

RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 20/02/2028.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

CARINA ALEXANDRA SALAS GONZALEZ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS S100A8,
S100A9 E S100A12 SALIVARES COMO BIOMARCADORES
PARA PERIODONTITE EM PACIENTES COM DIABETES
MELLITUS TIPO 2: estudo clínico longitudinal**

CARINA ALEXANDRA SALAS GONZALEZ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS S100A8, S100A9 E S100A12
SALIVARES COMO BIOMARCADORES PARA PERIODONTITE EM PACIENTES
COM DIABETES MELLITUS TIPO 2: estudo clínico longitudinal**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Patogenia, Imaginologia e Terapias em Odontologia.

Orientador: Prof. Assist. Dr. Emanuel da Silva Rovai

São José dos Campos

2026

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2026]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Gonzalez, Carina Alexandra Salas

Avaliação da expressão das proteínas S100A8, S100A9 e S100A12 salivares como biomarcadores para periodontite em pacientes com diabetes mellitus tipo 2: estudo clínico longitudinal. / Carina Alexandra Salas Gonzalez. - São José dos Campos : [s.n.], 2026.
58 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2026.

Orientador: Emanuel da Silva Rovai.

1. Diabetes mellitus tipo 2. 2. Periodontite. 3. Proteínas S100. 4. Saliva. I. Rovai, Emanuel da Silva, orient. II. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - UNESP. IV. Universidade Estadual Paulista (UNESP). V. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A periodontite e o diabetes mellitus são doenças crônicas não transmissíveis com uma alta prevalência mundial, sendo um problema de saúde pública por estarem associadas à morbidade e mortalidade aumentadas; diminuição da qualidade de vida e representam uma carga significativa para os sistemas de saúde, sociais e econômicos. Ambas as doenças estão associadas de forma bidirecional e essa relação se dá mediante mecanismos inflamatórios. Nesse contexto, a identificação de biomarcadores com um bom poder de acurácia para o diagnóstico da periodontite pode auxiliar tanto no diagnóstico precoce da doença periodontal na população, quanto no monitoramento da doença em grupos de alto risco periodontal, como é o caso de pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2). As proteínas S100 são um grupo de proteínas ligantes de cálcio que possuem uma variedade de funções intra e extracelulares, atuando como mediadores importantes na iniciação e manutenção da inflamação. Biomarcadores na saliva podem ser utilizados como um teste não invasivo para identificar a fase ativa da doença ou indivíduos em risco de doença ativa possibilitando, assim, a implementação de estratégias preventivas e tratamentos menos invasivos e dispendiosos.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Periodontitis and diabetes mellitus are chronic noncommunicable diseases with a high global prevalence, posing a public health problem because they are associated with increased morbidity and mortality, reduced quality of life, and represent a significant burden on health, social, and economic systems. Both diseases are bidirectionally associated, and this relationship occurs through inflammatory mechanisms. In this context, the identification of biomarkers with good accuracy for the diagnosis of periodontitis can aid not only in the early diagnosis of periodontal disease in the population but also in the monitoring of the disease in groups at high periodontal risk, such as patients with type 2 diabetes mellitus (DM2). S100 proteins are a group of calcium-binding proteins that have a variety of intra- and extracellular functions, acting as important mediators in the initiation and maintenance of inflammation. Biomarkers in saliva can be used as a non-invasive test to identify the active phase of the disease or individuals at risk of active disease, thus enabling the implementation of preventive strategies and less invasive and costly treatments.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Emanuel da Silva Rovai (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Maria Aparecida Neves Jardini

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Nídia Cristina Castro dos Santos

Hospital Israelita Albert Einstein

Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein

São Paulo

São José dos Campos, 20 de fevereiro de 2026.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Gladys de las Mercedes González Soto e Fidel del Carmen Salas Leiva, que sempre foram um exemplo de esforço e dedicação para mim. Difícil expressar em palavras toda a minha admiração, respeito e agradecimento por tudo que fizeram e ainda fazem por mim. Amo vocês.

Aos meus irmãos, Paula, Johanna e Cristian, pelo apoio e amor não só nos momentos mais difíceis, mas durante todo este processo.

Ao meu cunhado Henrique por todo seu incentivo, ajuda e carinho para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus sobrinhos, Arthur e Lucas pelo amor e carinho.

Aos meus amigos, pelo apoio incondicional, imprescindível nesta importante etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB), pela oportunidade de desenvolver meu Mestrado Acadêmico.

Ao meu orientador Prof. Dr. Emanuel da Silva Rovai por sua confiança, seus conselhos, sua paciência e, principalmente, por sua generosidade em compartilhar seus conhecimentos.

Aos docentes e técnicos-administrativos do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – área Periodontia – Profa. Dra. Maria Aparecida Neves Jardini, Profa. Dra. Andrea Carvalho de Marco, Profa. Dra. Camilla Magnoni Moretto Nunes, Prof. Dr. Emanuel da Silva Rovai, Marcinha, Valéria, Jane e Jacqueline pelo convívio fraterno, pela amizade e pela boa disposição em ajudar sempre.

À Profa. Dra. Renata Falchete do Prado pela capacitação do teste ELISA, essencial para a elaboração deste trabalho e por sua disposição em ajudar e resolver todas as minhas dúvidas.

Ao Sérgio do laboratório de Patologia pelo empréstimo de materiais de laboratório necessários para a realização dos testes.

À Patrícia Nagai e Lara Pedroso, orientadas da Profa. Dra. Juliana Campos Junqueira e à Jane do laboratório de Microbiologia, pela leitura das placas de ELISA no espectrofotômetro.

À Marcela lunes da Silveira, minha irmã científica, pela ajuda na preparação e execução de todos os testes ELISA, por todo o seu apoio e amizade.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) – Processo 2019/14846-5.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Mestrado, através do processo 131997/2024-6, no período de 01/06/2024 a 31/05/2026.

RESUMO

Gonzalez, CAS. Avaliação da expressão das proteínas S100A8, S100A9 e S100A12 salivares como biomarcadores para periodontite em pacientes com diabetes mellitus tipo 2: estudo clínico longitudinal [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2026.

O objetivo deste estudo foi comparar os níveis das proteínas S100A8, S100A9 e S100A12 salivares antes e depois de 3 meses do tratamento periodontal e avaliar o potencial desses biomarcadores para o diagnóstico da periodontite. Oitenta participantes foram divididos em quatro grupos: com diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e com periodontite; com DM2 e sem periodontite; sem DM2 e com periodontite; e sem DM2 e sem periodontite. Foi realizado exame clínico periodontal e coleta de saliva não estimulada no início e após três meses do tratamento periodontal não-cirúrgico. Os níveis salivares das proteínas S100A8, A9 e A12 foram analisados através de kits ELISA. Para a análise estatística foi adotado um nível de significância de 5%. O tratamento periodontal resultou na melhora dos parâmetros clínicos periodontais aos 3 meses pós-tratamento ($p < 0,05$). No baseline, as proteínas S100A8 e A9 mostraram uma expressão maior nos grupos com periodontite quando comparados ao grupo sem DM e sem periodontite. A proteína S100A12 estava elevada no grupo DM com periodontite em comparação com o grupo DM sem periodontite. O tratamento periodontal resultou na melhora dos parâmetros clínicos periodontais nos grupos com periodontite ($p < 0,05$). Aos 3 meses pós-tratamento periodontal, as proteínas S100A8, A9 e A12 diminuíram significativamente na saliva dos grupos com periodontite sem DM, enquanto nos pacientes com DM e periodontite, os níveis reduziram para S100A9 e A12. A proteína S100A8 mostrou uma acurácia diagnóstica (AD) de 0,93 em diferenciar indivíduos com e sem periodontite. A proteína S100A9 mostrou uma AD de 0,88 para distinguir indivíduos diabéticos tipo 2 com e sem periodontite e uma AD de 0,85 para diferenciar indivíduos com e sem periodontite. A proteína S100A12 mostrou uma AD de 0,78 para diagnóstico de periodontite em diabéticos. As proteínas S100A8, A9 e A12 possuem um bom potencial como biomarcadores para diagnóstico de periodontite, devendo ser validados por mais estudos para sua aplicação clínica.

Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 2; periodontite; proteínas S100; saliva.

ABSTRACT

Gonzalez, CAS. *Evaluation of Salivary S100A8, S100A9, and S100A12 Protein Expression as Biomarkers for Periodontitis in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Longitudinal Clinical Study [dissertation]*. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (UNESP), Institute of Science and Technology; 2026.

The aim of this study was to compare salivary levels of S100A8, S100A9, and S100A12 proteins before and after 3 months of periodontal treatment and to evaluate the potential of these biomarkers for the diagnosis of periodontitis. Eighty participants were divided into four groups: those with type 2 diabetes mellitus (DM2) and with periodontitis; those with DM2 without periodontitis; those without DM2 with periodontitis; and those without DM2 and without periodontitis. A clinical periodontal examination was performed and unstimulated saliva was collected at the beginning and after three months of non-surgical periodontal treatment. Salivary levels of S100A8, A9, and A12 proteins were analyzed using ELISA kits. A significance level of 5% was adopted for statistical analysis. Periodontal treatment resulted in improved periodontal clinical parameters at 3 months post-treatment ($p < 0.05$). At baseline, S100A8 and A9 proteins showed higher expression in the groups with periodontitis when compared to the group without DM and without periodontitis. The S100A12 protein was elevated in the DM group with periodontitis compared to the DM group without periodontitis. Periodontal treatment resulted in improved periodontal clinical parameters in the groups with periodontitis ($p < 0.05$). Three months after periodontal treatment, S100A8, A9, and A12 proteins decreased significantly in the saliva of groups with periodontitis without DM, while in patients with DM and periodontitis, levels decreased for S100A9 and A12. The S100A8 protein showed a diagnostic accuracy (DA) of 0.93 in differentiating individuals with and without periodontitis. The S100A9 protein showed a DA of 0.88 in distinguishing type 2 diabetic individuals with and without periodontitis and a DA of 0.85 in differentiating individuals with and without periodontitis. The S100A12 protein showed a DA of 0.78 for the diagnosis of periodontitis in diabetics. The S100A8, A9, and A12 proteins have good potential as biomarkers for the diagnosis of periodontitis and should be validated by further studies for their clinical application.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; periodontitis; S100 proteins; saliva.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Acurácia diagnóstica
AGEs	Produtos finais de glicação avançada
A1AGP	alfa-1-glicoproteína ácida
AUC	Área sob a curva
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
FGC	Fluido gengival crevicular
HDL	Lipoproteína de alta densidade
hs-CRP	Proteína C-reativa ultrassensível
IL	Interleucina
IP	Índice de placa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MMPs	Metaloproteinases de matriz
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
NCI	Nível clínico de inserção
NF-KB	Fator nuclear kappa B
NG	Nível gengival
OPG	Osteoprotegerina
PS	Profundidade de sondagem
RAGE	Receptor para produtos finais de glicação avançada
RANKL	Ligante do receptor ativador nuclear kappa-beta
ROC	Característica de operação do receptor
SS	Sangramento à sondagem
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TLR	Receptor tipo Toll
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Saliva como fluido diagnóstico	14
2.1.1 Biomarcadores na saliva	16
2.1.2 Proteínas S100	17
2.1.3 Proteínas S100A8 e S100A9	19
2.1.4 Proteína S100A12	21
3 PROPOSIÇÃO	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 População alvo	25
4.1.1 Tamanho da amostra.....	25
4.1.2 Delineamento dos grupos.....	26
4.1.3 Critérios de inclusão e exclusão	26
4.1.4 Avaliação clínica periodontal	27
4.1.5 Calibração intra-examinador	28
4.1.6 Avaliação metabólica	28
4.1.7 Tratamento periodontal.....	28
4.1.8 Coleta da saliva não estimulada	29
4.1.9 Quantificação salivar de S100A8, S100A9 e S100A12.....	30
5 RESULTADOS	31
5.1 Características dos participantes	32
5.1.1 Parâmetros clínicos periodontais	32
5.1.2 Níveis de S100A8 salivares.....	34
5.1.3 Níveis de S100A9 salivares.....	36
5.1.4 Níveis de S100A12 salivares.....	38
5.1.5 Acurácia diagnóstica da proteína S100A8 para periodontite	39
5.1.6 Acurácia diagnóstica da proteína S100A9 para periodontite	40
5.1.7 Acurácia diagnóstica da proteína S100A12 para periodontite	41
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS.....	47

ANEXO.....	55
-------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

Periodontite é uma doença crônica inflamatória multifatorial associada a um biofilme dental disbiótico que resulta em uma resposta inflamatória crônica, não resolutive e destrutiva, que se manifesta clinicamente através da inflamação gengival, formação de bolsas periodontais, perda de inserção periodontal e radiograficamente, através de reabsorção de osso alveolar (Genco, Sanz, 2020). Em 2021, mais de 1 bilhão de pessoas no mundo tinham periodontite severa, resultando em uma prevalência de 12,50%. A projeção para 2050 é que esse número aumente para 1,56 bilhões de pessoas (Nascimento et al., 2024). Em relação a sua etiopatogenia, a periodontite não é apenas uma condição infecciosa causada por patógenos específicos, mas sim uma doença inflamatória provocada por uma resposta imune desregulada do hospedeiro frente à disbiose microbiana. É uma doença que resulta da interação entre a microbiota subgengival, as exposições ambientais e sistêmicas, os fatores relacionados com o hospedeiro e a suscetibilidade genética (Mehrnia, Van Dyke, 2025). Dentre os principais fatores modificadores para periodontite, destacam-se o tabagismo e o Diabetes Mellitus (DM).

DM é um grupo de distúrbios metabólicos do metabolismo dos carboidratos em que a glicose é subutilizada como fonte de energia e superproduzida devido à gliconeogênese e glicogenólise inadequadas, resultando em hiperglicemia. O diabetes tipo 2 (DM2) representa 90-95% de todos os casos de diabetes e abrange indivíduos que geralmente têm deficiência relativa de insulina associada à resistência à insulina (American Diabetes Association Professional Practice Committee for Diabetes*, 2026).

Estudos transversais demonstraram que indivíduos com diabetes apresentaram maior prevalência de periodontite em comparação com indivíduos sem diabetes em todas as faixas etárias. Estudos longitudinais também demonstraram que a incidência de periodontite foi 2 a 3 vezes maior em indivíduos com diabetes tipo 2 em comparação com aqueles normoglicêmicos. Da mesma forma, a progressão da periodontite e a taxa de perda dentária foram significativamente maiores entre pacientes com diabetes descompensado (HbA1c >7,5%) em comparação com aqueles com diabetes compensado (HbA1c <7%) e com não diabéticos (Genco,

Borgnakke, 2020).

Os mecanismos de associação entre diabetes mellitus e periodontite incluem a liberação de produtos finais de glicação avançada como resultado da hiperglicemia e uma série de fatores predisponentes comuns de natureza genética, microbiana e de estilo de vida (Darby, 2022). Os principais mecanismos que associam a periodontite e o diabetes envolvem elevações nos níveis de interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral- α (TNF- α), IL-6, relação ativador de receptor do fator kappa B nuclear (RANKL)/osteoprotegerina (OPG), estresse oxidativo, aumento na expressão de receptor Toll-like (TLR) 2/4, formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e alteração na função e quimiotaxia de neutrófilos (Sanz et al., 2018).

O diabetes e a periodontite são doenças crônicas não transmissíveis altamente prevalentes que estão bidireccionalmente relacionados epidemiologicamente, biologicamente, terapeuticamente e com comorbidades decorrentes (Herrera et al., 2023). Existem evidências robustas indicando que o tratamento periodontal reduz os níveis de HbA1c aos 3 e 6 meses (Simpson et al., 2022; Di Domenico et al., 2023; Umezaki et al., 2025).

Dessa forma, métodos de monitoramento da saúde periodontal em diabéticos podem contribuir para a manutenção da saúde periodontal, maior manutenção de dentes, melhor qualidade de vida e melhor controle glicêmico nesses indivíduos. Neste contexto, além dos parâmetros clínicos e radiográficos de diagnóstico e monitoramento da saúde periodontal, a saliva tem se destacado como um fluido interessante de análise de biomarcadores para diagnóstico e monitoramento da doença periodontal (Sorsa et al., 2016). A saliva é um fluido biológico que pode servir como um teste não invasivo, sensível, específico e útil como adjunto ao cuidado e manutenção do paciente (Miller et al., 2010). Como vantagens adicionais podemos mencionar que é um método indolor e de fácil coleta.

A família das proteínas S100 foi descoberta em 1965 por Moore e até o momento mais de 20 subtipos já foram descritos (Donato, 2001). As proteínas S100 são caracterizadas por dois locais de ligação de cálcio e exercem diversas atividades regulatórias em monócitos/macrófagos, neutrófilos, linfócitos, mastócitos, células endoteliais e células epiteliais, participando da regulação da proliferação, diferenciação, apoptose, homeostase de Ca⁺², respostas inflamatórias específicas e inespecíficas (Donato et al., 2013).

Dentre as subunidades das proteínas S100, a S100A8, S100A9 e S100A12, são coletivamente denominadas de calgranulinas, devido às suas propriedades de ligação ao cálcio e a alta expressão em granulócitos (Donato et al., 2013). As calgranulinas foram identificadas como imunomoduladoras da resposta imune inata do organismo (Kozlyuk et al., 2019), promovem diversas ações extracelulares pró-inflamatórias e podem desempenhar um papel importante na doença periodontal (Goyette, Geczy, 2011).

Análises proteômicas salivares vêm sendo empregadas em estudos na área da Periodontia a fim de se obter um melhor entendimento da doença, assim como a possível detecção de biomarcadores para diagnóstico precoce e monitoramento da atividade da doença periodontal (Bostanci, Bao, 2017; Haigh et al., 2010; Wu et al., 2009). Um estudo sugeriu, através da análise do proteoma salivar, as proteínas S100A8 e A9 como potenciais marcadores para periodontite (Shin et al., 2019). Uma revisão sistemática identificou moléculas salivares consistentemente superexpressas (complemento C3, profilina-1, S100A8 e fibrinogênio) em pacientes com periodontite (Corana et al., 2025). Outros estudos avaliaram a expressão de biomarcadores salivares associados à periodontite na presença de diabetes mellitus tipo 2 e encontraram níveis elevados de IL-6, MMP-8, IL-1 β , resistina e proteínas da família S100 (S100A8 e S100A9) (Ebersole et al., 2024; Furukawa et al., 2025; Miller et al., 2021; Miller et al., 2023). Além disso, um estudo transversal concluiu que a proteína S100A12 pode ser considerada um bom marcador de fluido gengival para atividade inflamatória em pacientes com periodontite e diabetes tipo 2 (Pradeep et al., 2014).

Tomadas em conjunto, as evidências mostram um papel importante das proteínas S100A8, A9 e A12 na patogênese da doença periodontal, indicando-as como possíveis marcadores salivares para diagnóstico e monitoramento da doença. Entretanto, ainda não se sabe se esse grupo de marcadores também é confiável para pacientes com diabetes tipo 2 e, ainda, se o tratamento periodontal é capaz de reduzir esses marcadores. Dessa forma, a hipótese do presente estudo é que pacientes com periodontite e diabetes mellitus tipo 2 apresentam níveis elevados das proteínas S100A8, S100A9 e S100A12, e que estas proteínas podem servir como biomarcadores para o diagnóstico e monitoramento da periodontite.

7 CONCLUSÃO

Os participantes com periodontite, com ou sem diabetes mellitus tipo 2, apresentaram concentrações salivares aumentadas das proteínas S100A8, A9 e A12. O tratamento periodontal não-cirúrgico foi eficaz em diminuir os parâmetros clínicos periodontais, além de diminuir significativamente os níveis salivares das 3 proteínas aos 3 meses de seguimento.

A proteína S100A8 demonstrou uma excelente capacidade para discriminar entre saúde e periodontite, enquanto a proteína S100A9 demonstrou uma boa acurácia diagnóstica em diferenciar diabéticos com e sem periodontite e saúde vs. periodontite. A acurácia diagnóstica da proteína S100A12 para diagnóstico de periodontite em diabéticos foi satisfatória.

As proteínas S100A8, A9 e A12 possuem um bom potencial como biomarcadores para diagnóstico de periodontite. Mais estudos clínicos com maior amostragem e seguimento são necessários para confirmar os resultados do presente estudo.

REFERÊNCIAS

- Abbass MM, Korany NS, Salama AH, Dmytryk JJ, Safiejko-Mroczka B. The relationship between receptor for advanced glycation end products expression and the severity of periodontal disease in the gingiva of diabetic and non diabetic periodontitis patients. *Arch Oral Biol.* 2012;57(10):1342–54. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.06.007.
- Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229–35.
- American Diabetes Association Professional Practice Committee for Diabetes*. 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2026. *Diabetes Care.* 2026;49(Supplement_1):S27–49. doi: 10.2337/dc26-S002.
- 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.
- Austermann J, Spiekermann C, Roth J. S100 proteins in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2018a;14(9):528–41. doi: 10.1038/s41584-018-0058-9.
- Basilicata M, Pieri M, Marrone G, Nicolai E, Di Lauro M, Paolino V, et al. Saliva as Biomarker for Oral and Chronic Degenerative Non-Communicable Diseases. *Metabolites.* 2023;13(8). doi: 10.3390/metabo13080889.
- Bhattarai KR, Kim H-R, Chae H-J. Compliance with Saliva Collection Protocol in Healthy Volunteers: Strategies for Managing Risk and Errors. *Int J Med Sci.* 2018;15(8):823–31. doi: 10.7150/ijms.25146.
- Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, Gatsonis CA, Glasziou PP, Irwig L, et al. STARD 2015: an updated list of essential items for reporting diagnostic accuracy studies. *BMJ.* 2015;351:h5527. doi: 10.1136/bmj.h5527.
- Bostanci N, Bao K. Contribution of proteomics to our understanding of periodontal inflammation. *Proteomics.* 2017;17(3–4). doi: 10.1002/pmic.201500518.
- Boteanu RM, Suica VI, Uyy E, Ivan L, Dima SO, Popescu I, et al. Alarmins in chronic noncommunicable diseases: Atherosclerosis, diabetes and cancer. *J Proteomics.* 2017;153:21–9. doi: 10.1016/J.JPROT.2016.11.006.
- Bourgonje AR, Bourgonje MF, Sokooti S, la Bastide-van Gemert S, Nilsen T, Hidden C, et al. Plasma Calprotectin and New-onset Type 2 Diabetes in the General Population: A Prospective Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2024;110(1). doi: 10.1210/CLINEM/DGAE130.

Burkhardt K, Schwarz S, Pan C, Stelter F, Kotliar K, Von Eynatten M, et al. Myeloid-related protein 8/14 complex describes microcirculatory alterations in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Cardiovasc Diabetol*. 2009;8(1):10. doi: 10.1186/1475-2840-8-10.

Buzalaf MAR, Ortiz A de C, Carvalho TS, Fideles SOM, Araújo TT, Moraes SM, et al. Saliva as a diagnostic tool for dental caries, periodontal disease and cancer: is there a need for more biomarkers? *Expert Rev Mol Diagn*. 2020;20(5):543–55. doi: 10.1080/14737159.2020.1743686.

Cerón JJ, Ortín-Bustillo A, López-Martínez MJ, Martínez-Subiela S, Eckersall PD, Tecles F, et al. S-100 Proteins: Basics and Applications as Biomarkers in Animals with Special Focus on Calgranulins (S100A8, A9, and A12). *Biology (Basel)*. 2023;12(6). doi: 10.3390/BIOLOGY12060881.

Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol*. 2002;29 Suppl 2:6–16.

Corana M, Baima G, Iaderosa G, Franco F, Zhang J, Berta GN, et al. Salivary Proteomics for Detecting Novel Biomarkers of Periodontitis: A Systematic Review. *J Periodontal Res*. 2025;60(7):633–55. doi: 10.1111/jre.13357.

Darby I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 2022;90(1):9–12. doi: 10.1111/prd.12447.

Di Domenico GL, Minoli M, Discepoli N, Ambrosi A, de Sanctis M. Effectiveness of periodontal treatment to improve glycemic control: an umbrella review. *Acta Diabetol*. 2023;60(1):101–13. doi: 10.1007/s00592-022-01991-z.

Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001;33(7):637–68. doi: 10.1016/S1357-2725(01)00046-2.

Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med*. 2013;13(1):24–57.

Dong N, Shi H, Xu B, Cai Y. Increased Plasma S100A12 Levels Are Associated With Diabetic Retinopathy and Prognostic Biomarkers of Macrovascular Events in Type 2 Diabetic Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(8):4177–85. doi: 10.1167/IOVS.15-16470.

Duarte PM, Szeremeske Miranda T, Lima JA, Dias Gonçalves TE, Santos VR, Bastos MF, et al. Expression of Immune-Inflammatory Markers in Sites of Chronic Periodontitis in Patients With Type 2 Diabetes. *J Periodontol*. 2012;83(4):426–34. doi: 10.1902/jop.2011.110324.

Ebersole Jeffrey L., Kirakodu SS, Zhang XD, Dawson D, Miller CS. Salivary features of periodontitis and gingivitis in type 2 diabetes mellitus. *Sci Rep.* 2024;14(1):30649. doi: 10.1038/s41598-024-77434-2.

Ersin Kalkan R, Öngöz Dede F, Gökmenoğlu C, Kara C. Salivary fetuin-A, S100A12, and high-sensitivity C-reactive protein levels in periodontal diseases. *Oral Dis.* 2018;24(8):1554–61. doi: 10.1111/ODI.12927.

Farnaud SJC, Kostı O, Getting SJ, Renshaw D. Saliva: physiology and diagnostic potential in health and disease. *ScientificWorldJournal.* 2010;10:434–56. doi: 10.1100/tsw.2010.38.

Flink H, Tegelberg Å, Lagerlöf F. Influence of the time of measurement of unstimulated human whole saliva on the diagnosis of hyposalivation. *Arch Oral Biol.* 2005;50(6):553–9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2004.10.015.

Furukawa MV, Oliveira MF, da Silva RA, Máximo PM, Dionizio A, Ventura TMO, et al. Salivary proteomic analysis in patients with type 2 diabetes mellitus and periodontitis. *Clin Oral Investig.* 2025;29(1):77. doi: 10.1007/s00784-025-06171-1.

Gao H, Hou J, Meng H, Zhang X, Zheng Y, Peng L. Proinflammatory effects and mechanisms of calprotectin on human gingival fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2017;52(6):975–83. doi: 10.1111/JRE.12465.

Gao H, Xu J, He L, Meng H, Hou J. Calprotectin levels in gingival crevicular fluid and serum of patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus before and after initial periodontal therapy. *J Periodontal Res.* 2021;56(1):121–30. doi: 10.1111/JRE.12800.

Gao H, Zhang X, Zheng Y, Peng L, Hou J, Meng H. S100A9-induced release of interleukin (IL)-6 and IL-8 through toll-like receptor 4 (TLR4) in human periodontal ligament cells. *Mol Immunol.* 2015;67(2):223–32. doi: 10.1016/j.molimm.2015.05.014.

Gellen B, Thorin-Trescases N, Thorin E, Gand E, Ragot Stephanie, Montaigne D, et al. Increased serum S100A12 levels are associated with higher risk of acute heart failure in patients with type 2 diabetes. *ESC Heart Fail.* 2022;9(6):3909–19. doi: 10.1002/EHF2.14036.

Genco RJ, Borgnakke WS. Diabetes as a potential risk for periodontitis: association studies. *Periodontol 2000.* 2020;83(1):40–5. doi: 10.1111/prd.12270.

Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol 2000.* 2020;83(1):7–13. doi: 10.1111/prd.12344.

Goyette J, Geczy CL. Inflammation-associated S100 proteins: new mechanisms that regulate function. *Amino Acids*. 2011;41(4):821–42. doi: 10.1007/s00726-010-0528-0.

Grant MM, Taylor JJ, Jaedicke K, Creese A, Gowland C, Burke B, et al. Discovery, validation, and diagnostic ability of multiple protein-based biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid to distinguish between health and periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. 2022;49(7):622–32. doi: 10.1111/jcpe.13630.

Grevers LC, de Vries TJ, Vogl T, Abdollahi-Roodsaz S, Sloetjes AW, Leenen PJM, et al. S100A8 enhances osteoclastic bone resorption in vitro through activation of Toll-like receptor 4: Implications for bone destruction in murine antigen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011;63(5):1365–75. doi: 10.1002/art.30290.

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):241–7. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01525.x.

Herrera D, Sanz M, Shapira L, Brotons C, Chapple I, Frese T, et al. Association between periodontal diseases and cardiovascular diseases, diabetes and respiratory diseases: Consensus report of the Joint Workshop by the European Federation of Periodontology (EFP) and the European arm of the World Organization of Family Doctors (WONCA Europe). *J Clin Periodontol*. 2023;50(6):819–41. doi: 10.1111/jcpe.13807.

Herrera D, Tonetti MS, Chapple I, Kebschull M, Papapanou PN, Sculean A, et al. Consensus Report of the 20th European Workshop on Periodontology: Contemporary and Emerging Technologies in Periodontal Diagnosis. *J Clin Periodontol*. 2025;52(S29):4–33. doi: 10.1111/jcpe.14152.

Jasim H, Olausson P, Hedenberg-Magnusson B, Ernberg M, Ghafouri B. The proteomic profile of whole and glandular saliva in healthy pain-free subjects. *Sci Rep*. 2016;6(1):39073. doi: 10.1038/srep39073.

Kajiura Y, Bando M, Inagaki Y, Nagata T, Kido J. Glycated albumin and calprotectin levels in gingival crevicular fluid from patients with periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2014;85(12):1667–75. doi: 10.1902/JOP.2014.140241.

Karna S, Shin YJ, Kim S, Kim H. Salivary S100 proteins screen periodontitis among Korean adults. *J Clin Periodontol*. 2019;46(2):181–8. doi: 10.1111/jcpe.13059.

Kido JI, Nakamura T, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M, et al. Calprotectin in gingival crevicular fluid correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1999;26(10):653–7. doi: 10.1034/J.1600-051X.1999.261004.X.

- Kim H-D, Kim S, Jeon S, Kim S-J, Cho H-J, Choi Y-N. Diagnostic and Prognostic ability of salivary MMP-9 and S100A8 for periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2020;47(10):1191–200. doi: 10.1111/jcpe.13349.
- Kim S-J, Chae S, Kim H, Mun D-G, Back S, Choi HY, et al. A protein profile of visceral adipose tissues linked to early pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Mol Cell Proteomics*. 2014;13(3):811–22. doi: 10.1074/mcp.M113.035501.
- Kojima T, Andersen E, Sanchez JC, Wilkins MR, Hochstrasser DF, Pralong WF, et al. Human gingival crevicular fluid contains MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9), two calcium-binding proteins of the S100 family. *J Dent Res*. 2000;79(2):740–7. doi: 10.1177/00220345000790020701.
- 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.
- Kosaki A, Hasegawa T, Kimura T, Iida K, Hitomi J, Matsubara H, et al. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5423–8. doi: 10.1210/JC.2003-032223.
- Kozlyuk N, Monteith AJ, Garcia V, Damo SM, Skaar EP, Chazin WJ. S100 Proteins in the Innate Immune Response to Pathogens. *Methods Mol Biol*. 2019;1929:275–90. doi: 10.1007/978-1-4939-9030-6_18.
- Lim RR, Vaidya T, Gadde SG, Yadav NK, Sethu S, Hainsworth DP, et al. Correlation between systemic S100A8 and S100A9 levels and severity of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr*. 2019;13(2):1581–9. doi: 10.1016/J.DSX.2019.03.014.
- Lira-Junior R, Bissett SM, Preshaw PM, Taylor JJ, Boström EA. Levels of myeloid-related proteins in saliva for screening and monitoring of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2021;48(11):1430–40. doi: 10.1111/JCPE.13534.
- Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative human salivary and plasma proteomes. *J Dent Res*. 2010;89(10):1016–23. doi: 10.1177/0022034510380414.
- Lundy FT, Chalk R, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ. Identification of MRP-8 (calgranulin A) as a major responsive protein in chronic periodontitis. *J Pathol*. 2000;192(4):540–4. doi: 10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::AID-PATH740>3.0.CO;2-1.
- Luo R, Liang Z, Chen H, Bao D, Lin X. Potential diagnostic markers and therapeutic targets for DM2 and periodontitis based on bioinformatics analysis. *PLoS One*. 2025;20(4):e0320061. doi: 10.1371/journal.pone.0320061.

Malmstedt J, Kärvestedt L, Swedenborg J, Brismar K. The receptor for advanced glycation end products and risk of peripheral arterial disease, amputation or death in type 2 diabetes: a population-based cohort study. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14(1). doi: 10.1186/S12933-015-0257-5.

Mehrnia N, Van Dyke TE. Microbial dysbiosis and immune dysregulation in periodontitis and peri-implantitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2025;15:1678163. doi: 10.3389/fcimb.2025.1678163.

Meijer B, Gearry RB, Day AS. The Role of S100A12 as a Systemic Marker of Inflammation. *Int J Inflam*. 2012;2012:1–6. doi: 10.1155/2012/907078.

Miller CS, Ding X, Dawson DR, Ebersole JL. Salivary biomarkers for discriminating periodontitis in the presence of diabetes. *J Clin Periodontol*. 2021;48(2):216–25. doi: 10.1111/jcpe.13393.

Miller CS, Ding X, Nagarajan R, Dawson DR, Ebersole JL. Biomarker panel discriminates diabetics with and without periodontitis pre- and post-therapy. *J Periodontal Res*. 2023;58(3):493–502. doi: 10.1111/jre.13127.

Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current Developments in Salivary Diagnostics. *Biomark Med*. 2010;4(1):171–89. doi: 10.2217/bmm.09.68.

Monari E, Cuoghi A, Bellei E, Bergamini S, Lucchi A, Tomasi A, et al. Analysis of protein expression in periodontal pocket tissue: a preliminary study. *Proteome Sci*. 2015;13:33. doi: 10.1186/s12953-015-0089-y.

Nascimento GG, Alves-Costa S, Romandini M. Burden of severe periodontitis and edentulism in 2021, with projections up to 2050: The Global Burden of Disease 2021 study. *J Periodontal Res*. 2024;59(5):823–67. doi: 10.1111/jre.13337.

Nishikawa Y, Kajiura Y, Lew JH, Kido JI, Nagata T, Naruishi K. Calprotectin Induces IL-6 and MCP-1 Production via Toll-Like Receptor 4 Signaling in Human Gingival Fibroblasts. *J Cell Physiol*. 2017;232(7):1862–71. doi: 10.1002/JCP.25724.

Pradeep AR, Martande SS, Singh SP, Suke DK, Raju AP, Naik SB. Correlation of human S100A12 (EN-RAGE) and high-sensitivity C-reactive protein as gingival crevicular fluid and serum markers of inflammation in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Inflamm Res*. 2014;63(4):317–23. doi: 10.1007/S00011-013-0703-3.

Proctor GB. The physiology of salivary secretion. *Periodontol 2000*. 2016;70(1):11–25. doi: 10.1111/prd.12116.

Quirynen M, Mongardini C, De Soete M, Pauwels M, Coucke W, Van Eldere J, et al. The rôle of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients

with advanced adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2000;27(8):578–89. doi: 10.1034/j.1600-051x.2000.027008578.x.

Rakic M, Calciolari E, Grant MM, Radovanovic S, Bostanci N, Preshaw PM. Host Markers of Periodontal Diseases: Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy Studies. *J Clin Periodontol*. 2025;52(S29):155–81. doi: 10.1111/jcpe.14167.

Riuzzi F, Chiappalupi S, Arcuri C, Giambanco I, Sorci G, Donato R. S100 proteins in obesity: liaisons dangereuses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020;77(1):129–47. doi: 10.1007/s00018-019-03257-4.

Salminen A, Pietiäinen M, Paju S, Sorsa T, Mäntylä P, Buhlin K, et al. Common complement factor H polymorphisms are linked with periodontitis in elderly patients. *J Periodontol*. 2022;93(11):1626–34. doi: 10.1002/JPER.22-0005.

Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer RT, Graziani F, et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2018;45(2):138–49. doi: 10.1111/jcpe.12808.

Schiopu A, Cotoi OS. S100A8 and S100A9: DAMPs at the crossroads between innate immunity, traditional risk factors, and cardiovascular disease. *Mediators Inflamm*. 2013;2013. doi: 10.1155/2013/828354.

Shin M-S, Kim Y-G, Shin YJ, Ko BJ, Kim S, Kim H-D. Deep sequencing salivary proteins for periodontitis using proteomics. *Clin Oral Investig*. 2019;23(9):3571–80. doi: 10.1007/s00784-018-2779-1.

Simpson TC, Clarkson JE, Worthington H V, MacDonald L, Weldon JC, Needleman I, et al. Treatment of periodontitis for glycaemic control in people with diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2022;4(4):CD004714. doi: 10.1002/14651858.CD004714.pub4.

Sorsa T, Gursoy UK, Nwhator S, Hernandez M, Tervahartiala T, Leppilahti J, et al. Analysis of matrix metalloproteinases, especially MMP-8, in gingival crevicular fluid, mouthrinse and saliva for monitoring periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2016;70(1):142–63. doi: 10.1111/prd.12101.

Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis*. 2011;17(4):345–54. doi: 10.1111/j.1601-0825.2010.01773.x.

Sroussi HY, Berline J, Dazin P, Green P, Palefsky JM. S100A8 Triggers Oxidation-sensitive Repulsion of Neutrophils. *J Dent Res*. 2006;85(9):829–33. doi: 10.1177/154405910608500910.

Suvan J, Leira Y, Moreno Sancho FM, Graziani F, Derks J, Tomasi C. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J Clin Periodontol*. 2020;47 Suppl 22:155–75. doi: 10.1111/jcpe.13245.

Taba M, Kinney J, Kim AS, Giannobile W V. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am*. 2005;49(3):551–71, vi. doi: 10.1016/j.cden.2005.03.009.

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(S1). doi: 10.1002/JPER.18-0006.

Umezaki Y, Yamashita A, Nishimura F, Naito T. The role of periodontal treatment on the reduction of hemoglobinA1c, comparing with existing medication therapy: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare*. 2025;6:1541145. doi: 10.3389/fcdhc.2025.1541145.

Ventura TM da S, Ribeiro NR, Dionizio AS, Sabino IT, Buzalaf MAR. Standardization of a protocol for shotgun proteomic analysis of saliva. *Journal of Applied Oral Science*. 2018;26(0). doi: 10.1590/1678-7757-2017-0561.

Wang Siwen, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang Shaoxiong, Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. *Front Immunol*. 2018;9(JUN). doi: 10.3389/FIMMU.2018.01298.

Wu L, Wei X, Ling J, Liu L, Liu S, Li M, et al. Early osteogenic differential protein profile detected by proteomic analysis in human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 2009;44(5):645–56. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01174.x.

Xia P, Ji X, Yan L, Lian S, Chen Z, Luo Y. Roles of S100A8, S100A9 and S100A12 in infection, inflammation and immunity. *Immunology*. 2024;171(3):365–76. doi: 10.1111/imm.13722.

Zhang C-Z, Cheng X-Q, Li J-Y, Zhang P, Yi P, Xu X, et al. Saliva in the diagnosis of diseases. *Int J Oral Sci*. 2016;8(3):133–7. doi: 10.1038/ijos.2016.38.

Zheng Y, Hou J, Peng L, Zhang X, Jia L, Wang XNE, et al. The pro-apoptotic and pro-inflammatory effects of calprotectin on human periodontal ligament cells. *PLoS One*. 2014;9(10). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0110421.