



Proteoma salival: alcances y perspectivas para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal. Revisión de la literatura

Luis Alonso Flores-Reyna,* Miryam Martínez-Hernández[§]

* Alumno Especialidad en Periodoncia e Implantología.

[§] Laboratorio de Biointerfases. Facultad de Odontología.

División de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

Introducción: esta revisión de la literatura examina los cambios en el proteoma salival relacionados con la presencia de periodontitis que pueden ser utilizados para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad, esto es posible debido a que la saliva total contiene una variedad de mediadores locales derivados de las respuestas microbianas y del huésped, así como marcadores sistémicos (plasma) que pueden ser útiles en el diagnóstico periodontal. **Objetivo:** documentar los cambios reportados en el proteoma salival asociados con la presencia de periodontitis con potencial para ser utilizados en el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad. **Material y métodos:** las bases de datos PubMed, SpringerLink, Google Académico, WILEY y ScienceDirect fueron consultadas utilizando los términos de búsqueda «salivary proteome AND salivary diagnosis; salivary protein profile AND periodontal disease AND periodontitis» con el fin de identificar publicaciones que reportaran cambios en el perfil proteico salival de sujetos diagnosticados con periodontitis. Se incluyeron artículos de revisión, artículos originales publicados en revistas indexadas y documentos de consenso en los idiomas inglés y español. **Resultados:** proteínas salivales como α -amilasa, cistatina-C y mucina-5B fueron reportadas como aumentadas por algunos autores, mientras que proteínas como cistatina-SN, lactoperoxidasa y mucina-7 fueron reportadas como disminuidas cuando se comparó el proteoma salival de sujetos sistémicamente sanos con periodontitis contra sujetos sin periodontitis. Estos resultados confirman la existencia de cambios en el proteoma salival asociados con la presencia de periodontitis. **Conclusiones:** los cambios en el proteoma salival asociados con la presencia de periodontitis identificados en la presente revisión de la literatura requieren ser investigados a mayor profundidad debido a su potencial para ser utilizados en el diagnóstico y monitoreo de la periodontitis.

Recibido: Abril 2021. Aceptado: Agosto 2021.

Citar como: Flores-Reyna LA, Martínez-Hernández M. Proteoma salival: alcances y perspectivas para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal. Revisión de la literatura. Rev Odont Mex. 2022; 26 (1): 99-112.

© 2022 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

www.medigraphic.com/facultadodontologiaunam

Palabras clave: proteoma salival, diagnóstico periodontal, monitoreo periodontal, biomarcadores salivales, enfermedad periodontal.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales son un grupo de condiciones inflamatorias que afectan a los tejidos de soporte dentales —encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar—, dentro de este grupo de condiciones encontramos a la gingivitis y la periodontitis.^{1,2} El desarrollo de la periodontitis está asociado con la presencia de una biopelícula dental disbiótica, la cual induce una desregulación de la respuesta inmune del hospedero;³ es dicha desregulación, aunada con factores hereditarios y ambientales⁴ como el tabaquismo, lo que finalmente conduce a la destrucción de los tejidos periodontales y la consiguiente pérdida dentaria.^{3,5} Se estima que 743 millones de personas padecen periodontitis, posicionándose como la sexta enfermedad más prevalente en el mundo y la tercera enfermedad oral más frecuente.⁶⁻⁸ El correcto diagnóstico de la periodontitis es crucial para lograr el éxito del tratamiento de la enfermedad; de forma general, se basa en la evaluación de parámetros clínicos de inflamación, como sangrado al sondeo (SS),⁴ profundidad de sondeo (PS),⁹ cambios en los niveles de inserción clínica (NIC),¹⁰ además de la extensión y patrón de la pérdida de hueso alveolar, siendo estos últimos evaluados radiográficamente. Hoy en día las radiografías dentoalveolares y la sonda periodontal continúan siendo las principales herramientas para diagnosticar y evaluar la presencia y progresión de la enfermedad periodontal.

La sonda periodontal fue descrita por Orban en la década de los 50 del siglo pasado como los «ojos del clínico debajo del margen gingival»,¹¹ y se utiliza desde

entonces para registrar la extensión del daño periodontal;¹²⁻¹⁴ sin embargo, su uso conlleva ciertas limitaciones. Algunas de estas limitaciones pueden ser resultado de interferencias en la vía de inserción de la sonda periodontal debido a la presencia de cálculo sobre las superficies dentales o la presencia de restauraciones desbordantes; o bien, resultado de una presión o ángulo de inserción incorrecto durante el sondeo. Además, el grado de inflamación de los tejidos periodontales afecta la sensibilidad y reproducibilidad de las mediciones.¹⁵ Todos estos factores incrementan la probabilidad de obtener falsos positivos o negativos en el diagnóstico periodontal, lo cual comúnmente se traduce en el sub o sobretreamiento de la periodontitis.¹⁶ Adicionalmente, los cambios en los NIC sólo son detectables cuando ha ocurrido una pérdida de inserción equivalente a ≥ 2 mm, lo que indica que el sondeo periodontal proporciona una evidencia histórica de la presencia y extensión de la enfermedad periodontal, sin proveer evidencia en tiempo real o predictora del curso de la enfermedad.^{17,18}

Las limitaciones que existen actualmente para diagnosticar y monitorear la periodontitis por medio del sondeo periodontal y el uso de evidencia radiográfica han marcado un desafío en la investigación biomédica, por lo que en las últimas décadas han surgido cada vez más estudios enfocados en identificar biomarcadores cuantificables en saliva total que puedan reflejar de forma confiable el estado fisiopatológico del surco gingival, y que puedan complementar el sondeo periodontal para lograr una detección temprana y monitoreo correcto de la periodontitis.^{18,19} La presente revisión tiene por objetivo describir la existencia de cambios en el proteoma salival asociados con la presencia de periodontitis con el potencial de ser utilizados en el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad, para lo cual se realizó una amplia búsqueda de literatura científica, de marzo de 2020 a marzo de 2021, sobre el tema en revistas indizadas siguiendo una metodología previamente establecida.^{20,21} Los artículos incluidos en la presente revisión fueron consultados en fuentes de información bibliográficas electrónicas: PubMed, SpringerLink, Google académico, WILEY y ScienceDirect, utilizando las siguientes palabras clave: «*salivary proteome AND salivary diagnosis; salivary protein profile AND periodontal disease AND periodontitis*» y que estuvieran redactados en los idiomas inglés o español.

Funciones de la saliva en el ecosistema oral

La cavidad oral humana representa un ecosistema complejo donde factores externos y elementos propios del hospedero interactúan en un equilibrio dinámico que se ve reflejado en la saliva. La saliva desempeña distintas funciones en el mantenimiento de la salud

oral, por ejemplo, lubrica las superficies orales, mantiene la integridad de los dientes al reducir la desmineralización del esmalte, proporciona elementos de la inmunidad innata y adaptativa del hospedero, además actúa como el nutriente primario para la microbiota oral residente, la cual se organiza principalmente en forma de biopelículas sobre las diferentes superficies orales.^{22,23}

Hoy se sabe que el microbioma ha coevolucionado con los seres humanos a través de los siglos, y su relevancia es crucial debido a que desempeña un papel determinante en el establecimiento de los estados de salud y enfermedad.²⁴ En condiciones de equilibrio, el microbioma oral mantiene una relación simbiótica y dinámica con el hospedero, lo cual será un factor determinante en la salud. Sin embargo, cambios en la población microbiana pueden promover el desarrollo de un estado inflamatorio patológico, como consecuencia de la disbiosis del microbioma.²⁵ Los estados inflamatorios en el hospedero a menudo se ven favorecidos por modificadores como la presencia de enfermedades sistémicas (por ejemplo, diabetes mellitus tipo I y II), una higiene oral deficiente, tabaquismo o alteraciones en el flujo salival.²⁶⁻²⁸ La disbiosis del microbioma oral es el factor determinante en el desarrollo de las enfermedades periodontales,²⁹ las cuales inducen cambios en el proteoma salival.

Cambios en el proteoma salival y su potencial para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal

La saliva es un fluido biológico que está constituido por una variedad de biomoléculas funcional y estructuralmente complejas, como proteínas, lípidos y carbohidratos,²² por lo que actualmente es considerada uno de los biofluidos más valiosos para la investigación biomédica. Posee un pH de entre 6-7, alcanzando volúmenes de secreción diarios entre 0.5-1.5 L (0.5 mL/min),³⁰ dichos valores de secreción se ven influidos por factores como la edad, medicación, hidratación, factores psicológicos como el estrés y la depresión, y ritmos circadianos.³¹⁻³³ Está compuesta por 99-99.5% de agua y sólo 0.5-1% de proteínas y minerales,^{32,34} su concentración proteica promedio se encuentra entre 0.7-2.4 mg/mL⁻¹; y al ser un ultrafiltrado del plasma, comparte 30% de su contenido proteico con dicho biofluido.³¹

El término «proteoma» se refiere al conjunto completo de proteínas que pueden ser expresadas por un genoma, célula, tejido u organismo en un momento determinado,³⁵ de tal forma que el proteoma salival asociado con la presencia de periodontitis hace referencia a todas las proteínas presentes en la saliva de un individuo con esta enfermedad.^{36,37} La saliva es producida en las glándulas salivales dentro de células

Tabla 1: Descripción de cada una de las 9 principales familias de proteínas salivales.
Description of each of the 9 major salivary protein families.

Proteína salival	Características	Concentración en saliva total*	Función
α-amilasa salival	Proteína dependiente de calcio. ⁴⁰ Es conocida por su actividad enzimática sobre los enlaces α-1,4-glucosídicos encontrados en almidones y sacaridos ⁴¹	380-500 µg/mL ⁴⁰	Cataliza la hidrólisis de polisacáridos, participa en la formación de la PSA, posee actividad antimicrobiana contra ciertos microorganismos ⁴¹
Cistatinas	Familia de proteínas, de las cuales siete isoformas se encuentran en saliva. Estas proteínas inhiben la actividad de proteasas de cisteína ⁴²	240-280 µg/mL ⁴⁰	Inhibe el crecimiento de <i>Porphyromonas gingivalis</i> y <i>Treponema denticola</i> ; participa en la formación de la PSA ^{41,43}
Defensinas	Péptidos catiónicos caracterizados por una estructura globular estabilizada por tres puentes disulfuro uniendo seis aa de cisteínas ^{41,44}	β-defensina: 1-27 ng/L ⁴⁵ α-defensina: 0.5-23.4 µ/mL ⁴⁶	Inhibe el crecimiento bacteriano y fúngico (<i>Candida albicans</i>) ^{41,47,48}
Estaterinas	Son péptidos ácidos multifuncionales. Su nombre proviene del griego <i>statheropio</i> que significa «estabilizar». Se caracterizan por presentar una alta afinidad por los fosfatos de calcio ^{49,50}	2-12 µg/mL ⁴⁰	Inhibe la precipitación de calcio y crecimiento de cristales de HAp sobre el esmalte y participan en la formación de la PSA ^{49,50}
Histatinas	Péptidos catiónicos con un alto contenido en histidina, conforman el 2.6% de las proteínas en saliva total ^{22,51}	22.8 ± 5.6 µg/mL ⁵²	Incrementa la migración de células epiteliales, inhibe la precipitación primaria y secundaria de fosfatos de calcio, posee propiedades bactericidas, antifúngicas y antivíricas ^{41,52,53}
Mucinas	Proteínas de alto peso molecular, se encuentran presentes en los tractos gastrointestinal, respiratorio y urogenital del organismo ^{40,54}	0.05-0.78 ng/mL ⁵⁵	Aglutina microorganismos, lubrica cavidades del organismo, interactúa con células y bacterias, participa en la formación de la biopelícula y PSA ^{40,56}
Péptidos P-B	Péptidos ricos en prolina. ⁵⁷ Son péptidos maduros por sí mismos que contienen diversos aa apolares y más de 30 aa de prolina ^{49,58,59}	Valores no reportados	Su función aún no ha sido del todo elucidada ⁵¹
Peroxidasas	Proteínas catalizadoras de H ₂ O ₂ mediante óxido-reducción. ^{60,61} hLPO y hMPO conforman las principales proteínas de esta superfamilia, encontrándose en fluidos biológicos como lágrimas y saliva, y productos de células PMN, respectivamente ⁶⁰⁻⁶²	hLPO: 1.9 ± 1.0 µg/mL ⁶² hMPO: 3.6 ± 2.1 µg/mL ⁶²	Evita concentraciones tóxicas de H ₂ O ₂ , cataliza la oxidación del SCN ⁻ en presencia de H ₂ O ₂ , inhibe el crecimiento bacteriano ⁶¹
Proteínas ricas en prolina (PRP)	Proteínas con propiedades de regulación mineral como consecuencia de su alta afinidad por la hidroxiapatita ⁴⁰	267.2-720.6 µg/mL ⁶³	Aglutina microorganismos para su eliminación, regula los electrolitos salivales, lubrica la cavidad oral y participa en la formación de la PSA ^{40,52,57}

* Valores de referencia en sujetos sanos. PSA = película salival adquirida. aa = aminoácidos. HAp = hidroxiapatita. hLPO = lactoperoxidasa humana. hMPO = mieloperoxidasa humana. SCN⁻ = tiocianato. PMN = polimorfonucleares.

* Reference values in healthy subjects. ASF = acquired salivary film. aa = amino acids. HAp = hydroxyapatite. hLPO = human lactoperoxidase. hMPO = human myeloperoxidase. SCN⁻ = thiocyanate PMN = polymorphonuclear.

acinares donde, tras la estimulación, pasa a una red ramificada de conductos para ser secretada a la cavidad bucal. Es aquí donde la saliva prístina se mezcla con otros biocomponentes y agregados derivados de diversas fuentes como sangre, fluido crevicular gingival, restos alimenticios, células orales, microbiota, así como con ADN y ARN; la mezcla de todos estos componentes conforman lo que se conoce como saliva

total.^{29,38} Hoy en día, se han identificado ~2,643 proteínas en saliva total,³⁹ dentro de las cuales es posible identificar nueve familias diferentes que en conjunto representan cerca de 40% del contenido proteico salival total. La **Tabla 1** proporciona una descripción de estas nueve familias de proteínas.^{22,40-63}

La heterogeneidad y diversidad del contenido proteico presente en la saliva total permiten que este

biofluido pueda ser considerado un «reflejo de la salud oral y sistémica»,^{30,64,65} de modo que la identificación de los perfiles de expresión proteica salival asociados con la presencia de periodontitis es relevante, ya que dichos cambios constituyen la base para la identificación de posibles biomarcadores de la enfermedad periodontal, los cuales contribuirían al diagnóstico temprano y el correcto monitoreo de la periodontitis.^{29,38} Un biomarcador hace referencia a un indicador objetivo del estado médico observado desde fuera del paciente, y que puede ser medido de forma precisa y reproducible.⁶⁶ Al respecto, se ha reportado que los biomarcadores potenciales de la enfermedad periodontal pueden ser *no específicos*, los cuales corresponden a cambios en las concentraciones de las proteínas sintetizadas por las glándulas salivales asociados con la presencia de periodontitis,⁶⁵ y *específicos*, los cuales son producto directo de la síntesis proteica derivada del proceso inflamatorio ocurrido durante la enfermedad periodontal.⁶⁷

Los principales hallazgos derivados de la búsqueda de biomarcadores *no específicos* asociados con la presencia de enfermedad periodontal se describen a continuación:

- 1. α -amilasa:** es la proteína más abundante en saliva total. Se ha reportado que diversas isoformas de esta proteína se encuentran aumentadas en sujetos con enfermedad periodontal, pudiendo alcanzar niveles superiores a 600 $\mu\text{g/mL}$ en saliva total de sujetos con periodontitis severa, y disminuyendo a valores cercanos a los 300 $\mu\text{g/mL}$ posterior al tratamiento periodontal.^{38,40,56}
- 2. Cistatinas:** se ha sugerido que las cistatinas actúan como moduladoras de la actividad enzimática del periodonto durante el desarrollo de la enfermedad periodontal.⁶⁸ Dentro de esta familia de proteínas, la cistatina SN posee efectos inhibitorios *in vitro* sobre las catepsinas B, H y L, involucradas en el catabolismo de proteínas estructurales de los tejidos periodontales,^{38,42,68} mientras que las cistatinas C y S, han demostrado inhibir el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*.⁶⁹ Hartenbach y colaboradores⁷⁰ reportaron un incremento en los niveles de cistatina SA, en sujetos con enfermedad periodontal, esto probablemente debido a un intento de frenar la actividad proteolítica desencadenada por la periodontitis. Mientras que Gonçalves y colaboradores³⁸ reportaron una disminución en las concentraciones de la cistatina SN, por lo que podrían esperarse valores superiores a los 280 $\mu\text{g/mL}$ y menores a 240 $\mu\text{g/mL}$ de cistatina SA y SN, respectivamente, en sujetos con periodontitis.⁴⁰
- 3. Defensinas:** con base en su patrón de emparejamiento de cisteínas se pueden distinguir dos subfamilias, denominadas α -defensinas y β -defensinas,⁴¹ las primeras son producidas y almacenadas por neutrófilos, mientras que las segundas son sintetizadas por queratinocitos, principalmente.^{60,71} Ambas presentan propiedades antimicrobianas atribuidas a su carga positiva. Además de sus propiedades antimicrobianas, las β -defensinas también presentan propiedades antifúngicas, en particular contra *Candida albicans*.^{44,72} Aunque no se ha reportado el incremento en la concentración de defensinas en la saliva total de sujetos con enfermedad periodontal, recientemente se reportó que los niveles de β -defensinas incrementan en fluido crevicular gingival de sujetos con periodontitis.⁴⁵
- 4. Estaterinas:** son péptidos precursores de la película salival adquirida (PSA),^{50,73} que permiten la interacción de *Fusobacterium nucleatum* con colonizadores primarios de la biopelícula dental.⁷³ Previamente se ha reportado que la concentración de péptidos derivados de estaterina en sujetos con periodontitis es cinco veces menor en comparación con los niveles cuantificados en saliva total de sujetos periodontalmente sanos, es decir, podrían encontrarse valores inferiores a los 2.4 $\mu\text{g/mL}$ de péptidos derivados de estaterinas, en comparación con sujetos periodontalmente sanos donde se pueden esperar valores cercanos a los 12 $\mu\text{g/mL}$.⁴⁰ Debido a esta correlación negativa entre la concentración de esta familia de proteínas en saliva total y la presencia de la periodontitis, autores como Inzitari y su equipo⁴⁹ expresan su interés en el potencial de los péptidos pertenecientes a esta familia para el monitoreo del desarrollo de periodontitis.
- 5. Histatinas:** son péptidos básicos ricos en residuos de histidina.^{51,74} Histatina 5 posee la capacidad de inhibir a las gingipainas arginina-específicas (Arg-gingipainas o Rgp) y lisina-específicas (Lys-gingipainas o Kgp), producidas por *P. gingivalis*,^{75,76} además de inhibir la actividad gelatinolítica de las metaloproteinasas de matriz (MMP) -2 y -9 hasta en 99%.^{58,75} Además, las histatinas 1, 2 y 3 desempeñan un papel en la cicatrización de heridas, participando en los procesos angiogénicos, promoviendo la reepitelización de heridas y la proliferación fibroblástica.^{53,77} Se ha reportado que histatina 1 pudiera tener aplicaciones diagnósticas, ya que el incremento de su concentración en saliva total ha sido relacionada con la presencia de enfermedad periodontal,^{58,70} encontrándose que en sujetos con periodontitis la concentración en saliva total de histatina 1 podría alcanzar valores superiores a los 27 $\mu\text{g/mL}$.⁵²

- 6. Mucinas:** son el mayor componente proteico secretado por las glándulas submandibular y sublingual. Se ha reportado que la concentración de MUC-1 en saliva total aumenta en sujetos con enfermedad periodontal, especialmente cuando los parámetros clínicos de medición PS, NIC, y SS se encuentran incrementados, lo cual podría suponer un mecanismo de defensa de las glándulas salivales y epitelios ante el desarrollo de periodontitis, mediante la aglutinación de microorganismos y su posterior deglución.⁵⁶ Además, MUC-1, -4, y -16 desempeñan un papel importante en la metástasis a distancia de ciertos carcinomas orales, ya que actúan como mediadores entre leucocitos y células cancerígenas en el microambiente tumoral y facilitan la colonización de células diseminadas a la distancia.⁷⁸ Tomando lo anterior en consideración, estas proteínas han sido objeto de estudio para alternativas en el tratamiento de diversos carcinomas como el pancreático, ovárico, de mama y de cabeza y cuello, mediante la radioinmunoterapia (RIT) basada en mucinas y vacunación, enfocándose en proteínas como la MUC1, -4, -5AC, -5B, -16 y -17.⁷⁸
- 7. Péptidos P-B:** corresponden a péptidos ricos en prolina secretados por todas las glándulas salivales, los cuales, contrario a lo que se creía, no son producto de la degradación de otras proteínas sino péptidos maduros por sí mismos, cuyas funciones en saliva total aún no han sido del todo elucidadas;⁴⁹ sin embargo, se ha reportado que poseen propiedades antimicrobianas.⁵⁸ Dentro de sus posibles aplicaciones en el diagnóstico periodontal, se ha indicado que la concentración de fragmentos provenientes de estos péptidos en saliva total se duplica en sujetos con enfermedad periodontal en comparación con sujetos periodontalmente sanos.^{58,79}
- 8. Peroxidasas:** existen tres subgrupos principales de peroxidasas: lactoperoxidasa (hLPO), la cual es segregada por las glándulas salivales, mieloperoxidasa (hMPO),^{60,61} la cual proviene de gránulos de neutrófilos y catalasa, que proviene de eritrocitos y es capaz de catalizar la conversión del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua (H_2O).⁶⁰ Dichas enzimas han demostrado tener un papel importante en lo que supondría el inicio de la disbiosis en la biopelícula dental.⁸⁰ Desafortunadamente, no existen estudios suficientes que ofrezcan datos cuantitativos de los cambios en las concentraciones de peroxidasas en saliva total asociados con la presencia de periodontitis.
- 9. Proteínas ricas en prolina (PRPs):** esta familia de proteínas que se divide en tres subtipos: PRPs-ácidas (PRPs-a), PRPs-básicas (PRPs-b)

y PRPs-glucosiladas (PRPs-g), cuentan con diversas funciones como evitar el sobrecrecimiento de cristales de hidroxiapatita sobre superficies de esmalte, además de participar en la formación de la PSA.^{40,57} También poseen actividad antimicrobiana, por lo que se ha sugerido que un aumento de su secreción en saliva total podría representar un mecanismo de defensa ante un incremento en la carga bacteriana dentro de la cavidad oral.⁵⁸ Su posible función diagnóstica no es del todo clara, ya que mientras que se ha reportado que la concentración de las PRPs-a incrementa en sujetos con enfermedad periodontal,⁷⁰ Trindade y colaboradores⁵⁸ reportan que las isoformas PRPs-a y PRP-b no presentan cambios cuantitativos estadísticamente significativos cuando se compara su concentración en saliva total de sujetos con periodontitis versus sujetos periodontalmente sanos.

Además de los cambios en las concentraciones de las proteínas producidas por las glándulas salivales asociados con la presencia de la enfermedad periodontal antes descritos, una gran cantidad de citocinas, mediadores proinflamatorios y metaloproteasas de matriz (MMP) son producidos durante el proceso inflamatorio característico de la periodontitis. Se ha reportado que particularmente MMP-8, -9 y -13 están involucradas en la cascada de eventos que conduce a la degradación de los tejidos gingivales y del tejido óseo alveolar,⁸¹ por lo que se espera que una elevada actividad proteolítica sea reflejada en saliva total de los sujetos que cursan con enfermedad periodontal. Como ya fue mencionado con anterioridad, los cambios en el proteoma salival derivados de la síntesis proteica asociada al proceso inflamatorio ocurrido durante la enfermedad periodontal constituyen la base para la identificación de los *biomarcadores específicos* de la periodontitis,⁶⁵ los más relevantes se describen a continuación:

- 1. Inmunoglobulina (Ig) A:** es el isotipo principal de inmunoglobulina encontrado en saliva⁸² y constituye el principal mecanismo de la respuesta inmunológica específica contra microorganismos patogénicos.^{83,84} Al ser parte de los mecanismos de defensa dentro de la cavidad oral, es esperado que sus niveles se encuentren aumentados en sujetos con enfermedad periodontal.^{83,84} Además se ha reportado que sus niveles en saliva disminuyen significativamente después de una terapia periodontal efectiva.⁸⁴
- 2. Interleucina (IL) -1 β :** es una citocina proinflamatoria que desempeña un papel fundamental

en la patogenia de la periodontitis.⁸⁵ Es principalmente secretada por neutrófilos, células dendríticas, macrófagos y fibroblastos,^{84,86} al igual que su homóloga IL-1 α .⁸⁷ Se ha reportado que su concentración en saliva total se encuentra incrementada en sujetos que presentan enfermedad periodontal.^{86,88} Junto con MMP8, IL-1 β han sido los biomarcadores salivales más investigados en el campo de la precisión diagnóstica, ambos con una eficacia clínicamente aceptable para el diagnóstico de periodontitis.⁸⁹

3. Interleucina (IL) -17a: se trata de una citocina proinflamatoria producida por los linfocitos Th17 activados, la cual induce inflamación y resorción ósea, estimulando la liberación de quimiocinas y la expresión de MMP, como la MMP-1 y -8,⁹⁰ varios de sus

efectos son producidos por su sinergia con IL-1 β y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α .⁸⁸ Liukkonen y su grupo⁸⁸ reportaron un aumento en los niveles de IL-17a en la saliva total de sujetos con enfermedad periodontal localizada, por lo que esta citocina ha sido considerada como un posible biomarcador de la periodontitis en sus estadios tempranos.

4. Prostaglandina (PG) E₂: es un mediador inflamatorio producto del metabolismo del ácido araquidónico, liberado principalmente por neutrófilos, macrófagos y fibroblastos.⁸⁶ Este mediador inflamatorio incrementa la actividad osteoclastica y la resorción ósea, lo que se traduce clínicamente en la pérdida de los niveles de inserción periodontales.^{91,92} Hoy en día, no existen datos suficientes que definan los cambios en las concentraciones en saliva total de

Tabla 2: Cambios en las concentraciones de proteínas presentes en saliva total, asociados con la presencia de periodontitis.
Changes in protein concentrations present in total saliva associated with the presence of periodontitis.

UniProt*/NCBI‡	Nombre de la proteína	Relación con periodontitis
P17654*/gi 178585‡	α -amilasa	↑ (38)
P60709*	Actina, citoplásmica 1	↑ (58)
P01034*	Cistatina-C	↑ (70)
P28325*	Cistatina-D	↑ (70)
P01036*/gi 30366‡	Cistatina-S	↑ (70,95)
P09228*	Cistatina-SA	↑ (70)
P01037*	Cistatina-SN	↓ (38)
P59666*	Defensina 3 de neutrófilos	↑ (95)
P15515*	Histatina 1	↓ (70,95)
P22079*	Lactoperoxidasa	↓ (95)
P05164*	Mieloperoxidasa	↓ (70)
Q9HC84*/gi 11275568‡	Mucina-5B	↑ (40,95)
Q8TAX7*	Mucina-7	↓ (95)
P35325*	Proteína 2B pequeña rica en prolina	↓ (95)
Q9UBC9*	Proteína 3 pequeña rica en prolina	↓ (70,95)
P02814*	Proteína regulada por andrógenos de la glándula submaxilar 3B	↑ (58,70)
Q6MZM9*	Proteína rica en prolina 27	↓ (70)
gi 21264497‡	Proteína rica en prolina 3	↓ (40)
P02812*	Proteína rica en prolina básica salival 2	↑ (70)
Q04118*	Proteína rica en prolina básica salival 3	↑ (58)
P31949*	Proteína S100-A11	↓ (70)
Q9HCY8*	Proteína S100-A14	↓ (70)
Q96FQ6*	Proteína S100-A16	↓ (70)
P06703*	Proteína S100-A6	↑ (37,70)
P31151*	Proteína S100-A7	↓ (70)
P05109*	Proteína S100-A8	↑ (37,95)
P06702*/gi 4506773‡	Proteína S100-A9	↑ (37,95)
P25815*	Proteína S100-P	↑ (95)

Una versión extendida de la *Tabla 2* está disponible a petición del interesado. ↑ = representa un aumento de la concentración proteica en sujetos con periodontitis. ↓ = representa una disminución de la concentración proteica en sujetos con periodontitis. * = referencia numérica asignada por la base de datos UniProt para la identificación de la proteína. ‡ = referencia numérica asignada por el NCBI para la identificación de la proteína. NCBI = National Center for Biotechnology Information. UniProt = UniProt Base de datos. An extended version of *Table 2* is available upon request. ↑ = represents an increase in protein concentration in subjects with periodontitis. ↓ = represents a decrease in protein concentration in subjects with periodontitis. * = numerical reference assigned by UniProt database for protein identification. ‡ = numerical reference assigned by NCBI for protein identification. NCBI = National Center for Biotechnology Information. UniProt = UniProt Database.

la PGE₂ por sí sola; sin embargo, se ha reportado un incremento en su concentración en conjunto con IL-1β conforme incrementa la severidad de la enfermedad periodontal, alcanzando aumentos de hasta 194%.⁸⁶ Otros autores,⁹² también han reportado aumentos de PGE₂ asociado con otras biomoléculas como TNF-α u óxido nítrico.

5. Factor de necrosis tumoral-α (TNF-α): al igual que la PGE₂, el TNF-α es un mediador inflamatorio que tiene una fuerte influencia positiva sobre la actividad osteoclástica y la resorción ósea.⁹³ Frodge y su equipo⁹⁴ reportaron un incremento en la concentración de esta citocina en saliva total de sujetos con enfermedad periodontal.

Además de los cambios en las concentraciones de diversas proteínas en saliva total antes descritos, la *Tabla 2* muestra un resumen de diversas proteínas salivales que también se encuentran bajo estudio por su posible potencial para ser utilizadas como biomarcadores de la enfermedad periodontal.^{37,38,40,58,70,95}

Perspectivas de los biomarcadores identificados en el proteoma salival para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal

Como hemos visto, la saliva contiene una abundancia de proteínas y otras biomoléculas que pueden reflejar el estado fisiopatológico de los tejidos periodontales durante la periodontitis, por lo que cada vez ha sido más claro que el diagnóstico salival podría ofrecer un enfoque seguro y no invasivo para la detección y monitoreo de la enfermedad, y que además posee un alto potencial para revolucionar el diagnóstico de la periodontitis.⁹⁶

La comunidad científica sigue enfocada en generar evidencia de la más alta calidad sobre la precisión diagnóstica de los biomarcadores salivales, para que éstos puedan ser utilizados de forma rutinaria en un futuro cercano.^{89,97} La evidencia disponible actualmente indica que MMP-8, MMP-9, IL-1β, IL-6 y hemoglobina (Hb) son los biomarcadores salivales con mayor capacidad para detectar periodontitis en sujetos sistémicamente sanos; MMP-9 e IL-1β muestran además una buena capacidad para discernir entre casos de no-periodontitis. Otras moléculas como cisteína, proteína inflamatoria de macrófago 1α (MIP-1α) y óxido nítrico (y sus metabolitos relacionados), también se han identificado como biomarcadores salivales prometedores según lo reportado en un reciente metaanálisis;⁸⁹ sin embargo se requieren estudios adicionales para confirmar estos hallazgos.

La era proteómica ha permitido que la identificación de múltiples biomarcadores potenciales en saliva total

sea una meta alcanzable, esto aunado a la reciente creación del Consorcio Internacional de Biomarcadores Salivales de Periodontitis que pretende asegurar la implementación de protocolos estandarizados para la investigación clínica,⁶⁷ además de los avances en las tecnologías diagnósticas, hacen suponer que el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal utilizando herramientas moleculares sea una propuesta realista, hoy más cercana que nunca.⁹⁸

CONCLUSIONES

La comprensión incrementada de los componentes del proteoma salival, sus modificaciones y dinámicas en salud y enfermedad permitirán que la saliva ingrese a la práctica clínica como fluido biológico alternativo para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal, fungiendo como un complemento del sondeo periodontal, el cual actualmente continúa siendo el componente fundamental en la examinación odontológica completa.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM, Clave: IA208220, por el apoyo proporcionado para la realización del presente trabajo.

Literature review

Salivary proteome: scopes and perspectives for the diagnosis and monitoring of periodontal disease. Literature review

Luis Alonso Flores-Reyna,*
Miryam Martínez-Hernández§

* Alumno Especialidad en Periodoncia e Implantología.
§ Laboratorio de Biointerfases. Facultad de Odontología.

División de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de México.

ABSTRACT

Introduction: this literature review examines changes in the salivary proteome related to the presence of periodontitis that can be used for diagnosis and monitoring of the disease, this is possible because whole saliva contains a variety of local mediators derived from microbial and host responses, as well as systemic

(plasma) markers that may be useful in periodontal diagnosis. **Objective:** to document reported changes in the salivary proteome associated with the presence of periodontitis with potential for use in the diagnosis and monitoring of the disease. **Material and methods:** the PubMed, SpringerLink, Google Scholar, WILEY and ScienceDirect databases were queried using the search terms «salivary proteome AND salivary diagnosis; salivary protein profile AND periodontal disease AND periodontitis» to identify publications reporting changes in the salivary protein profile of subjects diagnosed with periodontitis. Review articles, original articles published in indexed journals and consensus documents in English and Spanish were included. **Results:** salivary proteins such as α -amylase, cystatin-C, and mucin-5B were reported as increased by some authors, while proteins like cystatin-SN, lactoperoxidase, and mucin-7 were reported as decreased when comparing the salivary protein proteome of systemically healthy subjects with periodontitis versus subjects without periodontitis. These results confirm the existence of changes in the salivary proteome associated with the presence of periodontitis. **Conclusions:** the changes in the salivary proteome associated with the presence of periodontitis identified in the present literature review require further investigation because of their potential for use in the diagnosis and monitoring of periodontitis.

Keywords: salivary proteome, periodontal diagnosis, periodontal monitoring, salivary biomarkers, periodontal disease.

INTRODUCTION

Periodontal diseases are a group of inflammatory conditions that affect the dental supporting tissues - gingiva, periodontal ligament, root cementum, and alveolar bone - within this group of conditions, we find gingivitis and periodontitis.^{1,2} The development of periodontitis is associated with the presence of a dysbiotic dental biofilm, which induces the deregulation of the host immune response.³ This dysregulation, together with hereditary and environmental factors⁴ such as smoking,⁴ finally leads to the destruction of periodontal tissues and consequent tooth loss.^{3,5} It is estimated that 743 million people suffer from periodontitis, making it the sixth most prevalent disease in the world and the third most common oral disease.⁶⁻⁸ The correct diagnosis of periodontitis is crucial for the successful treatment of the disease and is generally based on the evaluation of clinical parameters of inflammation, such as bleeding upon probing (BP),⁴ probing depth (PD),⁹ and changes in clinical insertion levels (CIN),¹⁰ as well as the extent and pattern of alveolar bone loss, the latter being evaluated radiographically. Today, dentoalveolar radiographs and periodontal probing continue to be the main tools for diagnosing and evaluating the presence and progression of periodontal disease.

The periodontal probe was described by Orban in the 1950s as the «clinician's eyes below the gingival margin»¹¹ and has been used since and has been used then to record the extent of periodontal damage.¹²⁻¹⁴

However, its use has certain limitations. Some of these limitations may be the result of interference in the periodontal probe's path of insertion due to the presence of calculus on the tooth surfaces, overhanging restorations; incorrect pressure or angle of insertion during probing. In addition, the degree of inflammation of the periodontal tissues affects the sensitivity and reproducibility of the measurements.¹⁵ All of these factors increase the likelihood of a false positive or false negative periodontal diagnosis, which commonly results in under- or over-treatment of periodontitis.¹⁶ Additionally, changes in CINs are only detectable when an attachment loss equivalent to ≥ 2 mm has occurred, indicating that periodontal probing provides historical evidence of the presence and extent of periodontal disease, without providing real-time or predictive evidence of the course of the disease.^{17,18}

The limitations that currently exist to diagnose and monitor periodontitis by periodontal probing and the use of radiographic evidence have marked a challenge in biomedical research, so in recent decades more and more studies have focused on identifying quantifiable biomarkers in total saliva that can reliably reflect the pathophysiological state of the gingival sulcus, and that can complement periodontal probing to achieve early detection and correct monitoring of periodontitis.^{18,19} The present review aims to describe the existence of changes in the salivary proteome associated with the presence of periodontitis with the potential to be used for disease diagnosis and monitoring. To that end, an extensive search of scientific literature in indexed journals was conducted from March 2020 to March 2021, following a previously established methodology.^{20,21} The articles included in this review were consulted in electronic bibliographic information sources: PudMed, SpringerLink, Google Scholar, WILEY, and ScienceDirect, using the following keywords: «(Salivary proteome) AND (Salivary diagnosis); (Salivary protein profile) AND (Periodontal disease) AND (Periodontitis)» and that were written in English or Spanish.

Functions of saliva in the oral ecosystem

The human oral cavity represents a complex ecosystem where external factors and host elements interact in a dynamic equilibrium that is reflected in saliva. Saliva plays different roles in the maintenance of oral health, for example, it lubricates oral surfaces, maintains tooth integrity by reducing enamel demineralization, provides elements of innate and adaptive host immunity, and acts as the primary nutrient for the resident oral microbiota, which is mainly organized in the form of biofilms on the different oral surfaces.^{22,23}

It is now known that the microbiome has coevolved with humans over the centuries, and its relevance is crucial because it plays a determining role in the establishment of health and disease states.²⁴ Under equilibrium conditions, the oral microbiome maintains a symbiotic and dynamic relationship with the host, which will be a determining factor in health. However, changes in the microbial population may promote the development of a pathological inflammatory state as a consequence of microbiome dysbiosis.²⁵ Inflammatory states in the host are often favored by modifiers such as the presence of systemic diseases (e.g. diabetes mellitus type I and II), poor oral hygiene, smoking, or alterations in salivary flow.²⁶⁻²⁸ Dysbiosis of the oral microbiome is the determinant factor in the development of periodontal disease²⁹ which induce changes in the salivary proteome.

Changes in the salivary proteome and their potential for diagnosis and monitoring of periodontal disease

Saliva is a biological fluid that is made up of a variety of functionally and structurally complex biomolecules, such as proteins, lipids, and carbohydrates,²² which is why it is currently considered one of the most valuable biofluids for biomedical research. It has a pH between 6-7, reaching daily secretion volumes of 0.5-1.5 L (0.5 mL/min).³⁰ Secretion values are influenced by factors such as age, medication, hydration, psychological conditions such as stress and depression, and circadian rhythms.³¹⁻³³ It is composed of 99-99.5% water and only 0.5-1% protein and minerals (32,34). Its average protein concentration is between 0.7-2.4 mg/mL⁻¹; and being an ultrafiltrate of plasma, it shares 30% of its protein content with that biofluid.³¹

The term «proteome» refers to the complete set of proteins that can be expressed by a genome, cell, tissue, or organism at any given time.³⁵ Thus, the salivary proteome associated with the presence of periodontitis refers to all the proteins present in the saliva of an individual with this disease,^{36,37} Saliva is produced in the salivary glands within acinar cells where, after stimulation, it passes into a branched network of ducts to be secreted into the oral cavity. It is here that pristine saliva mixes with other biocomponents and aggregates derived from various sources such as blood, gingival crevicular fluid, food debris, oral cells, microbiota, as well as DNA and RNA; the mixture of all these components makes up what is known as total saliva.^{29,38} Today, ~ 2,643 proteins have been identified in total saliva³⁹ among which, it is possible to identify 9 different families that together represent about 40% of the total salivary protein content. *Table 1* describes these 9 protein families.^{22,40-63}

The heterogeneity and diversity of the protein content present in total saliva allow this biofluid to be considered a «reflection of oral and systemic health».^{30,64,65} Thus, the identification of salivary protein expression profiles associated with the presence of periodontitis is relevant, since these changes constitute the basis for the identification of possible biomarkers of periodontal disease that may contribute to the early diagnosis and correct monitoring of periodontitis.^{29,38} A biomarker refers to an objective indicator of the medical condition observed from outside the patient, that can be measured accurately and reproducibly.⁶⁶ In this regard, it has been reported that potential biomarkers of periodontal disease can be *nonspecific*, which correspond to changes in the concentrations of proteins synthesized by the salivary glands associated with the presence of periodontitis⁶⁵ and *specific*, which are a direct product of the protein synthesis derived from the inflammatory process occurring during periodontal disease.⁶⁷

The main findings derived from the search for *non-specific* biomarkers associated with the presence of periodontal disease are described below:

- 1. α -amylase:** it is the most abundant protein in total saliva. It has been reported that several isoforms of this protein are increased in subjects with periodontal disease, reaching levels higher than 600 $\mu\text{g/mL}$ in total saliva of subjects with severe periodontitis, and decreasing to values close to 300 $\mu\text{g/mL}$ after periodontal treatment.^{38,40,56}
- 2. Cystatins:** it has been suggested that cystatins act as modulators of the enzymatic activity of the periodontium during the development of periodontal disease.⁶⁸ Within this family of proteins, cystatin SN has inhibitory effects *in vitro* on cathepsins B, H, and L, involved in the catabolism of structural proteins of periodontal tissues,^{38,42,68} while cystatins C and S have been shown to inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis*.⁶⁹ Hartenbach et al.⁷⁰ reported an increase in cystatin SA levels in subjects with periodontal disease, probably due to an attempt to slow down the proteolytic activity triggered by periodontitis. Gonçalves et al.³⁸ reported a decrease in the concentrations of cystatin SN, so values higher than 280 $\mu\text{g/mL}$ and lower than 240 $\mu\text{g/mL}$ of cystatin SA and SN, respectively, could be expected in subjects with periodontitis.⁴⁰
- 3. Defensins:** based on their cysteine pairing pattern, two subfamilies, called α -defensins and β -defensins, can be distinguished.⁴¹ The former are produced and stored by neutrophils, while the latter are synthesized mainly by keratinocytes.^{60,71}

Both have antimicrobial properties attributed to their positive charge. In addition to their antimicrobial properties, β -defensins also exhibit antifungal properties, in particular against *Candida albicans*.^{44,72} Although the increased concentration of defensins in the total saliva of subjects with periodontal disease has not been reported, it was recently demonstrated that β -defensin levels increase in the gingival crevicular fluid of subjects with periodontitis.⁴⁵

4. **Staterins:** staterins are peptide precursors of the acquired salivary film (ASF)^{50,73} that allow the interaction of *Fusobacterium nucleatum* with primary colonizers of dental biofilm.⁷³ It has previously been reported that the concentration of staterin-derived peptides in subjects with periodontitis is five times lower compared to the levels quantified in total saliva of periodontally healthy subjects, i.e., values lower than 2.4 $\mu\text{g/mL}$ of staterin-derived peptides could be found, compared to periodontally healthy subjects where values close to 12 $\mu\text{g/mL}$ can be expected.⁴⁰ Due to this negative correlation between the concentration of this family of proteins in total saliva and the presence of periodontitis, authors such as Inzitari et al.⁴⁹ express their interest in the potential of peptides belonging to this family for monitoring the development of periodontitis.
5. **Histatins:** these are basic peptides rich in histidine residues.^{51,74} Histatin 5 has the ability to inhibit arginine-specific gingipains (Arg-gingipains or Rgp) and lysine-specific gingipains (Lys-gingipains or Kgp), produced by *P. gingivalis*;^{75,76} it also inhibits the gelatinolytic activity of matrix metalloproteinases (MMPs) -2 and -9 by up to 99%.^{58,75} In addition, histatins 1, 2, and 3 play a role in wound healing, participating in angiogenic processes, and promoting wound re-epithelialization and fibroblastic proliferation.^{53,77} It has been reported that histatin 1 could have diagnostic applications since the increase of its concentration in total saliva has been related to the presence of periodontal disease.^{58,70} It has been found that in subjects with periodontitis, the concentration in total saliva of histatin 1 could reach values higher than 27 $\mu\text{g/mL}$.⁵²
6. **Mucins:** they are the major protein component secreted by the submandibular and sublingual glands. It has been reported that the concentration of MUC-1 in total saliva increases in subjects with periodontal disease, especially when the clinical parameters of PD, CIN, and BP are increased, which could be a defense mechanism of the salivary glands and epithelia against the development of periodontitis, through the agglutination of microorganisms and their subsequent swallowing.⁵⁶ In addition, MUC-1, -4, and -16 play an important role in the distant metastasis of certain oral

carcinomas, as they act as mediators between leukocytes and cancer cells in the tumor microenvironment and facilitate the colonization of distant disseminated cells.⁷⁸ Taking the above into consideration, these proteins have been the subject of study for alternatives in the treatment of various carcinomas such as pancreatic, ovarian, breast, and head and neck carcinomas, through mucin-based radioimmunotherapy (RIT) and vaccination, focusing on proteins such as MUC1, -4, -5AC, -5B, -16 and -17.⁷⁸

7. **P-B peptides:** they are proline-rich peptides secreted by all salivary glands, which, contrary to what was believed, are not the product of the degradation of other proteins but mature peptides by themselves, whose functions in total saliva have not yet been fully elucidated.⁴⁹ However, they have been reported to possess *antimicrobial* properties.⁵⁸ Within their possible applications in periodontal diagnosis, it has been suggested that the concentration of fragments from these peptides in total saliva is doubled in subjects with periodontal disease compared to periodontally healthy subjects.^{58,79}
8. **Peroxidases:** there are three main subgroups of peroxidases: lactoperoxidase (hLPO), which is secreted by the salivary glands, myeloperoxidase (hMPO).^{60,61} which comes from neutrophil granules and catalase, which comes from erythrocytes and can catalyze the conversion of hydrogen peroxide (H_2O_2) into water (H_2O).⁶⁰ These enzymes have been shown to play an important role in what would be the onset of dysbiosis in the dental biofilm.⁸⁰ Unfortunately, there are insufficient studies that provide quantitative data on the changes in the concentrations of peroxidases in total saliva associated with the presence of periodontitis.
9. **Proline-rich proteins (PRPs):** this family of proteins, which is divided into 3 subtypes: acidic PRPs (PRPs-a), basic PRPs (PRPs-b) and glycosylated PRPs (PRPs-g), have several functions such as preventing the overgrowth of hydroxyapatite crystals on enamel surfaces, in addition to participating in the formation of ASF.^{40,57} They also possess antimicrobial activity, so it has been suggested that an increase in their secretion in total saliva could represent a defense mechanism against an increase in the bacterial load in the oral cavity.⁵⁸ Its possible diagnostic role is not entirely clear, since while it has been reported that the concentration of PRPs-a increases in subjects with periodontal disease.⁷⁰ Trindade et al.⁵⁸ report that PRPs-a and PRP-b isoforms do not present statistically significant quantitative changes when comparing their concentration in total saliva of subjects with periodontitis vs. periodontally healthy subjects.

In addition to the changes in protein concentrations produced by salivary glands associated with the presence of periodontal disease described above, a large number of cytokines, pro-inflammatory mediators, and matrix metalloproteases (MMPs) are produced during the inflammatory process characteristic of periodontitis. It has been reported that particularly MMP-8, -9 and -13 are involved in the cascade of events leading to the degradation of gingival tissues and alveolar bone tissue⁸¹, so that elevated proteolytic activity is expected to be reflected in total saliva of subjects with periodontal disease. As previously mentioned, changes in the salivary proteome derived from the protein synthesis associated with the inflammatory process occurring during periodontal disease constitute the basis for the identification of periodontitis-specific biomarkers.⁶⁵ The most relevant ones are described below:

1. **Immunoglobulin (Ig) A:** the main immunoglobulin isotype found in saliva.⁸² It constitutes the main mechanism of the specific immunologic response against pathogenic microorganisms.^{83,84} As part of the defense mechanisms within the oral cavity, it is expected that its levels are increased in subjects with periodontal disease.^{83,84} Additionally, it has been reported that their levels in saliva decrease significantly after effective periodontal therapy.⁸⁴
2. **Interleukin (IL)-1 β :** a proinflammatory cytokine that plays a key role in the pathogenesis of periodontitis.⁸⁵ It is mainly secreted by neutrophils, dendritic cells, macrophages, and fibroblasts^{84,86} as is its counterpart IL-1 α .⁸⁷ It has been reported that its concentration in total saliva is increased in subjects with periodontal disease.^{86,88} Together with MMP8, IL-1 β has been the most investigated salivary biomarker in the field of diagnostic accuracy, both with a clinically acceptable efficacy for the diagnosis of periodontitis.⁸⁹
3. **Interleukin (IL)-17a:** this is a proinflammatory cytokine produced by activated Th17 lymphocytes that induces inflammation and bone resorption, stimulating the release of chemokines and the expression of matrix metalloproteases (MMPs), such as MMP-1 and -8.⁹⁰ Some of its effects are produced by its synergy with IL-1 β and tumor necrosis factor (TNF)- α .⁸⁸ Liukkonen et al.⁸⁹ reported an increase in IL-17a levels in the total saliva of subjects with localized periodontal disease, so this cytokine has been considered as a possible biomarker of periodontitis in its early stages.
4. **Prostaglandin (PG) E₂:** it is an inflammatory mediator product of the metabolism of arachidonic acid, released mainly by neutrophils, macrophages, and fibroblasts.⁸⁶ This inflammatory mediator increases

osteoclastic activity and bone resorption, which translates clinically into a loss of periodontal attachment levels.^{91,92} Nowadays, there is not enough data to define the changes in total saliva concentrations of PGE₂ alone, however, an increase in its concentration in conjunction with IL-1 β has been reported as the severity of periodontal disease increases, reaching increases of up to 194%.⁸⁶ Other authors⁹² have also reported increases in PGE₂ associated with other biomolecules such as TNF- α or nitrous oxide.

5. **Tumor necrosis factor- α (TNF- α):** like PGE₂, TNF- α is an inflammatory mediator that has a strong positive influence on osteoclastic activity and bone resorption.⁹³ Frodge et al.⁹⁴ reported an increase in the concentration of this cytokine in the total saliva of subjects with periodontal disease.

In addition to the changes in the concentrations of various proteins in total saliva described above, [Table 2](#) shows a summary of salivary proteins that are also under study for their possible potential to be used as biomarkers of periodontal disease.^{37,38,40,58,70,95}

Insights from biomarkers identified in the salivary proteome for the diagnosis and monitoring of periodontal disease

As we have seen, saliva contains an abundance of proteins and other biomolecules that may reflect the pathophysiological state of periodontal tissues during periodontitis, so it has become increasingly clear that salivary diagnostics could offer a safe and noninvasive approach to disease detection and monitoring, and that it also has a high potential to revolutionize the diagnosis of periodontitis.⁹⁶

The scientific community remains focused on generating the highest quality evidence on the diagnostic accuracy of salivary biomarkers so that they can be used routinely in the near future.^{89,97} Currently available evidence indicates that MMP-8, MMP-9, IL-1 β , IL-6, and hemoglobin (Hb) are the salivary biomarkers with the highest ability to detect periodontitis in systemically healthy subjects; MMP-9 and IL-1 β also show a good ability to distinguish between cases without periodontitis. Other molecules such as cysteine, macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α), and nitric oxide (and its related metabolites), have also been identified as promising salivary biomarkers as reported in a recent meta-analysis.⁸⁹ However, further studies are required to confirm these findings.

The proteomic era has made the identification of multiple potential biomarkers in total saliva an achievable goal, coupled with the recent creation of

the International Consortium for Salivary Biomarkers of Periodontitis, which aims to ensure the implementation of standardized protocols for clinical research.⁶⁷ Likewise, advancements in diagnostic technologies suggest that the diagnosis and monitoring of periodontal disease using molecular tools is a realistic proposal, today closer than ever before.⁹⁸

CONCLUSIONS

Increased understanding of the components of the salivary proteome, its modifications, and dynamics in health and disease will allow saliva to enter clinical practice as an alternative biological fluid for the diagnosis and monitoring of periodontal disease, serving as a complement to periodontal probing, which currently remains the fundamental component of a comprehensive dental examination.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) of the UNAM, Code: IA208220, for the support provided for this work.

REFERENCIAS / REFERENCES

- Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*. 2018; 89 (Suppl20): S1-8. doi: 10.1111/jcpe.12935.
- Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*. 2018; 89 (Suppl1): S159-172. doi: 10.1002/JPER.18-0006.
- Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH et al. Periodontitis: consensus report of workgroup 2 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions: classification and case definitions for periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2018; 45 (Suppl 20): S162-170. doi: 10.1111/jcpe.12946.
- Jenkins W, MacFarlane T, Gilmour W. Longitudinal study of untreated periodontitis (I). Clinical findings. *J Clin Periodontol*. 1988; 15 (5): 324-330. doi: 10.1111/j.1600-051x.1988.tb01591.x.
- Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*. 1997; 14 (1): 9-11. doi: 10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x
- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*. 2014; 93 (11): 1045-1053. doi: 10.1177/0022034514552491.
- Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015; 386 (9995): 743-800. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60692-4.
- Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T et al. Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990-2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors. *J Dent Res*. 2017; 96 (4): 380-387. doi: 10.1177/0022034517693566.
- Robertson PB, Buchanan SA, Armitage GC, Newbrun E, Taggart EJ, Hoover CI. Evaluation of clinical and microbiological measures to predict treatment response in severe periodontitis. *J Periodontol Res*. 1987; 22 (3): 230-232. doi: 10.1111/j.1600-0765.1987.tb01576.x.
- Burmeister JA, Best AM, Palcanis KG, Caine FA, Ranney RR. Localized juvenile periodontitis and generalized severe periodontitis: clinical findings. *J Clin Periodontol*. 1984; 11 (3): 181-192. doi: 10.1111/j.1600-051x.1984.tb01322.x
- Orban B Jr, Wentz F, Everett F, Grant D. *Periodontics: a concept-theory and practice*. 4th edition. St. Louis: Mosby; 1958.
- Simonton F. Examination of the mouth-with special reference to pyorrhea. *J Am Dent Assoc*. 1925; 12 (3): 287-295. doi: 10.14219/jada.archive.1925.0061.
- Box H. *Treatment of periodontal pocket*. University of Toronto Press. 1928, p. 83.
- Armitage GC. Manual periodontal probing in supportive periodontal treatment. *Periodontol 2000*. 1996; 12: 33-39. doi: 10.1111/j.1600-0757.1996.tb00078.x.
- Al Shayeb KN, Turner W, Gillam DG. Periodontal probing: a review. *Prim Dent J*. 2014; 3 (3): 25-29. doi: 10.1308/205016814812736619.
- Papapanou PN, Susin C. Periodontitis epidemiology: is periodontitis under-recognized, over-diagnosed, or both? *Periodontol 2000*. 2017; 75 (1): 45-51. doi: 10.1111/prd.12200.
- Ebersole JL, Nagarajan R, Akers D, Miller CS. Targeted salivary biomarkers for discrimination of periodontal health and disease(s). *Front Cell Infect Microbiol*. 2015; 5: 1-12. doi: 10.3389/fcimb.2015.00062.
- Korte DL, Kinney J. Personalized medicine: an update of salivary biomarkers for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2016; 70 (1): 26-37. doi: 10.1111/prd.12103.
- AlMoharib HS, AlMubarak A, AlRowis R, Geevarghese A, Preethanath RS, Anil S. Oral fluid based biomarkers in periodontal disease: part 1. Saliva. *J Int Oral Health*. 2014; 6 (4): 95-103.
- Codina L. Cómo hacer revisiones bibliográficas tradicionales o sistemáticas utilizando bases de datos académicas. *Rev ORL*. 2020; 11 (2): 139-153. doi: 10.14201/orl.22977.
- Grant MJ, Booth A. A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies. *Health Info Libr J*. 2009; 26 (2): 91-108. doi: 10.1111/j.1471-1842.2009.00848.x.
- Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*. 2016; 70 (1): 80-92. doi: 10.1111/prd.12098.
- Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc*. 1989; 119 (2): 298-304. doi: 10.14219/jada.archive.1989.0211.
- Backhed F, Fraser CM, Ringel Y, Sanders ME, Sartor RB, Sherman PM et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe*. 2012; 12 (5): 611-622. doi: 10.1016/j.chom.2012.10.012.
- Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*. 2012; 13 (4): 260-270. doi: 10.1038/nrg3182.
- Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML et al. The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J*. 2016; 221 (10): 657-666. doi: 10.1038/sj.bdj.2016.865.
- Wu J, Peters BA, Dominianni C, Zhang Y, Pei Z, Yang L et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study

- of American adults. *ISME J.* 2016; 10 (10): 2435-2446. doi: 10.1038/ismej.2016.37.
28. López-Pintor RM, Casañas E, González-Serrano J, Serrano J, Ramírez L, de Arriba L et al. Xerostomia, hyposalivation, and salivary flow in diabetes patients. *J Diabetes Res.* 2016; 2016: 1-15. doi: 10.1155/2016/4372852.
 29. Zhang Y, Sun J, Lin C-C, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol 2000.* 2016; 70 (1): 38-52. doi: 10.1111/prd.12099.
 30. Pfafe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* 2011; 57 (5): 675-687. doi: 10.1373/clinchem.2010.153767.
 31. Katsani KR, Sakellari D. Saliva proteomics updates in biomedicine. *J of Biol Res (Thessalon).* 2019; 26: 17. doi: 10.1186/s40709-019-0109-7.
 32. Roblegg E, Coughran A, Sirjani D. Saliva: an all-rounder of our body. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019; 142: 133-141. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.06.016.
 33. Dawes C. Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *J Physiol.* 1972; 220 (3): 529-545. doi: 10.1113/jphysiol.1972.sp009721.
 34. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001; 85 (2): 162-169. doi: 10.1067/mpr.2001.113778.
 35. Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, Yan JX, Gooley AA, Wilkins MR et al. Progress with gene-product mapping of the mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis.* 1995; 16 (7): 1090-1094. doi: 10.1002/elps.11501601185.
 36. Lederberg J, McCray AT. 'Ome Sweet' omics- A genealogical treasury of words. *Scientist.* 2001; 15 (7): 8-9.
 37. Haigh BJ, Stewart KW, Whelan JRK, Barnett MPG, Smolenski GA, Wheeler TT. Alterations in the salivary proteome associated with periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010; 37 (3): 241-247. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01525.x.
 38. Gonçalves LDR, Soares MR, Nogueira FCS, Garcia C, Camisasca DR, Domont G et al. Comparative proteomic analysis of whole saliva from chronic periodontitis patients. *J Proteomics.* 2010; 73 (7): 1334-1341. doi: 10.1016/j.jprot.2010.02.018
 39. National Institute of Dental and Craniofacial Research. [Revised: June 2021]. Available in: https://salivaryproteome.nidcr.nih.gov/public/index.php/Main_Page
 40. Oppenheim FG, Salih E, Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ. Salivary proteome and its genetic polymorphisms. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1098: 22-50. doi: 10.1196/annals.1384.030.
 41. Fábíán TK, Hermann P, Beck A, Fejérdy P, Fábíán G. Salivary defense proteins: their network and role in innate and acquired oral immunity. *Int J Mol Sci.* 2012; 13 (4): 4295-4320. doi: 10.3390/ijms13044295.
 42. Jia Z, Hasnain S, Hiram T, Lee X, S. Mort J, To R et al. Crystal structures of recombinant rat chatepsin B and a cathepsin B-inhibitor complex. *J Biol Chem.* 1995; 270(10): 5527-5533. doi: 10.1074/jbc.270.10.5527.
 43. Manconi B, Liori B, Cabras T, Vincenzoni F, Iavarone F, Castagnola M et al. Salivary cystatins: exploring new post-translational modifications and polymorphisms by top-down high-resolution mass spectrometry. *J Proteome Res.* 2017; 16 (11): 4196-4207. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00567.
 44. Wiesner J, Vilcinskis A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. *Virulence.* 2010; 1 (5): 440-464. doi: 10.4161/viru.1.5.12983.
 45. Yilmaz D, Topcu AO, Akcay EU, Altındis M, Gursoy UK. Salivary human beta-defensins and cathelicidin levels in relation to periodontitis and type 2 diabetes mellitus. *Acta Odontol Scand.* 2020; 78 (5): 327-331. doi: 10.1080/00016357.2020.1715471.
 46. Goebel C, Mackay LG, Vickers ER, Mather LE. Determination of defensin HNP-1, HNP-2, and HNP-3 in human saliva by using LC/MS. *Peptides.* 2000; 21 (6): 757-765. doi: 10.1016/s0196-9781(00)00205-9.
 47. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3 (9): 710-720. doi: 10.1038/nri1180.
 48. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals (Basel).* 2014; 7 (5): 545-594. doi: 10.3390/ph7050545.
 49. Inzitari R, Cabras T, Rossetti DV, Fanali C, Vitali A, Pellegrini M et al. Detection in human saliva of different statherin and P-B fragments and derivatives. *Proteomics.* 2006; 6 (23): 6370-6379. doi: 10.1002/pmic.200600395.
 50. Schlesinger H, Hay I. Complete covalent structure of statherin, a tyrosine-rich acidic peptide which inhibits calcium phosphate precipitation from human parotid saliva. *J Biol Chem.* 1977; 252(5):1689-95.
 51. Oppenheim F, Xu T, McMillian F, Levitz S, Diamond R, Offner G et al. Histatins, a novel family of histidine-rich proteins in human parotid secretion. *J Biol Chem.* 1988; 263 (16): 7472-7477.
 52. Campese M, Sun X, Bosch JA, Oppenheim FG, Helmerhorst EJ. Concentration and fate of histatins and acidic proline-rich proteins in the oral environment. *Arch Oral Biol.* 2009; 54 (4): 345-353. doi: 10.1016/j.archoralbio.2008.11.010.
 53. Torres P, Castro M, Reyes M, Torres V. Histatins, wound healing, and cell migration. *Oral Dis.* 2018; 24 (7): 1150-1160. doi: 10.1111/odi.12816.
 54. Roussel P, Lamblin G, Lhermitte M, Houdret N, Lafitte J-J, Perini J-M et al. The complexity of mucins. *Biochimie.* 1988; 70 (11): 1471-1482. doi: 10.1016/0300-9084(88)90284-2.
 55. Gabryel-Porowska H, Gornowicz A, Bielawska A, Wójcicka A, Maciorkawska E, Grabowska SZ et al. Mucin levels in saliva of adolescents with dental caries. *Med Sci Monit.* 2014; 20: 72-77. doi: 10.12659/MSM.889718.
 56. Sánchez G, Miozza V, Delgado A, Busch L. Relationship between salivary mucin or amylase and the periodontal status. *Oral Dis.* 2013; 19 (6): 585-591. doi: 10.1111/odi.12039.
 57. Bennick A. Salivary proline-rich proteins. *Mol Cell Biochem.* 1982; 45 (2): 83-99. doi: 10.1007/BF00223503.
 58. Trindade F, Amado F, Oliveira-Silva RP, Daniel-da-Silva AL, Ferreira R, Klein J et al. Toward the definition of a peptidome signature and protease profile in chronic periodontitis. *Proteomics Clin Appl.* 2015; 9 (9-10): 917-927. doi: 10.1002/pcca.201400191.
 59. Isemura S, Saitoh E, Sanada K. Isolation and amino acid sequences of proline-rich peptides of human whole saliva. *J Biochem.* 1979; 86 (1): 79-86.
 60. Gorr S-U. Antimicrobial peptides of the oral cavity. *Periodontol 2000.* 2009; 51: 152-180. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00310.x.
 61. Ihalin R, Loimaranta V, Tenovuo J. Origin, structure, and biological activities of peroxidases in human saliva. *Arch Biochem Biophys.* 2006; 445 (2): 261-268. doi: 10.1016/j.abb.2005.07.004.
 62. Thomas EL, Jefferson MM, Joyner RE, Cook GS, King CC. Leukocyte myeloperoxidase and salivary lactoperoxidase: identification and quantitation in human mixed saliva. *J Dent Res.* 1994; 73 (2): 544-555. doi: 10.1177/00220345940730021001.
 63. Castagnola M, Cabras T, Vitali A, Sanna MT, Messana I. Biotechnological implications of the salivary proteome. *Trends Biotechnol.* 2011; 29 (8): 409-418. doi: 10.1016/j.tibtech.2011.04.002.
 64. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics – Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017; 242 (5): 459-472. doi: 10.1177/1535370216681550.
 65. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease:

- current state and future directions. *Periodontol* 2000. 2009; 50: 52-64. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00288.x.
66. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010; 5 (6): 463-466. doi: 10.1097/COH.0b013e32833ed177.
 67. Ji S, Choi Y. Point-of-care diagnosis of periodontitis using saliva: technically feasible but still a challenge. *Front Cell Infect Microbiol*. 2015; 5: 65. doi: 10.3389/fcimb.2015.00065
 68. Dickinson DP. Salivary (SD-Type) cystatins: over one billion years in the making-but to what purpose? *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13 (6): 485-508. doi: 10.1177/154411130201300606.
 69. Blankenvoorde M, van't Hof W, Walgreen-Weterings E, van Steenberghe T, Brand H, Veerman E et al. Cystatin and cystatin-derived peptides have antibacterial activity against the pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Biol Chem*. 1998; 379 (11): 1371-1375.
 70. Hartenbach FARR, Velasquez É, Nogueira FCS, Domont GB, Ferreira E, Colombo APV. Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *J Proteomics*. 2020; 213: 1-8. doi: 10.1016/j.jprot.2019.103602.
 71. Diamond DL, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Ganz T, Dale BA. Detection of beta-defensins secreted by human oral epithelial cells. *J Immunol Methods*. 2001; 256 (1-2): 65-76. doi: 10.1016/s0022-1759(01)00442-2.
 72. Vylkova S, Li XS, Berner JC, Edgerton M. Distinct antifungal mechanisms: beta-defensins require *Candida albicans* Ssa1 protein, while Trk1p mediates activity of cysteine-free cationic peptides. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50 (1): 324-331. doi: 10.1128/AAC.50.1.324-331.2006.
 73. Li J, Helmerhorst EJ, Yao Y, Nunn ME, Troxler RF, Oppenheim FG. Statherin is an *in vivo* pellicle constituent: identification and immuno-quantification. *Arch Oral Biol*. 2004; 49 (5): 379-385. doi: 10.1016/j.archoralbio.2004.01.002.
 74. Konopka K, Dorocka-Bobkowska B, Gebremedhin S, Düzgünes N. Susceptibility of *Candida* biofilms to histatin 5 and fluconazole. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2010; 97 (4): 413-417. doi: 10.1007/s10482-010-9417-5.
 75. Gusman H, Travis J, Helmerhorst EJ, Potempa J, Troxler RF, Oppenheim FG. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. *Infect Immun*. 2001; 69 (3): 1402-1408. doi: 10.1128/IAI.69.3.1402-1408.2001.
 76. Pike R, McGraw W, Potempa J, Travis J. Lysine- and arginine-specific proteinases from *Porphyromonas gingivalis*. Isolation, characterization, and evidence for the existence of complexes with hemagglutinins. *J Biol Chem*. 1994; 269 (1): 406-411.
 77. Oudhoff MJ, Bolscher JGM, Nazmi K, Kalay H, Hof W, Amerongen AVN et al. Histatins are the major wound-closure stimulating factors in human saliva as identified in a cell culture assay. *FASEB J*. 2008; 22 (11): 3805-3812. doi: 10.1096/fj.08-112003.
 78. Bhatia R, Gautam SK, Cannon A, Thompson C, Hall BR, Aithal A et al. Cancer-associated mucins: role in immune modulation and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2019; 38 (1-2): 223-236. doi: 10.1007/s10555-018-09775-0.
 79. Cabras T, Pisano E, Mastinu A, Denotti G, Pusceddu PP, Inzitari R et al. Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. *Mol Cell Proteomics*. 2010; 9 (10): 2099-108. doi: 10.1074/mcp.M110.001057.
 80. Herrero ER, Boon N, Bernaerts K, Slomka V, Verspecht T, Quirynen M et al. Clinical concentrations of peroxidases cause dysbiosis in *in vitro* oral biofilms. *J Periodont Res*. 2018; 53 (3): 457-466. doi: 10.1111/jre.12534.
 81. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*. 2004; 10 (6): 311-318. doi: 10.1111/j.1601-0825.2004.01038.x
 82. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62 (1): 71-109. doi: 10.1128/MMBR.62.1.71-109.1998.
 83. Olayanju O, Rahamon S, Joseph I, Arinola O. Salivary immunoglobulin classes in nigerians with periodontitis. *J Contemp Dent Pract*. 2012; 13 (2): 163-166. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1114.
 84. Rangbulla V, Nirola A, Gupta M, Batra P, Gupta M. Salivary IgA, Interleukin-1 β and MMP-8 as salivary biomarkers in chronic periodontitis patients. *Chin J Dent Res*. 2017; 20 (1): 43-51. doi: 10.3290/j.cjdr.a37741.
 85. Liu Y-CG, Lerner UH, Teng Y-TA. Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles: cytokine effects on periodontal infection. *Periodontol* 2000. 2010; 52 (1): 163-206. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00321.x.
 86. Sánchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1 β and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 (12): 1112-1117. doi: 10.1111/jcpe.12164.
 87. Greenstein G, Hart TC. A Critical assessment of interleukin-1 (IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2002; 73 (2): 231-247. doi: 10.1902/jop.2002.73.2.231.
 88. Liukkonen J, Gürsoy UK, Pussinen PJ, Suominen AL, Kononen E. Salivary concentrations of interleukin (IL)-1 β , IL-17A, and IL-23 vary in relation to periodontal status. *J Periodontol*. 2016; 87 (12): 1484-1491. doi: 10.1902/jop.2016.160146.
 89. Arias-Bujanda N, Regueira-Iglesias A, Balsa-Castro C, Nibali L, Donos N, Tomás I. Accuracy of single molecular biomarkers in saliva for the diagnosis of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020; 47 (1): 2-18. doi: 10.1111/jcpe.13202.
 90. Beklen A, Ainola M, Hukkanen M, Gürgan C, Sorsa T, Konttinen YT. MMPs, IL-1, and TNF are regulated by IL-17 in periodontitis. *J Dent Res*. 2007; 86 (4): 347-351. doi: 10.1177/154405910708600409.
 91. Hasturk H, Kantarci A, Van Dyke TE. Paradigm shift in the pharmacological management of periodontal diseases. *Front Oral Biol*. 2012; 15: 160-176. doi: 10.1159/000329678.
 92. Hasan F, Ikram R, Simjee SU, Iftakhar K, Asadullah K, Usman M. The effects of aspirin gel and mouthwash on levels of salivary biomarkers PGE2, TNF- α and nitric oxide in patients with periodontal diseases. *Pak J Pharm Sci*. 2019; 32 (5): 2019-2023.
 93. Bertolini D, Nedwin G, Bringman T, Smith D, Mundy G. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation *in vitro* by human tumour necrosis factors. *Nature*. 1986; 319 (6053): 516-518. doi: 10.1038/319516a0.
 94. Frodge BD, Ebersole JL, Kryscio RJ, Thomas MV, Miller CS. Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. *J Periodontol*. 2008; 79 (10): 1913-1919. doi: 10.1902/jop.2008.080070.
 95. Salazar MG, Jehmlich N, Murr A, Dhople VM, Holtfreter B, Hammer E et al. Identification of periodontitis associated changes in the proteome of whole human saliva by mass spectrometric analysis. *J Clin Periodontol*. 2013; 40 (9): 825-832. doi: 10.1111/jcpe.12130.
 96. Srivastava N, Anand Nayak P, Rana S. Point of care- a novel approach to periodontal diagnosis-a review. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11 (8): ZE01-6. doi: 10.7860/JCDR/2017/26626.10411.
 97. Moons KGM, Altman DG, Reitsma JB, Ioannidis JPA, Macaskill P, Steyerberg EW et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Ann Intern Med*. 2015; 162 (1): W1-73. doi: 10.7326/M14-0698.
 98. Chapple ILC. Periodontal diagnosis and treatment - where does the future lie? *Periodontol* 2000. 2009; 51: 9-24. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00319.x.

Correspondencia / Correspondence:

Dra. Miryam Martínez-Hernández

E-mail: miryam_mh@comunidad.unam.mx