

唾液生物标志物与牙菌斑形成的关联性研究及临床应用前景探讨

秦 凡, 李 充*

广州中医药大学第一附属医院重庆医院(重庆市北碚区中医院)口腔科, 重庆

收稿日期: 2025年8月2日; 录用日期: 2025年8月26日; 发布日期: 2025年9月4日

摘 要

牙菌斑的形成与龋齿和牙周病的发生密切相关。研究表明, 唾液中的激素、酶类和免疫球蛋白等生物标志物, 可能在牙菌斑形成过程中起到关键作用。学者们研究并分析了唾液中的生物标志物及其成分、流速和pH值等因素对牙菌斑发生的影响。唾液中生物标志物含量和种类能够体现口腔的微生态状态, 细菌DNA、炎症性介质因子等与牙菌斑有关系。唾液代谢物的变化、溶菌酶和乳铁蛋白通过与细菌的相互作用导致了菌斑的形成。唾液矿物质参与形成牙结石的矿化过程, pH、乳酸等影响矿化和菌斑的生长。这些研究提示了唾液成分在口腔健康保健中的潜在可能性。本文综述了唾液生物标志物与口腔菌斑形成之间的关系及其在口腔疾病诊治中应用的潜能, 以期为口腔健康水平管理提供新思路。

关键词

唾液, 生物标志物, 牙菌斑, 菌斑形成, 口腔微生物, 免疫反应

Study on the Relationship between Salivary Biomarkers and Dental Plaque Formation, and Discussion on Clinical Application Prospects

Fan Qin, Yan Li*

Department of Stomatology, Chongqing Hospital of the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine (Beibei District Hospital of Traditional Chinese Medicine), Chongqing

Received: Aug. 2nd, 2025; accepted: Aug. 26th, 2025; published: Sep. 4th, 2025

*通讯作者。

文章引用: 秦凡, 李充. 唾液生物标志物与牙菌斑形成的关联性研究及临床应用前景探讨[J]. 临床医学进展, 2025, 15(9): 178-184. DOI: 10.12677/acm.2025.1592472

Abstract

The formation of dental plaque is closely related to the occurrence of dental caries and periodontal disease. Studies have shown that salivary biomarkers, including hormones, enzymes, and immunoglobulins, may play a key role in the process of plaque formation. Researchers have investigated and analyzed the effects of salivary biomarkers and factors such as their composition, flow rate, and pH on plaque development. The concentration and types of biomarkers in saliva can reflect the oral microecological state, with bacterial DNA and inflammatory mediators being associated with plaque formation. Changes in salivary metabolites, along with lysozyme and lactoferrin, contribute to plaque formation through their interactions with bacteria. Salivary minerals are involved in the mineralization process that leads to the formation of calculus, while factors like pH and lactic acid affect both mineralization and plaque growth. These studies suggest the potential significance of salivary components in oral health management. This article reviews the relationship between salivary biomarkers and oral plaque formation, as well as their potential applications in the diagnosis and treatment of oral diseases, aiming to provide new insights for managing oral health levels.

Keywords

Saliva, Biomarkers, Dental Plaque, Plaque Formation, Oral Microbiota, Immune Response

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

口腔菌斑是口腔疾病重要病因, 唾液是复杂生物液体, 含皮质醇、电解质、酶等多种成分, 既影响口腔微生态环境, 也在菌斑形成和稳定中发挥作用[1]。溶菌酶等抗菌成分抑制细菌生长黏附, 唾液蛋白促进细菌聚集和菌斑形成。此外, 唾液 pH 值、缓冲能力及钙、磷等微量元素直接影响牙菌斑矿化。低 pH 值和高糖饮食加速牙菌斑形成与龋齿发生, 唾液缓冲系统可中和酸性物质, 保护牙齿[2]。

随着技术进步, 众多与口腔菌斑形成密切相关的生物标志物被相继发现。对其深入解析对于预防和控制口腔疾病具有重要的意义。

2. 唾液生物标志物的研究现状

2.1. 唾液中常见的生物标志物

唾液包含多种生物标志物如蛋白质、核酸、代谢产物等, 这些成分与唾液腺功能、口腔微生物及代谢息息相关。免疫球蛋白 A 抑制病原微生物并反映免疫状态, 细胞因子与炎症和菌斑形成相关, 尿酸等代谢物水平与牙周健康相关, 硫化氢是潜在的菌斑标志物, 口腔扁平苔藓患者的骨桥蛋白等炎症性唾液标志物水平高于健康个体[3]。唾液中富含具有独特生物功能的蛋白质谱, 根据其潜在应用, 生物标志物被定义为监测生物标志物、易感性/风险生物标志物、预测生物标志物、诊断性生物标志物和预后生物标志物[4]。

唾液组学是发现疾病特异性生物标记物的有效方法, 血液血清中检测到的大多数分析物在唾液中也都能找到, 但其含量明显降低[5], 在健康成年人中, 血清中的免疫球蛋白 G 和免疫球蛋白 M 水平比唾液中的高出数倍[6]。因此, 未来需要进一步验证这些标记物的可靠性, 力求实现广泛实施。

2.2. 生物标志物的检测方法

唾液生物标志物的检测方法是一个快速发展的领域, 唾液生物标志物检测有酶联免疫吸附试验(ELISA)、聚合酶链式反应(PCR)、免疫层析试验、高效液相色谱法和质谱分析等方法[7]。ELISA 常用于检测蛋白质、生长因子、激素等, 灵敏度高; PCR 通过扩增特定 DNA 或 RNA 序列, 检测微量的基因物质, 细菌特异性 DNA、病原体检测、基因突变分析等; 免疫层析试验用于便携式、快速检测, 如妊娠试纸和快速新冠检测; 高效液相色谱法分离和量化小分子标志物; 质谱分析复杂混合物分析、蛋白质组学研究等。流式细胞术是通过荧光标记和激光检测, 分析细胞和分子, 进行细胞计数、细胞表面标志物分析等。纳米技术传感器, 利用纳米材料的独特性质, 增强检测灵敏度和特异性, 实现病毒、细菌、癌症标志物的超灵敏检测[8]。

这些方法为菌斑形成提供依据, 选择合适的检测方法需根据具体的检测目标、灵敏度要求、成本和可操作性等因素来决定。

2.3. 唾液生物标志物与全身健康之间的关系

唾液成分反映口腔微生物活动和宿主健康, 多种生物标志物浓度变化可评估口腔乃至全身健康。研究表明, 唾液中的微生物群、RNA、DNA 和蛋白质等生化指标可用于多种疾病的无创性诊断和监测, 唾液中 C 反应蛋白和肌红蛋白等指标与心肌梗死高度相关, 牙周炎患者的唾液蛋白谱具有特异图形, 有助于牙周炎的诊断, 此外唾液生物标志物在乳腺癌、肺癌、糖尿病、阿尔茨海默病等全身性疾病中的潜在诊断价值[9]-[13]。同时, 在感染性疾病筛查(如 HBV、HIV)和代谢性疾病(如舍格伦综合征)中, 唾液检测展现出快速、安全的优势[14] [15]。

唾液中的乳铁蛋白、胰蛋白酶和溶菌酶等蛋白质是重要生物防御因子, 可抑制致病菌附着并促进清除。唾液中的变形链球菌是低龄儿童龋病的强危险因素, 普雷沃氏菌成员在唾液和菌斑中的富集与龋病密切相关, 唾液葡萄糖浓度与糖尿病患者关系密切, 可通过唾液监测血糖浓度。Kun 等[16]研究结果表明, 高血压患者唾液中的促炎生物标志物与临床牙周参数之间的关联比非高血压患者更为显著。促炎生物标志物 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 均呈正相关。当高血压受试者的唾液炎症生物标志物水平较高时, 临床牙周参数即探诊出血、菌斑控制记录和探诊深度的恢复率较差。

在刮治和根平面化后, 牙龈炎和牙周炎组的血清和唾液血清碱性磷酸酶及酸性磷酸酶水平明显降低, 并与牙菌斑指数呈正相关。唾液中血清碱性磷酸酶及酸性磷酸酶水平能够区分健康与炎症部位, 可作为潜在的牙周病标志物[17]。在牙菌斑形成的早期, 口腔细菌会刺激局部免疫系统, 引发炎症反应, 特定基因的表达上调, 可作为口腔健康的生物标志物[18]。

3. 牙菌斑

3.1. 菌斑的概念与类型

牙菌斑是由口腔中的细菌、唾液中的成分以及食物残渣等组成的黏稠的微生物聚集物, 通常附着在牙齿表面、牙龈边缘以及其他口腔组织表面。牙菌斑本质上是一个微生物群落, 包含了成千上万的细菌种类, 菌斑是由细菌及其代谢产物形成的生物膜, 存在于口腔, 尤其在牙齿表面。其形成涉及多种细菌聚集繁殖, 分为附着细菌和沉积细菌, 前者形成初期生物膜, 后者增殖形成成熟菌斑。菌斑含多糖、蛋白质等成分, 结构复杂使其适应性强。

依据菌斑形成时间, 可分为初期菌斑(Early plaque)和成熟菌斑(Mature plaque)。初期菌斑系牙齿表面短期内形成的薄层菌斑, 由革兰阳性球菌及杆菌等初始附着菌构成, 结构松散, 易于清除, 通常不引发明显

口腔疾患。若未及时清除, 细菌会增殖并形成更复杂的成熟菌斑, 含有更多种类细菌, 结构复杂, 细菌数量多且附着牢固, 难以清除。随着细菌代谢产物积累, 容易导致牙齿龋病、牙周病。根据牙菌斑位置又分为牙面菌斑(Supragingival plaque)和龈下菌斑(Subgingival plaque)。牙面菌斑附着于牙齿牙冠表面, 含有大量革兰阳性细菌, 是导致牙齿龋坏的直接原因之一, 若不及时清除, 会硬化形成牙结石, 进而引发牙龈炎、牙周炎等。龈下菌斑存在于牙龈沟或牙周袋中, 以厌氧细菌为主导, 难以清除, 会在牙周袋深处繁殖并形成致病性菌群, 其积累是导致牙周病的主要原因, 会破坏牙周组织, 导致牙齿松动, 甚至脱落。

3.2. 菌斑形成的生物学机制

牙菌斑形成主要源于口腔内微生物的聚集与生物膜的形成, 总体上表现出典型的生物膜和微生物群落特性[19], 提高唾液流速可加速牙菌斑中酸和毒素的清除。牙菌斑表面积越大, 酸和细菌毒素的清除速率越慢, 龋齿和牙龈炎风险增加, 因此定期清洁牙菌斑, 减少其表面积, 有助于降低龋齿和牙龈炎风险[20]。

口腔中的细菌在特定环境下, 能够迅速聚集并形成生物膜, 菌斑的形成过程通常分为细菌的附着、群体聚集、代谢活动和生物膜的形成这几个重要阶段。第一阶段, 口腔唾液的糖蛋白、有机分子等吸附在牙齿表面作为初始生物膜存在, 口腔 pH、温度、唾液流量等影响微生物的粘附和生长; 第二阶段, 细菌粘附在初始生物膜上定植成群落, 大肠杆菌、链球菌等共同参与定植, 并借助信号分子交流促进细菌的生长, 在达到一定程度的时候, 产生外聚合物作为生物膜的基质; 第三阶段, 生物膜形成后期, 在菌斑内部形成不同的微环境导致菌群分布和活性的不同, 细菌形成一个复杂的生态系统, 使得菌斑结构和组成不断发生变化, 这种变化与宿主的免疫反应、饮食、口腔卫生习惯有关。牙齿上的菌斑形成机制是动态复杂的, 影响牙齿健康和牙齿疾病形成。对唾液生物标志物进行监测分析, 为临床干预提供依据。

3.3. 影响菌斑形成的因素

多因素影响牙菌斑的形成, 包括唾液成分、流量、pH 和矿物质浓度会影响菌斑形成成熟, 细胞黏附使菌斑细菌稳固于生物膜, 细菌分泌胞外聚合物表达增强菌斑稳定性及耐药性, 菌斑细菌代谢影响局部 pH, 形成复杂细菌关系, 菌斑组成成分多样性和组成相关联, 影响菌斑聚集及成熟, 致病性相关, 高糖饮食促进菌斑形成龋病, 口腔护理不佳促进菌斑形成, 快速成熟; 吸烟、饮酒对口腔内微生物成分及微生物定植及清除产生影响, 使口腔菌群失调, 影响菌斑形成; 宿主遗传因素、免疫影响菌斑形成, 临床使用抗生素, 菌群生态平衡失调, 如前所述[21]。了解这些机制和因素, 为未来形成新的治疗方案及制定个性化护理提供帮助。

4. 唾液生物标志物对牙菌斑形成的影响

唾液中多种生物标志物的浓度和组成不仅可以反映口腔微生态的状态, 还可能与牙周健康、感染程度等密切相关。Yamaki 的研究表明[22], 唾液中的细菌核酸、炎症因子及抗体水平, 对菌斑的形成和发展存在一定关联, 唾液中白细胞介素-6 的浓度与牙菌斑数量呈正相关, 还通过 ELISA 测定了唾液中免疫球蛋白 A 的浓度, 发现免疫球蛋白 A 水平的升高与患者菌斑负荷的增加存在一定关联, 免疫球蛋白 A 的水平在牙周病患者中明显升高, 这可能影响菌斑的形成及其对牙体组织的侵袭性。

通过质谱分析, 学者们发现唾液中氨基酸等代谢物的变化与菌斑形成有直接关系。尤其是唾液中一些短链脂肪酸的水平与特定口腔微生物群体的丰度相关, 进而影响菌斑的形成速度。

溶菌酶能够通过水解细菌细胞壁中的肽聚糖, 破坏细菌的结构, 抑制细菌的繁殖。乳铁蛋白通过结合铁离子, 限制细菌的生长, 尤其对一些需铁细菌具有抑制作用。唾液中的黏附蛋白对细菌的附着起着双重作用, 一方面黏附蛋白本身可以作为细菌附着的基质, 为致龋细菌提供附着位点, 另一方面唾液中

的粘多糖能够通过和细菌表面结合, 促进细菌之间的相互作用, 促进生物膜的形成。这些多糖在菌斑的稳定性和成熟中起着重要作用, 尤其在多种细菌聚集并相互连接时, 细胞外多糖的存在能够增加菌斑的抗药性和抗机械去除能力。研究结果表明[23], 嗜铬粒蛋白 A 可用于评估牙周炎的发病机制。

唾液中的钙、磷参与保护唾液分泌量的正常, 能为牙齿提供再矿化、中和口腔酸平衡等对抵御龋齿起到保护作用。但在口腔卫生较差时, 唾液中的钙、磷等矿质盐附着于细菌表面, 参与细菌致菌斑矿化, 致菌斑矿化后菌斑物理性质更为坚实, 进而形成牙石, 并因此给予更多的细菌容身场所及更为有利的口腔环境, 加重口腔疾患。唾液 pH 也对致菌斑矿化产生影响, 唾液 pH 在 7 左右, L-乳酸脱氢酶(LDH)等生物化学指标会降低唾液的 pH 值, 口腔呈现偏酸性, 当低 pH 会促进菌斑矿化, 加速细菌生长繁殖以及菌斑形成, L-乳酸由微生物发酵代谢产物, 与牙齿脱矿、龋齿有密切联系, 乳酸含量能反映口腔酸平衡的情况[18]。唾液中维生素具有保护口腔组织远离自由基损伤的重要意义, 发挥抵抗口腔组织氧化应激作用, 能抑制细菌的代谢活性, 间接抑制菌斑的生成。

研究显示[24], 唾液中 IL-1、TNF- α 、EGF 等细胞因子的水平与口腔菌群的变化密切相关, 可能通过调节口腔内的免疫反应, 间接影响牙菌斑的生成。

研究人群的视觉菌斑指数与唾液一氧化氮水平呈正相关, 唾液骨膜素水平与牙周病有关。唾液骨膜素水平间接影响牙周炎的非侵入性生物标志物[25]。牙齿支持组织中的细菌斑块是导致牙周病的炎症的主要原因。当牙周恶化时, 细胞间基质蛋白(ICTP)水平较高, 当它们降低时, 牙周健康得到证实[26]。使用牙周生物标志物来识别和监测独特的患者人群, 可以促进高危人群的更好分层, 龈下内毒素活性作为位点特异性牙周生物标志物具有良好的诊断和预后价值, 不受患者年龄, 性别或吸烟状况的影响。相反, 唾液内毒素活性作为患者水平的生物标志物, 取决于患者的年龄, 诊断和预后能力较差, 但与疾病易感性及其程度和严重程度均显示出良好的相关性[27]。

Kuboniwa 的研究结果确定了潜在的生物标志物, 5-氧代脯氨酸和组氨酸等标志物可能有助于反映牙周炎的严重程度, 作为监测牙周炎患者疾病活动的一部分[28]。研究检测牙周炎组和对照组的临床参数包括菌斑指数, 牙龈指数, 探测出血和临床附着丧失, 通过 ELISA 试剂盒在基线和结垢和根刨后四周测量唾液中 IL-12 的水平, 得出短期非手术治疗导致牙周指数改善, IL-12 水平升高的结论[29]。

5. 临床应用建议

唾液生物标志物对牙菌斑形成影响不容忽视。口腔临床建议定期监测高危人群唾液中特定生物标志物水平, 采用唾液生物标志物进行风险评估, 关注患者细菌群落变化, 结合口腔卫生教育促进患者配合, 对高风险患者更频繁随访和治疗, 关注特定酶水平确定个性化治疗方案; 药物干预建议用含氟漱口水等抗菌剂, 结合唾液成分动态监测, 根据患者唾液情况制定个性化维护策略; 未来可集中在研究唾液中不同生物标志物种类及浓度对菌斑形成的具体影响, 应用基因组学和转录组学技术, 整合数据、构建网络模型; 还可以对比不同治疗方案下患者唾液生物标志物水平变化, 评估对菌斑形成的抑制效果, 同时考虑患者生活习惯的影响, 深度分析唾液生物标志物数据, 揭示潜在特征与临床表现的关系, 从而制定临床应用指南将实验室成果转化为临床应用。

唾液生物标志物在牙菌斑形成中的应用确实很有价值, 但是唾液生物标志物的检测成本却较高, 这可能会限制其在广泛人群中的应用。为解决这一问题, 需开发更简便、快速且成本效益高的检测方法, 也需要由权威机构牵头, 制定统一的检测标准和操作规范, 不然会导致检测结果的可靠性不足。判定标准也需要通过大规模的流行病学研究, 采用多种生物标志物联合检测的方法, 提高预测的准确性, 建立正常值范围。未来研究需要克服当前面临的挑战, 使唾液生物标志物在牙菌斑形成中的应用更加具有操作性和现实意义。

基金项目

重庆市北碚区科学技术局科技人才与自主创新专项(2024-26)。

参考文献

- [1] Miller, C.S., Dembo, J.B., Falace, D.A. and Kaplan, A.L. (1995) Salivary Cortisol Response to Dental Treatment of Varying Stress. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **79**, 436-441. [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(05\)80123-4](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(05)80123-4)
- [2] Chen, W., Jiang, Q., Yan, G. and Yang, D. (2020) The Oral Microbiome and Salivary Proteins Influence Caries in Children Aged 6 to 8 Years. *BMC Oral Health*, **20**, Article No. 295. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01262-9>
- [3] Santarelli, A., Mascitti, M., Rubini, C., Bambini, F., Zizzi, A., Offidani, A., et al. (2015) Active Inflammatory Biomarkers in Oral Lichen Planus. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, **28**, 562-568. <https://doi.org/10.1177/0394632015592101>
- [4] Califf, R.M. (2018) Biomarker Definitions and Their Applications. *Experimental Biology and Medicine*, **243**, 213-221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- [5] Miller, S. (1994). Saliva Testing—A Nontraditional Diagnostic Tool. *Clinical Laboratory Science Journal*, **7**, 39-44.
- [6] Challacombe, S.J., Percival, R.S. and Marsh, P.D. (1995) Age-Related Changes in Immunoglobulin Isotypes in Whole and Parotid Saliva and Serum in Healthy Individuals. *Oral Microbiology and Immunology*, **10**, 202-207. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302x.1995.tb00143.x>
- [7] Grutle, L.A., Holm, H.V., Kopperud, H.B.M. and Uhlig, S. (2024) Validation of a Human Saliva Model for the Determination of Leachable Monomers and Other Chemicals from Dental Materials. *Journal of Chromatography B*, **1236**, Article ID: 124073. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124073>
- [8] Hackbarth, M., Montoya, M., Noblett, W.C., Lima, B.P., Dietz, M., Staley, C., et al. (2024) An *in Vitro* Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of a Novel Irrigant Using Next-Generation Sequencing. *Journal of Endodontics*, **50**, 1314-1320.e1. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2024.05.010>
- [9] Rahiotis, C., Petraki, V. and Mitrou, P. (2021) Changes in Saliva Characteristics and Carious Status Related to Metabolic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Dentistry*, **108**, Article ID: 103629. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103629>
- [10] Li, F., Wei, F., Huang, W., Lin, C., Li, L., Shen, M.M., et al. (2020) Ultra-short Circulating Tumor DNA (usctDNA) in Plasma and Saliva of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients. *Cancers*, **12**, Article 2041. <https://doi.org/10.3390/cancers12082041>
- [11] Koopaie, M., Ghafourian, M., Manifar, S., Younespour, S., Davoudi, M., Kolahdooz, S., et al. (2022) Evaluation of CSTB and DMBT1 Expression in Saliva of Gastric Cancer Patients and Controls. *BMC Cancer*, **22**, Article No. 473. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09570-9>
- [12] Garley, M., Dziemiańczyk-Pakiela, D., Ratajczak-Wrona, W., Pryczynicz, A., Nowak, K., Łazarczyk, B., et al. (2022) Nets Biomarkers in Saliva and Serum OSCC Patients: One Hypothesis, Two Conclusions. *Advances in Medical Sciences*, **67**, 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2021.12.004>
- [13] Bermejo-Pareja, F., del Ser, T., Valentí, M., de la Fuente, M., Bartolome, F. and Carro, E. (2020) Salivary Lactoferrin as Biomarker for Alzheimer's Disease: Brain-immunity Interactions. *Alzheimer's & Dementia*, **16**, 1196-1204. <https://doi.org/10.1002/alz.12107>
- [14] Corey-Bloom, J., Fischer, R.S., Kim, A., Snell, C., Parkin, G.M., Granger, D.A., et al. (2020) Levels of Interleukin-6 in Saliva, but Not Plasma, Correlate with Clinical Metrics in Huntington's Disease Patients and Healthy Control Subjects. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 6363. <https://doi.org/10.3390/ijms21176363>
- [15] Yao, L., Fu, H., Bai, L., Deng, W., Xie, F., Li, Y., et al. (2021) Saliva Nitrite Is Higher in Male Children with Autism Spectrum Disorder and Positively Correlated with Serum Nitrate. *Redox Report*, **26**, 124-133. <https://doi.org/10.1080/13510002.2021.1959133>
- [16] Lee, K., Guo, Z., Teng, N., Hsu, K.C., Chen, I., Lee, C., et al. (2021) Salivary Pro-Inflammatory Markers and Smoking Status Influences the Treatment Effectiveness of Periodontal Disease Patients with Hypertension. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **18**, Article 7364. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147364>
- [17] Koppolu, P., Sirisha, S., Mishra, A., Deshpande, K., Lingam, A.S., Alotaibi, D.H., et al. (2021) Alkaline Phosphatase and Acid Phosphatase Levels in Saliva and Serum of Patients with Healthy Periodontium, Gingivitis, and Periodontitis before and after Scaling with Root Planing: A Clinico-Biochemical Study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **28**, 380-385. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.016>

- [18] D'souza, L.L., Lawande, S.A., Samuel, J. and Wiseman Pinto, M.J. (2023) Effect of Salivary Urea, Ph and Ureolytic Microflora on Dental Calculus Formation and Its Correlation with Periodontal Status. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, **13**, 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2022.10.004>
- [19] Marsh, P.D. (2005) Dental Plaque: Biological Significance of a Biofilm and Community Life-Style. *Journal of Clinical Periodontology*, **32**, 7-15. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2005.00790.x>
- [20] Lecomte, P. and Dawes, C. (1987) The Influence of Salivary Flow Rate on Diffusion of Potassium Chloride from Artificial Plaque at Different Sites in the Mouth. *Journal of Dental Research*, **66**, 1614-1618. <https://doi.org/10.1177/00220345870660110101>
- [21] Gonçalves, L.S., Rodrigues, R.C.V., Andrade Junior, C.V., Soares, R.G. and Vettore, M.V. (2016) The Effect of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as Irrigant Solutions for Root Canal Disinfection: A Systematic Review of Clinical Trials. *Journal of Endodontics*, **42**, 527-532. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.021>
- [22] Yamaki, K., Tamahara, T., Washio, J., Sato, T., Shimizu, R. and Yamada, S. (2024) Intracanal Microbiome Profiles of Two Apical Periodontitis Cases in One Patient: A Comparison with Saliva and Plaque Profiles. *Clinical and Experimental Dental Research*, **10**, e862. <https://doi.org/10.1002/cre2.862>
- [23] Reshma, A., Arunachalam, R., Pillai, J., Kurra, S., Varkey, V. and Prince, M. (2013) Chromogranin A: Novel Biomarker between Periodontal Disease and Psychosocial Stress. *Journal of Indian Society of Periodontology*, **17**, 214-218. <https://doi.org/10.4103/0972-124x.113076>
- [24] Izumi, G.K., Paseto, C.V., Costa, R.F., Delfrate, G., Hauser, A.B., Fernandes, D., et al. (2025) Relationship between Periodontitis and Nitric Oxide in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis. *Hemodialysis International*. <https://doi.org/10.1111/hdi.13264>
- [25] Padalkar, P., Yadadi, S.S., Vivekanandan, G., Shetty, S.R., Andhare, M., Pashine, A., et al. (2025) Salivary Periostin Levels as a Non-Invasive Biomarker and Their Clinical Correlates among Healthy and Periodontitis Patients—A Cross-Sectional Analytical Study. *Frontiers in Dental Medicine*, **6**, Article 1512252. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2025.1512252>
- [26] Agrawal, P., Pandit, A., Malagi, S.K., Abraham, D.V., Vasant, B. and Tembhurne, S. (2024) Estimation of Levels of Salivary Pyridinoline Cross-Linked Carboxyterminal Telopeptide of Type I Collagen (ICTP) in Periodontally Healthy and Diseased Patients at Various Time Intervals before and after Periodontal Therapy. *Cureus*, **16**, e66236. <https://doi.org/10.7759/cureus.66236>
- [27] Zaric, S., Strachan, A., Kurushima, Y., Dong, A., McIlwaine, C., Harrington, Z., et al. (2022) Evaluating Clinical Utility of Subgingival and Salivary Endotoxin Activity Levels as Periodontal Biomarkers. *Frontiers in Oral Health*, **3**, Article 1029806. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.1029806>
- [28] Kuboniwa, M., Sakanaka, A., Hashino, E., Bamba, T., Fukusaki, E. and Amano, A. (2016) Prediction of Periodontal Inflammation via Metabolic Profiling of Saliva. *Journal of Dental Research*, **95**, 1381-1386. <https://doi.org/10.1177/0022034516661142>
- [29] Sharma, A. (2014) Effect of Periodontal Therapy on Salivary Interleukin-12 Levels in Chronic Periodontitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **8**, ZC90-ZC92. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2014/10598.5073>