatório e imunológicos; biomarcador bioquímico de avaliação de metabolismo ósseo, que podem ser utilizados no auxílio do diagnóstico e monitoramento da periodontite.

Interleucinas 1A (IL-1A) e 1B (IL-1B) são citocinas com propriedades inflamatórias, hematopoiéticas, metabólicas e imunológicas, induzindo a diferenciação e ativação de osteoclastos, ligando-se a receptores IL1 tipo 1 e 2. O receptor IL1RN é uma proteína do tipo receptor antagonista, que inibe a ligação de interleucina 1 do tipo A e B (ZUCCARELLO *et al.*, 2013).

Interleucina-6 (IL-6) é uma citocina pró-inflamatória, que ativa as células T, B e os osteoclastos, cuja regulação de sua síntese é controlada na transcrição, pós-transcrição, tradução por citocinas, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e lipopolissacarídeo (LPS) . (KOBAYASHI, ISHIDA, YOSHIE, 2016).

Interleucina 8 (IL-8) está associada com início e amplificação da resposta inflamatória aguda e crônica. A interleucina 10 (IL-10) é uma citocina com propriedades antiinflamatórias, sendo inibidor de síntese de citocinas e, em geral, níveis baixos de IL-10 aceleram perda óssea alveolar. Já a interleucina 17 (IL-17 A e IL-17B), IL-21 e IL-22 são uma citocinas pró-inflamatória e associadas também a resposta autoimunes produzida pelas células TH17 (DAI *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2016a; KIM *et al.*, 2010).

Interleucinas 28 (IL-28A, IL28-B) e 29 são sintetizadas em resposta a uma infecção viral. A IL-29 é produzida por células dendríticas, receptores TLR e células nucleadas que se ligaram a bactérias ou vírus e estimulam monócito e macrófago a produzirem IL-6, 8 e 10, podendo inibir a produção de IL-13 pela célula T, através de uma via independente de interferon gama, a MDDC (Modulação de Macrófago ou Monócito ou Plasmacitóide derivados de células dendríticas) (SHIVAPRASAD & PRADEEP, 2015; FU *et al.*, 2013).

Interferon gama (INF- γ) é sintetizado por células TH1 e estimula os macrófagos a produzirem IL-1 β , TNF- α e prostaglandinas E2 (PGE2). O fator de necrose tumoral (TNF) é uma citocina liberada por leucócitos mononucleares ou macrófagos, nos estágios iniciais do processo inflamatório, que tem por função estimular osteoclastos, promovendo a reabsorção óssea, secreção de metaloproteinases, resultando em destruição de matriz extracelular de tecido periodontal (HO *et al.*, 2015).

O fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) é uma citocina reguladora da resposta imune, do crescimento, diferenciação, apoptose e angiogênese, que sintetiza proteínas de matriz extracelular e inibe destruição de colágeno, sendo quimiotática para fibroblasto. Possui três isoformas TGF β 1, 2, 3, sendo a 1 a de maior ocorrência. (HEIDARI *et al.*, 2013). O fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é uma citocina angiogênica, atuando no processo inflamatório, na cicatrização, proliferação de células endoteliais e liberação de enzimas proteolíticas (LOO *et al.*, 2011).

Fosfatase alcalina é uma enzima produzida pelo fígado, rins, ossos, intestino, placenta, fibroblastos do ligamento periodontal (FLP), neutrófilos e também bactérias gram negativas da placa subgengival. Esta enzima é responsável por catalisar as reações de hidrólise, de transfosforilação de fosfomonoésteres, atuando no metabolismo do fosfato, na mineralização óssea e formação de cemento acelular. Alterações nas



concentrações de fosfatase alcalina estão associadas a patologias como insuficiência cardíaca, disfunção renal ou hepática, doenças ósseas, colostase, calcificação vascular, câncer de mama. Possui uma concentração no fluido crevicular gengival de 20 vezes mais que no soro. Estudos demonstram correlação entre os níveis de fosfatase alcalina e a doença periodontal ativa e o aumento deste biomarcador na inflamação tecidual gengival (MEI *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2017)

METODOLOGIA

O desenho deste estudo é uma revisão de literatura, sendo consultadas as bases bibliográficas PubMed e Science Direct. O critério de inclusão foi estudos relativos à biomarcadores associados à periodontite crônica, publicados com preferência nos últimos dez anos (2013-2022) e o critério de exclusão foi estudos com animais, ou realizado em pacientes com outras doenças crônicas, neurodegenerativas ou doenças infecto-contagiosas. Utilizou-se as combinações de dois descritores MesH e operador booleano “and”: chronic periodontitis”, chronic periodontitis and biomarkers” “chronic periodontitis and oxidative stress”, “chronic periodontitis and interleukins”,” chronic periodontitis and polymorphisms. Foram obtidos 29 estudos considerados elegíveis para análise, após descarte de duplicatas e aplicação dos critérios de inclusão e exclusão.

DISCUSSÃO

As concentrações de IL-17 diminuíram e a de INF- γ e IL-10 permaneceram inalteradas, após a remoção de placa no tratamento periodontal, no estudo de Fu *et al.*, 2013, indo ao encontro do observado por Zhao *et al.*, 2011. Heidari *et al.*, 2013 encontraram o mesmo resultado que Atanasovska-Stojanovska *et al.*, 2009, de associação de polimorfismo do gene que codifica TGF β 1 C/T 29 e a suscetibilidade de periodontite crônica, avaliados em população da Macedônia. Mas os achados de Heidari e colaboradores foram de encontro ao estudo de Holla *et al.*, 2002, que naquele estudo, demonstrou a associação do genótipo CC e do alelo C para este polimorfismo, com a

periodontite crônica, sem observância para associação de polimorfismos TGF- β 1 29 C/T e - 509 C/T com a periodontite crônica, na avaliação de população tcheca.

Zhang et al., 2016a realizaram uma comparação dos níveis de cinco biomarcadores no fluido crevicular, Il-6, Il-10, TNF- α , proteína c reativa e fosfatase alcalina, avaliando a correlação com destruição periodontal entre pacientes com periodontite crônica moderada (PCM) e periodontite crônica severa (PCS), entre pacientes com periodontite agressiva moderada (PAgM) e periodontite agressiva severa (PAgS). Não foi identificada diferença significativa entre os biomarcadores dos pacientes com PCM e PCS; entre pacientes com PAgM e PAgS, conforme já observado por Duarte et al., 2015.

No estudo de Isaza-Gúsman et al., 2015, verificou-se que as concentrações de INF- γ e a taxa de INF γ /IL22 podem ser utilizados como biomarcadores do status de periodontite crônica, indicando quantidade e a extensão da destruição periodontal. Foi observado também que níveis significativos de IFN- γ em indivíduos com idade maior de 49 anos, indicava que, conforme ocorre o envelhecimento, as respostas inflamatórias na periodontite crônica produzem danos acumulativos e mudanças nos níveis de INF- γ , conforme já verificado pelos autores Yen et al., 2000 e Vasto et al., 2007

Kobayashi, Ishida, Yosha, 2016 foi o primeiro estudo que avaliou e identificou a associação do aumento da transcrição do gene da IL-6 com a hipometilação dos promotores da IL6 em tecidos gengivais de pacientes com periodontite crônica. A correlação negativa entre metilação de citocinas e transcrição foi verificada em outros estudos anteriores de Zhang et al., 2010 e Oliveira et al., 2009 .

Shivapradad & Pradeep, 2015, foram os primeiros autores que avaliaram a correlação das concentrações da interleucina 29 (IL-29) no fluido crevicular e plasma com o polimorfismo do gene que codifica a IL-29 em pacientes com periodontite crônica e agressiva (rs30461). Os resultados demonstraram que este polimorfismo não estava associado a suscetibilidade para periodontite na população indiana avaliada, mas a quantidade elevada de concentrações de Il-29 no fluido crevicular gengival em pacientes com periodontite foi sugestivo da relação desta interleucina com a patogênese da periodontite.

Zucarello et al., 2013 não observou associação entre o polimorfismo do cluster de genes do IL1 e a ocorrência da periodontite crônica. Porém, estes resultados foram

discordantes da maioria dos estudos já publicados, conforme apresentado na revisão sistemática de Nikolopoulos *et al.*, 2008, que revisou 53 publicações, que englobavam 4178 casos e 4590 controle, analisando a relação dos polimorfismos dos genes IL-1A e IL1-B, , com a ocorrência de periodontite crônica, sendo constatada uma associação significativa entre estas variáveis nos estudos revisados.

Ho *et al.*, 2015 verificou não associação do polimorfismo do gene do TNF- α ⁻³⁰⁸ e a periodontite crônica e agressiva, resultado também constatado em outros estudos, como de Menezes & Colombo, 2008 .

Kim *et al.*, 2010 foi o primeiro estudo a observar que os haplótipos formados pelo polimorfismo do gene IL-8 , -845(T/C) , -738(T/A), -353 (A/T) apresentavam associação com a suscetibilidade para periodontite crônica, em população avaliada no Brasil. Não foi verificado esta associação quando os polimorfismo -845(T/C) e -738(T/A) foram avaliados separadamente, apenas na formação de haplótipos com -353 (A/T), demonstrando como já relatado por Crawford & Nickerson, 2005, que os haplótipos possuem mais capacidade de identificação de associação com doenças do que a análise de polimorfismos tipo SNP realizadas isoladamente.

Dai *et al.*,2017 constatou que os tecidos gengivais de indivíduos com doença periodontal possuíam um grande número de células B CD19⁺ produzindo IL-10. Este resultado de elevadas concentrações de IL-10 sendo sintetizadas por tecidos gengivais na periodntite foi observado também no estudo de Menegat *et al.*, 2016

Na meta-análise realizada por Da Silva *et al.*, 2017, alguns resultados discordantes da maioria observada pelos autores revisados se destacaram quando comparados a literatura: a associação do polimorfismo do gene da IL1-A, 889 C/T observada por Silva *et al.*, 2017 , a não associação do polimorfismo do gene da IL1-B 3954 C/T por Ma *et al.*, 2015.

6. CONCLUSÃO

Os biomarcadores que podem ser utilizados no auxílio do diagnóstico da periodontite crônica são os polimorfismos IL1-A, IL1-B, IL-6, IL-10, MMP3, NLR5, Já os biomarcadores que podem ser utilizados no monitoramento da progressão da periodontite crônica são fosfatase alcalina (doença ativa); proteína C reativa, estresse

oxidativo (curso da doença); LL-37 (progressão para a severidade e para edentulismo); IL-10 IL-17.

REFERÊNCIAS

1. ATANASOVSKA-STOJANOVSKA, A. et al. Analysis of Transforming Growth Factor-Betal Gene Polymorphisms in Macedonian Patients with Chronic Periodontitis. **Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 30–35, 1 mar. 2009.
2. BOUKORTT, K. N. et al. Association analysis of the IL-1 gene cluster polymorphisms with aggressive and chronic periodontitis in the Algerian population. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 10, p. 1463–1470, out. 2015.
3. CRAWFORD, D. C.; NICKERSON, D. A. Definition and clinical importance of haplotypes. **Annual Review of Medicine**, v. 56, p. 303–320, 2005.
4. DA SILVA, M. K. et al. Genetic Factors and the Risk of Periodontitis Development: Findings from a Systematic Review Composed of 13 Studies of Meta-Analysis with 71,531 Participants. **International Journal of Dentistry**, v. 2017, p. 1914073, 2017.
5. DAI, J. et al. Evaluation of interleukin-10 producing CD19+ B cells in human gingival tissue. **Archives of Oral Biology**, v. 84, n. Supplement C, p. 112–117, 1 dez. 2017.
6. DUARTE, P. M. et al. Do subjects with aggressive and chronic periodontitis exhibit a different cytokine/chemokine profile in the gingival crevicular fluid? A systematic review. **Journal of Periodontal Research**, v. 50, n. 1, p. 18–27, fev. 2015.
7. DUQUE, A. Prevalencia de periodontitis crónica en Iberoamérica. **Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral**, v. 9, n. 2, p. 208–215, ago. 2016.
8. FU, Q.-Y. et al. Correlation of chronic periodontitis in tropical area and IFN- γ , IL-10, IL-17 levels. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 6, n. 6, p. 489–492, 1 jun. 2013.
9. GRANDJEAN, Phillipe. Biomarcadores. In: Enciclopedia de Salud Y Seguridad en El Trabajo. OIT. 2012.
10. GUEDES, R. A. et al. Association of SOCS1– 820 (rs33977706) gene polymorphism with chronic periodontitis: A case–control study in Brazilians. **Meta Gene**, v. 5, p. 124–128, set. 2015.
11. HEIDARI, Z. et al. Association of TGF- β 1 – 509 C/T, 29 C/T and 788 C/T gene polymorphisms with chronic periodontitis: A case–control study. **Gene**, v. 518, n. 2, p. 330–334, abr. 2013.
12. HERANE, A. et al. Expresión de citoquinas Th17 y su correlación con periodontopatógenos y el área periodontal inflamada en pacientes con periodontitis crónica. **Revista clínica de periodoncia, implantología y**

- rehabilitación oral**, v. 6, n. 3, p. 109–113, dez. 2013.
13. HO et al. Analysis of tumor necrosis factor- α (-308) and lymphotoxin- α (+252) gene polymorphisms in Taiwanese patients with periodontitis. **Journal of Dental Science**, v.10, p. 316-322, 3 jul. 2015.
 14. HOLLA, L. I. et al. 5 polymorphisms in the transforming growth factor- β 1 gene (TGF- β 1) in adult periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, n. 4, p. 336–341, 22 nov. 2002.
 15. HSIAO, Y.-F. et al. Matrix metalloproteinase-2, -9, and tissue inhibitor of MMP-2 gene polymorphisms in Taiwanese periodontitis patients. **Journal of Dental Sciences**, v. 0, n. 0, 9 ago. 2016.
 16. ISAZA-GUZMÁN, D. M. et al. Association study between salivary levels of interferon (IFN)-gamma, interleukin (IL)-17, IL-21, and IL-22 with chronic periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 1, p. 91–99, jan. 2015.
 17. KHONGKHUNTHIAN, S. et al. Comparisons between two biochemical markers in evaluating periodontal disease severity: a cross-sectional study. **BMC Oral Health**, v. 14, p. 107, 2014.
 18. KIM, Y. J. et al. Association of haplotypes in the IL8 gene with susceptibility to chronic periodontitis in a Brazilian population. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, v. 411, n. 17–18, p. 1264–1268, 6 set. 2010.
 19. KOBAYASHI, T.; ISHIDA, K.; YOSHIE, H. Increased expression of interleukin-6 (IL-6) gene transcript in relation to IL-6 promoter hypomethylation in gingival tissue from patients with chronic periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 69, n. Supplement C, p. 89–94, 1 set. 2016.
 20. LOO, W. T. Y. et al. Association of matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-3 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 gene polymorphisms and their proteins with chronic periodontitis. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 10, p. 1081–1090, out. 2011.
 21. MA, L. et al. Interleukin-1 β (3953/4) C \rightarrow T polymorphism increases the risk of chronic periodontitis in Asians: evidence from a meta-analysis of 20 case-control studies. **Archives of medical science: AMS**, v. 11, n. 2, p. 267–273, 25 abr. 2015
 22. MANEY, P.; OWENS, J. L. Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: A literature review. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 19, n. 2, p. 131–141, 2015.
 23. MEI, Y. et al. Fluorescence quenching based alkaline phosphatase activity detection. **Talanta**, v. 176, n. Supplement C, p. 52–58, 1 jan. 2018.
 24. MENEGAT, J. S. B. et al. Cytokine expression in gingival and intestinal tissues of patients with periodontitis and inflammatory bowel disease: An exploratory study. **Archives of Oral Biology**, v. 66, p. 141–146, jun. 2016.
 25. MENEZES, N. G. DE; COLOMBO, A. P. V. Lack of association between the TNF-alpha -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians. **Brazilian Oral Research**, v. 22, n. 4, p. 322–327, dez. 2008.
 26. NIKOLOPOULOS, G. K. et al. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 35, n. 9, p. 754–767, set. 2008.
 27. OLIVEIRA, N. F. P. et al. DNA methylation status of the IL8 gene promoter in oral cells of smokers and non-smokers with chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 36, n. 9, p. 719–725, set. 2009.

28. SHIVAPRASAD, B. M.; PRADEEP, A. R. Correlation of the interleukin-29 levels in crevicular fluid and plasma with the genetic polymorphism in chronic and aggressive periodontitis patients. **Archives of Oral Biology**, v. 60, n. 1, p. 37–44, jan. 2015.
29. SINGH, N. et al. Effect of scaling & root planing on the activity of ALP in GCF & serum of patients with gingivitis, chronic and aggressive periodontitis: A comparative study. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, v. 7, n. 2, p. 123–126, ago. 2017.
30. STATHOPOULOU, P. G.; BUDUNELI, N.; KINANE, D. F. Systemic Biomarkers for Periodontitis. **Current Oral Health Reports**, v. 2, n. 4, p. 218–226, 1 dez. 2015.
31. TSAI, C.-Y. et al. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis. **Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi**, 13 maio 2016.
32. VASTO, S. et al. Inflammatory networks in ageing, age-related diseases and longevity. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 128, n. 1, p. 83–91, jan. 2007.
33. YEN, C. J. et al. Age-associated changes in interferon-gamma and interleukin-4 secretion by purified human CD4+ and CD8+ T cells. **Journal of Biomedical Science**, v. 7, n. 4, p. 317–321, ago. 2000.
34. ZHANG, Q. et al. Biomarker levels in gingival crevicular fluid of subjects with different periodontal conditions: A cross-sectional study. **Archives of Oral Biology**, v. 72, p. 92–98, dez. 2016a.
35. ZHANG, P. et al. Macrophage activating factor: A potential biomarker of periodontal health status. **Archives of Oral Biology**, v. 70, p. 94–99, out. 2016b.
36. ZHANG, S. et al. Interferon-gamma promoter hypomethylation and increased expression in chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 37, n. 11, p. 953–961, nov. 2010.
37. ZHAO, L. et al. Effect of non-surgical periodontal therapy on the levels of Th17/Th1/Th2 cytokines and their transcription factors in Chinese chronic periodontitis patients. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 38, n. 6, p. 509–516, jun. 2011.
38. ZUCCARELLO, D. et al. Role of familiarity versus interleukin-1 genes cluster polymorphisms in chronic periodontitis. **Gene**, v.535, n. 2, p.286–289, 2014.