

ADRIANA FURTADO DE MACEDO

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
SALIVARES TOTAIS EM CRIANÇAS
DE 0 A 36 MESES DE IDADE**

São Paulo

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ADRIANA FURTADO DE MACEDO

**ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
SALIVARES TOTAIS EM CRIANÇAS
DE 0 A 36 MESES DE IDADE**

**Dissertação apresentada à Universidade
Cruzeiro do Sul, para obter o título de
Mestre, pelo Programa de
Pós-Graduação em Odontologia.**

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonio Duarte

São Paulo

2005

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação
Universidade Cruzeiro do Sul

Macedo, Adriana Furtado de

Análise dos parâmetros bioquímicos salivares totais em crianças de 0 a 36 meses de idade. / Adriana Furtado de Macedo; orientador: Danilo Antonio Duarte. – São Paulo, 2005. 122p.: fig.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Odontopediatria) – Universidade Cruzeiro do Sul.

1.criança – 2.saliva – 3.pH - 4.amilases – 5.proteínas salivares

CDD 616.314-053.3(043.3)

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Macedo AF. Análise dos parâmetros bioquímicos salivares totais em crianças de 0 a 36 meses de idade [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Cruzeiro do Sul - UNICSUL; 2005.

São Paulo, 16 / 12 / 2005

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais **Sandra e Jorge** que sempre participaram de todos os grandes momentos de minha vida.*

Esse amor de vocês me fortalece, por isso agradeço todos os dias por estarem ao meu lado. Muito obrigada, amo vocês !

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Danilo Antonio Duarte, por me orientar com todo o carinho e dedicação, transmitindo ensinamentos valiosos e relevantes para a realização deste sonho.

Agradeço também a confiança que depositou em mim, todas as oportunidades oferecidas e principalmente a amizade estabelecida durante todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

À *Profa. Dra. Carmem Amaral* e ao *Prof. Dr. Fernando Abdulkader*, pela idealização e orientação na pesquisa durante a fase laboratorial. Também pela dedicação e paciência e, principalmente, por terem me acolhido com tanto carinho.

À *Prof. Dra. Maria Salete Corrêa* pelos conhecimentos relevantes, pelo apoio e tranqüilidade transmitidos durante todo o decorrer do curso.

À *Profa. Dra. Maria Teresa Santos*, a quem admiro imensamente. Sua determinação, conduta e postura são exemplos para mim. Obrigada pelos ensinamentos, incentivos e ajuda em todos os momentos.

Ao *Prof. Dr. Walter Genovese*, pelo estímulo, confiança e por todos os fundamentos científicos que me foram transmitidos, sempre com muito afeto e atenção.

À todos os *Professores do Curso de Mestrado* pela amizade e convivência científica compartilhada.

Ao *Prof. Marcelo Paes de Barros*, por me disponibilizar o laboratório de química para a realização da pesquisa.

Aos técnicos de laboratório *Otávio e Francisco*, pela ajuda, atenção e auxílio na execução das análises laboratoriais.

Ao *Henrique Holtz*, pela compreensão e paciência durante a realização desta pesquisa.

À *Jornalista Redatora Laís Tapajós* pela excelente correção ortográfica desta dissertação.

Ao *Prof. Dr. Marcelo Bönecker* pela valiosa contribuição na correção do abstrato.

A todos os *colegas de mestrado*, especialmente *Riane Vilela, Bruno Camata, Ivy Bassoukous e Edgard Nakamura*, pelo companheirismo, amizade e pelos momentos de alegria.

Ao *Prof. Dr. Ramiro Anthero de Azevedo* e *Prof. Luiz Fernando Motta*, que me acompanham desde o início de minha carreira sempre colaborando e me apoiando.

À *Laís Tapajós e Flávia Couto*, pela ajuda na procura de materiais para a realização do trabalho de campo e também pelo interesse e incentivo.

Às *Professoras e Alunas do Curso de Especialização de Santo André*, pelo carinho e preocupação.

À *Viviane Santiago, Tatiana Lara Campos, Luciana Lopes, Julia Futaki, Gustavo Moraes, Ana Saba e Ricardo Saito*, pela disponibilidade, pela ajuda com a realização de tomadas fotográficas e no embasamento científico durante a realização dos créditos. E principalmente pelo incentivo, preocupação e companheirismo.

Às *Crianças e Mães* participantes desta pesquisa. Sem vocês não seria possível a realização deste trabalho.

Às *Coordenadoras das creches* pela colaboração no atendimento às crianças.

Aos meus *Amigos e Familiares* que entenderam a minha ausência durante o curso.

À todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

Macedo AF. Avaliação dos parâmetros bioquímicos salivares totais de crianças em 0 a 36 meses de idade [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Cruzeiro do Sul - UNICSUL; 2005.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o pH, fluxo salivar total, capacidade tampão, concentração de proteínas totais e atividade da amilase na saliva de 40 crianças, de ambos os gêneros, de 0 a 36 meses de idade e livres de lesões de cárie. A amostra foi subdividida em grupos distintos caracterizados numericamente pelos dentes erupcionados e pela faixa etária: Grupo I (edêntulas com idade média de 7 ± 1.2 meses), Grupo II (12.8 ± 2.5 meses) e Grupo III (dentadura decídua completa, 32.9 ± 1.9 meses). A saliva total foi coletada através de aspiração de forma não estimulada. A concentração de proteínas foi determinada segundo o método de Lowry e a atividade da amilase a partir da clivagem enzimática pela amilase do 2-cloro-4-nitro-fenol-maltotriosídeo (CNPG3), ambas pelo método espectrofotométrico. Os dados obtidos submetidos ao Teste Qui-Quadrado e Anova demonstraram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na atividade da amilase salivar entre os grupos I e III. Dessa forma, pode-se inferir que existe uma correlação positiva entre a idade e atividade da amilase salivar e os demais parâmetros salivares permanecem constantes durante a primeira infância.

Palavras-Chave: Criança-Saliva-pH-Amilases-Proteínas salivares

Macedo AF. Assessment of salivary biochemistry tests of children 0 to 36 months-old [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Universidade Cruzeiro do Sul - UNICSUL; 2005.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate pH, flow rate, buffer capacity, salivary protein concentration and amylase activity in the saliva of 40 caries-free children from 0 to 36 months of age of both sexes. The sample was subdivided in three distinct groups characterized according to number of erupted teeth and age: Group I (edentulous and average age 7 ± 1.2 months), Group II (12.8 ± 2.5 months) and Group III (all primary teeth, 32.9 ± 1.9 months). The whole unstimulated saliva sample was collected under slight suction through aspiration. The protein concentration was determined by the method describe by Lowry and amylase activity was assessed by enzymatic cleavage from the amylase 2-chlorine-4nitrophenil-maltose (CNP3), both of them using spectrophotometer. Comparisons of the mean laboratorial values among groups were submitted to Chi-Square Test and Anova. Significant statistical differences ($p<0,05$) among age groups were observed in amylase activity in group I and III. Thus, it can be inferred that there is a positive association between children age and amylase activity, moreover the other salivary variables remain constant during childhood.

Keywords: Child-Saliva-pH-Amylases-Salivary proteins

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Componentes físicos, físicoquímicos e químicos da saliva total na proteção da cavidade bucal contra agentes nocivos exógenos e endógenos.....	27
Figura 4.1 - Dispositivo utilizado para coleta salivar.....	57
Figura 4.2 - Equipamento para a realização de coleta salivar (dispositivo e bomba à vácuo).....	57
Figura 4.3 – Fluxograma da metodologia simplificada.....	62
Figura 5.1 -Distribuição numérica dos indivíduos quanto ao gênero.....	66
Figura 5.2 – Distribuição das faixas etárias da amostra conforme o grupo.....	68

Figura 5.3 – Distribuição do fluxo salivar conforme os grupos.....	70
Figura 5.4 – Distribuição do pH conforme os grupos.....	72
Figura 5.5 – Distribuição da capacidade tampão conforme os grupos.....	74
Figura 5.6 – Distribuição da concentração de proteínas totais conforme os grupos..	76
Figura 5.7 – Distribuição da atividade da amilase salivar conforme os grupos.....	78
Figura 5.8 – Correlação entre fluxo salivar e pH.....	81
Figura 5.9 – Correlação entre fluxo salivar e capacidade tampão.....	81
Figura 5.10 – Correlação entre fluxo salivar e concentração de proteínas totais.....	82
Figura 5.11 – Correlação entre fluxo salivar e atividade da amilase salivar.....	82
Figura 5.12 – Correlação entre pH e capacidade tampão.....	83
Figura 5.13 – Correlação entre pH e concentração de proteínas totais.....	83
Figura 5.14 – Correlação entre pH e atividade da amilase salivar.....	84

Figura 5.15 – Correlação entre capacidade tampão e concentração de proteínas totais	84
Figura 5.16 – Correlação entre capacidade tampão e atividade da amilase salivar.	85
Figura 5.17 - Correlação entre concentração de proteínas totais e atividade da amilase salivar.....	85
Figura 5.18 – Distribuição do fluxo salivar conforme o gênero.....	86
Figura 5.19 – Distribuição do pH conforme o gênero.....	87
Figura 5.20 – Distribuição da capacidade tampão conforme o gênero.....	88
Figura 5.21 – Distribuição da concentração de proteínas totais conforme o gênero.	89
Figura 5.22 – Distribuição da atividade da amilase salivar conforme o gênero.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Distribuição numérica dos indivíduos quanto ao gênero.....	65
Tabela 5.2 - Medidas resumo para a idade (meses).....	67
Tabela 5.3 - Medidas resumo para o fluxo salivar (ml/min).....	69
Tabela 5.4 - Medidas resumo para a leitura inicial do pH.....	71
Tabela 5.5 - Medidas resumo para a capacidade tampão (meq/ml pH).....	73
Tabela 5.6 - Medidas resumo para a concentração de proteínas totais (mg/ml).....	75
Tabela 5.7 - Medidas resumo para a amilase salivar (UI/ml).....	77

Tabela 5.8 - Matriz de correlações entre os parâmetros bioquímicos salivares.....80

Tabela 5.9 – Medidas resumo para fluxo salivar (ml/min) por gênero.....86

Tabela 5.10 – Medidas resumo para pH por gênero.....87

Tabela 5.11 – Medidas resumo para capacidade tampão por gênero.....88

Tabela 5.12 – Medidas resumo para concentração de proteínas totais (mg/ml) por gênero.....89

Tabela 5.13 – Medidas resumo para amilase salivar (UI/ml) por gênero.....90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH	potencial hidrogeniônico
mm ³	milímetro cúbico
ml	mililitro
g	grama
min	minuto
ceo-d	número de dentes decíduos cariados, com extração indicada e obturados
N	normalidade
mg	miligrama
µg	micrograma
HCl	ácido clorídrico
µl	microlitro
°C	graus Celsius
UI	Unidades Internacionais

LISTA DE SÍMBOLOS

® marca registrada

% por cento

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 Glândulas salivares.....	23
2.2 Fluxo Salivar, pH e Capacidade Tampão.....	31
2.3 Constituintes Orgânicos.....	41
2.3.1 Concentração de Proteínas Totais.....	41
2.3.2 Amilase Salivar.....	45
3 PROPOSIÇÃO.....	52
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
4.1 Casuística.....	54
4.1.1 Seleção da Amostra.....	54
4.1.2 Divisão dos Grupos.....	55
4.2 Metodologia de Coleta Salivar.....	56

4.3 Análises Laboratoriais.....	58
4.3.1 Fluxo Salivar Total e Leitura Inicial de pH.....	58
4.3.2 Capacidade Tampão.....	58
4.3.3 Concentração de Proteínas Totais.....	58
4.3.4 Atividade da Amilase Salivar.....	59
4.4 Tratamento Estatístico.....	60
5 RESULTADOS.....	64
5.1 Descrição da Amostra.....	65
5.2 Fluxo Salivar Total.....	69
5.3 Leitura Inicial de pH.....	71
5.4 Capacidade Tampão.....	73
5.5 Concentração de Proteínas Totais.....	75
5.6 Atividade da Amilase Salivar.....	77
5.7 Correlação entre os Parâmetros Bioquímicos.....	79
5.8 Correlação entre os Gêneros.....	86
6 DISCUSSÃO.....	92
7 CONCLUSÕES.....	108
REFERÊNCIAS.....	110
ANEXOS	

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Conhecimentos médicos, odontológicos e sócio-culturais acumulados nas últimas décadas têm permitido uma melhor compreensão do processo Saúde-Doença da humanidade. A odontologia baseada em evidências científicas prova sistematicamente a possibilidade de se monitorar um indivíduo desde a fertilização até a vida adulta, sem experimentar o desequilíbrio da saúde bucal. No entanto, esse desafio naturalmente envolve pesquisas e observações clínicas freqüentemente pouco conhecidas e complexas, principalmente quando discorreremos sobre o macro universo que é a cavidade bucal. Dentre os fatores que compõem a complexidade da cavidade bucal, um bastante citado, no entanto pouco entendido, e por vezes negligenciado é a saliva. Discute-se seu papel como fator de proteção e manutenção da saúde bucal, seja sobre os tecidos moles, seja sobre o tecido dentário. Adicionalmente, relata-se uma extensa atuação de propriedades antibacterianas, antiinfeciosas, bactericidas e imunológicas. Comenta-se, mais especificamente, seu papel como agente protetor contra a doença cárie: seu poder

neutralizador contra ácidos produzidos por bactérias, seu fluxo salivar como mecanismo de remoção de resíduos alimentares, seu conteúdo de cálcio, flúor, fosfato, proteínas e enzimas diversas.

Admitindo-se essas afirmações como corretas, torna-se de crescente importância analisá-las à luz da odontopediatria. Especialmente, quando o foco de atenção da saúde atualmente está concentrado na manutenção e monitoramento da mesma, e não estabelecido exclusivamente sobre a doença.

Mais relevante, ainda, quando temos a oportunidade de avaliar todos esses fatores em quem não experimentou a doença. Na linha de raciocínio orientada por esses conceitos, entendemos ser oportuno estudar alguns fatores salivares, tais como: pH, capacidade tampão, atividade da enzima amilase, proteínas totais e fluxo salivar em crianças edêntulas e após erupção dentária decídua.

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

Por necessidade absolutamente didática e para melhor entendimento do estado atual do assunto, a revisão da literatura será expressa por tópicos distintos, não necessariamente em ordem cronológica.

2.1 Glândulas Salivares

As glândulas parótidas possuem células piramidais com núcleos esféricos localizados na região basal das células envolvendo um pequeno lúmen. Secretam uma saliva aquosa de conteúdo seroso, rica em amilase e são responsáveis por um quarto da produção total de saliva (MORSE et al., 1983b). São as maiores glândulas salivares, localizadas anteriormente ao pavilhão auditivo e posterior ao ramo da mandíbula. Pesam de 14 a 28 gramas e estão intimamente ligadas aos ramos periféricos do nervo facial. Possuem ductos com quase 7 centímetros de

comprimento, que se abrem na cavidade bucal na região da papila do segundo molar superior (MORSE et al., 1983a; DALE, 1998). O desenvolvimento inicia-se entre a quarta e sexta semana de vida embrionária (DALE, 1998). Sob situações de relaxamento, as glândulas parótidas ativadas pelo sistema nervoso autônomo parassimpático produzem uma saliva rica em alfa-amilase, com aumento de fluxo e pH. Em casos de estresse ou alterações emocionais o pH apresenta baixos valores, tornando a composição salivar mais ácida. Os estímulos físicos e químicos sensibilizam rapidamente as glândulas que respondem com alterações nos parâmetros salivares (MORSE et al., 1989).

As glândulas submandibulares estão situadas na porção posterior do assoalho bucal, pesam de 10 a 15 gramas e iniciam sua formação na sexta semana de vida intrauterina. Enquanto as glândulas parótidas possuem quase que sua maioria de células serosas ativadas pelo sistema parassimpático e as sublinguais apresentam principalmente células mucosas inervadas pelo simpático, as glândulas submandibulares possuem uma igualdade de células serosas e mucosas (MORSE et al. 1983a). Secretam uma saliva viscosa e são responsáveis por quase 70% do total de saliva produzida (MORSE et al., 1983b; PEDERSEN et al., 2002). Para Morse et al. (1983b) e Dale (1998), a secreção da submandibular é uma mistura das células mucosas e seromucosas e sob situações de estresse torna-se mais viscosa, enquanto na ausência de estímulos emocionais a secreção torna-se mais aquosa e volumosa. Os ductos excretores, com 5 centímetros de comprimento, possuem suas aberturas abaixo da língua através de um pequeno orifício lateral ao freio lingual (DALE, 1998).

As glândulas sublinguais demonstram uma morfologia elíptica, tamanho menor dentre todas as glândulas salivares maiores e possuem predominantemente

células mucosas. Pesam cerca de 2 gramas e situam-se no assoalho bucal entre a porção lateral da língua e os dentes. A secreção, predominantemente mucosa e viscosa, é eliminada mediante um número variável de pequenos ductos que se abrem numa elevação da prega sublingual (DALE, 1998). A liberação do fluido viscoso dessa glândula salivar aumenta sob estresse e diminui quando o indivíduo encontra-se em repouso (PEDERSEN et al., 2002). As glândulas sublinguais secretam de 1 a 2% do volume total de saliva. A ativação nervosa ocorre por meio do sistema nervoso autônomo simpático (MORSE et al., 1989).

As glândulas salivares menores estão localizadas logo abaixo e no interior das membranas mucosas, não são encapsuladas, apresentam um pequeno sistema de ductos, apresentam em sua morfologia uma quantidade equivalente de células mucosas e serosas e são ativadas pelo sistema simpático (MORSE et al. 1983a; MORSE et al., 1983b; DALE, 1998). Sob estresse ocorre uma liberação maior de muco tornando a saliva secretada mais viscosa e sob relaxamento a saliva apresenta-se mais volumosa e com maior quantidade de água (MORSE et al. 1983a; MORSE et al., 1983b). Distribuem-se pela mucosa bucal em regiões vestibulares, labiais e na mucosa palatina, não sendo encontradas na gengiva e na porção anterior do palato duro. Assim como as glândulas sublinguais, formam-se entre a oitava e décima segunda semana do período embrionário (DALE, 1998). A produção de volume de saliva das glândulas menores é de 10% do volume total de saliva (PEDERSEN et al., 2002). Para Morse et al. (1983a), essa produção é inferior à 1%.

As glândulas salivares maiores são sensíveis à presença de doenças sistêmicas. Qualquer enfermidade como, por exemplo, o diabetes, pode causar alterações morfológicas e fisiológicas (LÓPEZ et al., 2003). Flaitz et al. (1998), em seu estudo com 89 crianças portadoras do vírus HIV, mencionaram haver uma

modificação volumétrica nas glândulas parótidas nas crianças soropositivas, enquanto esse resultado não foi encontrado nos indivíduos soronegativos.

A saliva apresenta múltiplas funções, dentre elas: limpeza e lubrificação da cavidade oral, solubilização de substâncias alimentares, diluição de detritos, facilitação da mastigação, deglutição e fala, proteção de tecidos duros, da mucosa e órgãos dentários (EDGAR, 1992; DALE, 1998; TENOVUO, 1998; PEDERSEN et al., 2002).

A proteção dos elementos dentários ocorre pela neutralização de ácidos e ações tamponantes, pela manutenção da supersaturação das concentrações de cálcio e fosfato e pela formação da película adquirida. Estendendo-se além da cavidade bucal, sabe-se que a saliva também exerce funções importantes no sistema esofágico. A saliva contribui para a manutenção dessa área mediante a lubrificação da mucosa orofaríngea e do esôfago. O processo esofágico inicia-se com a deglutição da saliva, onde movimentos peristálticos levam o fluido salivar por toda a extensão do esôfago, esvaziando cerca de 95% do volume ácido presente nesse local. Em uma segunda fase, o ácido residual é diluído e tamponado pelas deglutições subseqüentes. Esta, por sua vez, ocorre em uma média de 600 vezes durante o dia, diminuindo no período do sono (PEDERSEN et al., 2002).

Outra função primordial na prevenção da doença cárie é a diluição de substratos bacterianos assim como de restos alimentares derivados da dieta. Essa eliminação e diluição de produtos cariogênicos é denominado de “*clearance*” salivar (DAWES, 1987; EDGAR, 1992; LAGERLÖF; OLIVEBY, 1994).

Watanabe, em 1992, investigou o “*clearance*” salivar de sete regiões distintas da cavidade bucal em 12 crianças de 5 anos de idade. Baseado nos valores obtidos encontrou um tempo médio de “*clearance*” salivar menor na região lingual anterior

inferior e o maior na vestibular anterior superior. Contudo, a presença de diastemas primatas foi considerada um fator modificador relacionado ao local do “*clearance*”. Quando o fluxo era estimulado, o tempo médio de “*clearance*” salivar nessas crianças foi significativamente maior do que aquelas que não apresentavam os espaços interdentais. O maior tempo médio para o “*clearance*” foi à região vestibular superior anterior.

Em relação à área microbiológica, a saliva não apresenta um papel de destaque por não ser o habitat preferencial dos *streptococcus mutans*, conforme Florio et al. em 2004. Os autores coletaram amostras com *swabs* estéreis de 4 diferentes regiões: saliva, dorso lingual, mucosa alveolar e biofilme dental de 33 crianças com média de idade de 6 meses. Os dados demonstraram que os *streptococcus mutans* possuem maior predileção para colonizarem o biofilme dental, ficando a saliva em segundo plano. Houve também uma correlação positiva entre o número de dentes erupcionados e o tempo inicial de aquisição de *streptococcus mutans*.

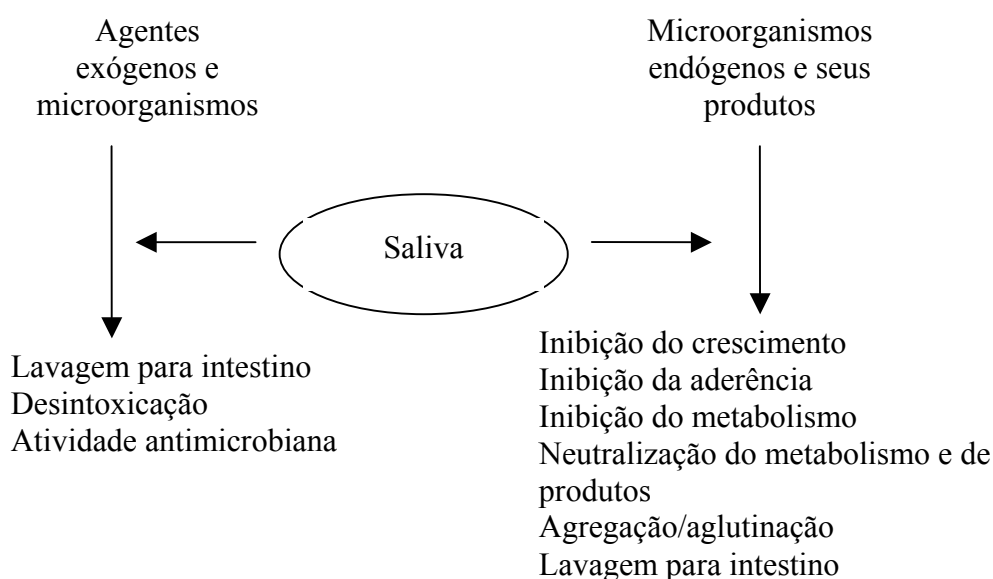


Figura 2.1 – Componentes físicos, físicoquímicos e químicos da saliva total na proteção da cavidade bucal contra agentes nocivos exógenos e endógenos (Fonte: TENOVUO, 1998).

Com a liberação do fluído salivar por todas as glândulas concomitantemente, obtém-se a saliva denominada de Saliva Total. Essa secreção mista é derivada dos 3 pares de glândulas salivares maiores e das glândulas salivares menores. A produção diária de saliva total varia de 0,5 à 1,5 litro, sendo que 99% de sua composição é formada por água e o restante por elementos sólidos (EDGAR, 1992; PEDERSEN et al., 2002). Edgar (1992) e Lagerlöf e Oliveby (1994) relataram que a saliva é composta de fatores antimicrobianos como as imunoglobulinas, enzimas peroxidases, lactoferrina, lisozima e aglutininas; por inibidores da precipitação de cálcio e fosfato como a estaterina e as proteínas ricas em prolina; por constituintes salivares inorgânicos como cálcio, fosfato e flúor. A saliva produzida na vestibular de um hemiarco bucal não migra para o hemiarco oposto (SAS; DAWES, 1997).

A liberação salivar pode ocorrer de forma estimulada ou não, respectivamente intituladas de Saliva Estimulada e Saliva em Repouso (EDGAR, 1992). A saliva em repouso é caracterizada pela liberação de fluxo salivar na ausência de qualquer excitação bucal fisiológica (NAVAZESH; CHRISTENSEN, 1982). Muitos estudos relacionados aos padrões salivares utilizam estímulos para propiciar maior fluxo salivar para análise laboratorial ou estudos comparativos. Normalmente, o estímulo salivar aplicado é o ácido, por ser mais efetivo, seguido de estímulos com paladar doce, salgado e por último amargo (EDGAR, 1992). O paladar é o principal fator estimulante para a produção de saliva, ao mesmo tempo em que, a presença de saliva na cavidade bucal é essencial para a percepção do paladar. É necessário que o bolo alimentar esteja envolto e solubilizado pela saliva para estimular as células receptoras das papilas gustativas. O paladar da sacarose, assim como de agentes aromatizantes, estimulam rapidamente as glândulas salivares que respondem em

poucos segundos com um aumento de fluxo salivar (LAGERLÖF; OLIVEBY, 1994). Entretanto, a saliva estimulada apresenta diferenças em sua composição quando comparada à saliva em repouso ou não estimulada. O estímulo, seja gustatório, olfativo ou mecânico, induz a uma produção de saliva mais fluida e aquosa (EDGAR, 1992).

Os parâmetros salivares podem sofrer alterações sob diversas circunstâncias, com a presença de estímulos ou não. Em situações de relaxamento há a ativação do sistema parassimpático e nota-se a diminuição de proteínas salivares, maior aquosidade, aumento de pH, de fluxo salivar e também da atividade amilolítica (MORSE et al., 1983a; MORSE et al., 1983b; MORSE et al., 1989). Sob condições de estímulos, nota-se que as glândulas parótidas são as maiores responsáveis pela produção, enquanto sob ausência de estímulos as glândulas submandibulares apresentam a maior liberação salivar (EDGAR, 1992; PEDERSEN et al., 2002).

A secreção da saliva é regulada por reflexos recebidos de receptores aferentes e terminações nervosas que carregam impulsos induzidos pelas ações da mastigação e deglutição (PEDERSEN et al., 2002). Os sistemas nervoso autônomo simpático e parassimpático atuam regulando as atividades das glândulas salivares. Essa atuação não ocorre em conflito, mas em associação. As inibições de secreção das glândulas salivares ocorrem somente sob estresse e tensões emocionais, reduzindo a formação de impulsos eferentes nas glândulas salivares (GARRET, 1987). Existem também receptores periodontais responsáveis pelo reflexo salivar os quais também transmitem impulsos ao sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático (DALE, 1998).

Anderson e Hector, em 1987, investigaram a interação do suporte nervoso nas glândulas. Após a introdução de um pequeno cereal do tamanho de 3 mm³ de

diâmetro na cavidade bucal, na região de segundos molares, o paciente recebeu a orientação de realizar apenas uma apreensão do alimento mantendo-se imóvel, a fim de se obter o mínimo de estimulação gustativa. Posteriormente foram efetuadas anestésias tronculares inferiores ou infiltrativas superiores do lado em que se encontrava o alimento. Essas anestésias resultaram na diminuição do fluxo salivar do local mastigatório. Assim, concluíram que os reflexos salivares dependem da entrada de mecanorreceptores intrabucais, em particular de receptores periodontais, os quais tiveram seus impulsos interrompidos pela ação anestésica, diminuindo a atividade glandular da região anestesiada.

As principais glândulas salivares (glândulas salivares maiores parótidas, submandibulares, sublinguais) originam-se do espessamento do epitélio bucal, formando um pequeno broto conectado à superfície por cordão epitelial, semelhante ao broto dentário em formação. Possuem um parênquima com uma série de ductos que confluem para as porções secretoras terminais. Os ductos secretores principais segmentam-se em ductos menores – ductos estriados – os quais se dividem em ductos ainda menores que se abrem na porção secretora terminal – ductos intercalares. As porções terminais consistem em um conjunto de células poligonais sustentadas por membrana basal, a qual limita um espaço central denominado lúmen. A saliva é formada na porção secretora e consiste em um componente macromolecular derivado da atividade sintética e secretora das células acinosas e outro componente fluido originário do sangue (DALE, 1998). O desenvolvimento das glândulas salivares completa-se por volta dos 15 anos de idade. Na adolescência as glândulas alcançam seu crescimento máximo (CROSSNER, 1984).

As transformações estruturais glandulares também ocorrem com o decorrer do tempo, independentemente da presença ou não de doenças sistêmicas.

Waterhouse et al. em 1973, através do estudo de 211 autópsias de glândulas salivares, demonstraram que 25% do volume das células parenquimais morfológicamente ativas encontradas em crianças se perdem na idade avançada, sendo substituídas por tecido conjuntivo fibroso ou gorduroso. Com maior frequência pode ocorrer a perda de aproximadamente 50% da estrutura acinosa das glândulas submandibulares. Pedersen et al. (1985) afirmou haver precisamente a perda de 50% de volume parenquimal nas glândulas parótidas e 25% nas submandibulares.

2.2 Fluxo Salivar, pH e Capacidade Tampão

O principal fator de proteção da saliva é o fluxo salivar constante da cavidade bucal (TENOVUO, 1998) enquanto a capacidade tampão caracteriza-se pela propriedade protetora contra os ácidos advindos da dieta e do biofilme dental (EDGAR, 1992).

Para Morse et al. (1983a), o fluxo salivar pode ser afetado por diversos fatores, externos e internos. Os principais seriam: estado emocional (fluxo diminui em estados depressivos), ritmo circadiano (fluxo aumenta no período matutino), fome (aumento de fluxo antes de refeições), dieta, idade, presença ou ausência dental, antecipação de situações agradáveis (aumento de fluxo salivar), doenças sistêmicas, doenças infecciosas, presença de lesões de cárie (redução no fluxo salivar), tumores, radioterapias e quimioterapias.

Fegurson e Fort, em 1974, estudaram a variação de pH durante 3 dias em amostras de saliva não estimulada de adultos. O pH variou com a tendência do

maior valor numérico ocorrer logo após o mais baixo. Quando comparado a outros parâmetros salivares como atividade da amilase, concentração de proteínas e fluxo salivar, o pH apresentou menor variação durante o ritmo circadiano. No período de sono, entre meia-noite e 8 horas da manhã, o valor permaneceu por volta de 6,5. A velocidade de produção da saliva varia durante o dia, sendo somente 10 ml produzidos à noite dentre os 640 a 1.200 ml diários (DALE, 1998). O ritmo circadiano salivar apresenta algumas variações no padrão de fluxo salivar. Observa-se que há picos elevados durante o período vespertino enquanto esse valor pode chegar a quase zero durante o sono (PEDERSEN et al., 2002). Para Edgar (1992), o pico máximo de produção salivar ocorre por volta das 5 horas da tarde, independentemente do tipo de dieta e estado emocional.

Crossner (1984) realizou um estudo longitudinal durante 15 meses, examinando o fluxo salivar em 115 crianças com idade média de 14 anos e 7 meses, durante o dia. Nesse período, as amostras foram coletadas em intervalos de 10 semanas totalizando uma quantia de 7 amostras salivares por criança. A saliva analisada foi estimulada por uma goma de parafina mascada por 5 minutos. Após a coleta o recipiente foi selado com cera e vibrado na tentativa de se reduzir a espuma. Em outro grupo de 42 crianças com idade média de 12 anos e 5 meses foi investigada a variação do fluxo circadiano. As amostras foram coletadas durante 3 dias nos seguintes horários: 9 horas da manhã, 12:15, 15:30, 9 horas da manhã do segundo dia e também do terceiro dia. Os números mostraram diferença significativa entre os gêneros. Os meninos mostraram um fluxo salivar muito maior que as meninas. Entretanto, as análises quanto às coletas feitas seqüencialmente nos horários estabelecidos não mostraram diferença no fluxo entre as amostras salivares

coletadas. Entende-se então, que o fluxo salivar dessa amostra pesquisada não teve alteração circadiana.

A variação individual circadiana foi comentada por Larsen et al. (1999) como sendo motivo para a não uniformização de resultados na análise dos parâmetros salivares. Foram coletados 4 ml de saliva não estimulada, de 11 estudantes de odontologia, no período matutino durante 8 semanas. O pH variou de 5,76 à 7,96 e a capacidade tampão teve resultados muito diversos, não permitindo a padronização de valores.

O stress foi examinado por Bates e Adams (1968), como fator influenciador no fluxo salivar. A saliva foi coletada em 21 estudantes 30 minutos antes de realizarem provas escolares, gerando situação estressante nos participantes. Os resultados demonstraram diminuição de secreção salivar, independentemente do período do dia.

A xerostomia, diminuição do fluxo salivar, pode ocorrer em diversas situações, principalmente em períodos de estresse. O medo, presença de algeias e alterações emocionais de um modo geral influenciam o fluxo salivar. Entretanto, o estresse causado pela consulta odontológica, não aumenta o fluxo salivar nas crianças, comumente relatado por profissionais. Os autores mensuraram o fluxo salivar em 10 crianças na faixa etária de 5 a 9 anos de idade obtendo a média de 1,6g (DEVILDOS; YURGE; MNUZZI, 1970). Cury e Gil em 1988 relataram que 30% dos voluntários analisados por eles apresentaram uma xerostomia leve com redução no fluxo salivar, abaixo de 1,0 ml/min. Após análise da secreção em pacientes adultos, obtiveram como valor médio 1,0 a 2,0 ml/min.

A comprovação da presença de doenças sistêmicas alterando o fluxo salivar foi comprovada por López et al. em 2003. Realizaram um estudo salivar com 20

crianças diabéticas na faixa etária entre 3 e 15 anos de idade. A coleta salivar foi efetuada utilizando-se uma seringa estéril, evitando contato com tecido epitelial. Os autores observaram uma redução no fluxo salivar, uma maior viscosidade e presença de espuma nas crianças diabéticas em relação ao grupo controle.

A associação entre o fluxo salivar e características bioquímicas da saliva com a dieta foi determinada por Mazengo et al. (1994). Foram observadas 83 crianças de 12 anos de idade e 127 adultos que moravam em áreas rurais e urbanas da Tanzânia. A saliva foi estimulada por goma de parafina. Nenhuma diferença fundamental foi observada entre o fluxo salivar da população urbana e rural. Entretanto, a média de secreção da saliva foi menor nas meninas em relação aos meninos no grupo de crianças de 12 anos de idade. A capacidade tampão foi elevada no grupo rural em comparação ao urbano. A concentração de proteínas foi significativamente maior nos indivíduos da zona rural, enquanto que a atividade da amilase foi menor. Essa diferença deve-se à dieta proteica rural, predominantemente de origem vegetal, e a dieta urbana, basicamente composta de proteína animal. Além disso, o consumo da população rural contém menos sacarose e maior quantidade de fibras, o que provoca alta atividade tamponante salivar. Os dados implicam na diferença da composição salivar dos participantes da área rural e urbana estarem associados com a quantidade de nutrientes ingeridos.

Kedjarune et al. (1997) compararam a prevalência de lesões de cárie, composição da dieta, fluxo salivar e alguns componentes salivares em 243 crianças de 12 a 16 anos da Tailândia. Formaram-se dois grupos, conforme o local que residiam, sendo 105 de área urbana e 138 de zona rural. Os resultados expressaram prevalência de doença cárie no grupo da área urbana apesar das crianças da zona rural consumirem uma dieta rica em carboidratos, principalmente arroz. O consumo

de proteínas foi semelhante em ambos os grupos e a ingestão de fontes de vegetais foi maior nas crianças rurais. O fluxo salivar foi significativamente maior no grupo rural enquanto o pH, capacidade tampão e concentração de proteína total foram maiores nas crianças da área urbana. Não houve correlação entre a ingestão de nutrientes e a composição salivar nas crianças das diferentes regiões. Conforme os autores, os nutrientes dietéticos podem não ter efetividade direta na composição salivar.

Santos e Long, em 1994, através da determinação do índice de ceo-d e testes salivares (fluxo salivar e capacidade tampão) em 30 crianças com dentadura decídua na faixa etária de 3 a 6 anos, avaliaram o risco de cárie. Os resultados mostraram que quanto menor o fluxo salivar maior será o índice ceo-d, havendo correlação inversa entre o fluxo salivar e risco de cárie. Os autores afirmaram que o valor do fluxo salivar em crianças com dentadura decídua é menor nessa fase e aumenta com a idade, não havendo variação entre os gêneros. Foi avaliado como fluxo salivar normal a secreção de 1,0 a 1,2 ml/min; entre 0,9 e 0,5 ml/min como fluxo intermediário e a quantidade inferior a 0,5 ml/min classificada como baixa enquanto para pacientes adultos foi considerado um fluxo normal de 1,6 a 2,3ml/min. Notaram então, que o fluxo salivar nas crianças foi menor que o estabelecido para os pacientes adultos. Não encontraram uma possível correlação entre a capacidade tampão e o índice ceo-d.

O'Sullivan e Curzon, em 2000, estudaram em 103 crianças na faixa etária de 3 a 16 anos o fluxo salivar e pH em saliva estimulada e em repouso. A amostra foi dividida em um grupo sem lesões de cárie e em outro grupo com a doença cárie. O método consistiu na coleta salivar mediante espátula de madeira sobre o dorso lingual por alguns minutos e uso de goma de parafina para a aquisição de saliva

estimulada. Observaram que o fluxo e o pH de saliva em repouso e estimulada foi maior no grupo com ausência da doença cárie.

Dawes (1987) descreveu os diferentes tipos de coleta salivar e concluiu que apresentam dados diversos. Os métodos descritos foram: a) drenagem: consiste no gotejamento da saliva dentro de um cilindro graduado; b) expectoração: quando o indivíduo expulsa a saliva por 60 segundos em recipiente também graduado; c) sucção: quando a saliva é continuamente sugada no assoalho bucal sendo acumulada em invólucro apropriado; d) *swabs*: algodão absorvente é pré-pesado e inserido na cavidade bucal e posteriormente pesado novamente; a diferença das pesagens indica a quantidade de fluxo salivar. Para os métodos com estímulos, o autor afirma que o ácido cítrico pode interferir no fluxo salivar e na capacidade tampão. A excitação mecânica feita normalmente com parafina necessita de um padrão constante de mastigação e da presença de dentes. Quanto à coleta específica de glândulas salivares maiores, relata haver uma maior dificuldade para as glândulas submandibulares, que possuem ductos móveis que se abrem separadamente e com esfíncteres que impedem a introdução de cânulas. O mesmo não ocorre com as glândulas parótidas e as menores, as quais permitem facilmente a coleta salivar.

Para Anderson, Hector e Rampersad (2001), o fluxo salivar pode apresentar valores distintos conforme metodologia aplicada. Foram feitas coletas salivares utilizando estímulo mecânico e outra coleta em repouso. Os valores demonstraram diferenças significativas entre os métodos. Nas crianças, a média de 0,44 ml/min de saliva foi obtida com o repouso e 0,88 ml/min da forma estimulada. Porém, não há diferenças na quantidade de fluxo entre adultos e crianças quanto à coleta salivar em repouso. Alegam também, que o processo de desmineralização e

remineralização é baseado não somente no nível de concentração de cálcio, mas também no pH bucal. Em uma análise comparativa de pH bucal com 2 grupos na faixa etária entre 6 e 12 anos e 19 a 44 anos, revelaram que o pH considerado crítico em crianças é maior quando comparado à adultos.

Navazesh e Christensen (1982), realizaram coleta salivar com distintos métodos, a fim de verificarem alguma interferência nos resultados. Participaram 17 pacientes de 18 a 32 anos, dos quais foi coletada saliva sem estímulo através do método de drenagem, sucção, expectoração e com *swabs*. O processo de coleta com sucção produziu altos valores de fluxo salivar em relação aos demais. A saliva coletada mediante estímulos gustatórios e mastigatórios também mostrou diferentes resultados. O estímulo gustativo com drops contendo 1,7 g de ácido cítrico produziu mais secreção que o mecânico, feito com 1 g de goma de polivinil acetato. Assim, os autores concluem que a metodologia para análise de alguns parâmetros salivares pode alterar ou induzir a diferentes resultados.

Veerman et al. (1996) mensuraram o fluxo salivar e pH das 3 glândulas salivares maiores e das menores palatinas em 5 participantes de 25 a 49 anos de idade. O estímulo foi efetuado com aplicação de ácido cítrico a 3% sobre o dorso lingual sendo as coletas efetuadas separadamente. O fluxo salivar apresentou uma média 0,23 ml/min nas glândulas parótidas, 0,21 ml/min nas palatinas, 0,15 ml/min nas submandibulares e 0,06 ml/min nas sublinguais. O pH manteve-se equilibrado por volta de 7,0 nas glândulas maiores e mostrou-se mais alcalino nas palatinas. Os autores consideraram os altos valores obtidos pelas glândulas menores originários do estímulo mecânico produzido pelo aparelho coletor que esteve em contato com essas glândulas durante a pesquisa.

Considerando a idade e gênero, diversos estudos tem sido elaborados no intuito de descobrir uma correlação entre o fluxo salivar e essas variáveis.

Andersson, em 1972, investigou os valores e variações de certos fatores salivares em 100 crianças escolhidas aleatoriamente de com idades de 7, 10 e 13 anos. A saliva foi coletada de forma não estimulada e também estimulada por goma de mascar. O valor do fluxo salivar não estimulado foi muito similar a adultos, enquanto que na saliva estimulada foi claramente maior nas crianças de 13 anos de idade. As meninas apresentaram fluxo salivar reduzido em relação aos meninos em todas as idades estudadas. O pH de ambos os métodos salivares analisados foram maiores na população adulta e na saliva estimulada o pH foi maior em comparação à não estimulada. A capacidade tampão na saliva não estimulada no grupo de crianças de 13 anos e também nas meninas teve menor ação que nos participantes de 10 anos de idade. Na coleta estimulada a ação tamponante foi menor nas crianças de menor idade. Houve diferenças estatísticas significantes nos valores da capacidade tampão entre os gêneros feminino e masculino tanto na saliva estimulada como na não estimulada.

Heft e Baum, em 1984, pesquisaram a saliva estimulada, com 2% de ácido cítrico, e não estimulada, de 85 pessoas de 23 a 81 anos. Foram feitos grupos de acordo com as idades denominados respectivamente de grupo jovem, com participantes de 20 a 39 anos; mediano com integrantes de 40 a 59 anos, e senil, com voluntários de 60 anos ou mais. Não obtiveram distinção entre os valores de fluxo salivar em relação a nenhum grupo.

A distribuição e secreção salivar em crianças foram apresentadas por McDonnel e Hector, em 1997. A saliva foi coletada em 20 crianças, de 6 a 8 anos de idade, com dentaduras decíduas e mistas. O ato mastigatório foi efetuado

unilateralmente com uma goma isenta de açúcar e com eritrosina incorporada. A distribuição da saliva foi marcada pelas manchas de eritrosina. As pigmentações foram observadas no mesmo lado em que se realizou a mastigação em 58% das crianças; 41% apresentaram manchamentos na região da linha mediana e 16% revelaram a presença da eritrosina em caninos decíduos do hemiarco opostos ao mastigatório. A secreção salivar foi maior do lado em que se realizou a mastigação.

A capacidade tampão salivar é estruturada por diversos sistemas, sendo o de maior relevância o sistema bicarbonato, com uma variação diária nos valores (NICOLAU, 1966). O sistema fosfato também auxilia na ação tamponante atuando com maior eficiência quando a saliva não é estimulada (LAGERLÖF; OLIVEBY, 1994; DALE, 1998).

O sistema tampão protege a cavidade bucal inibindo uma otimização das condições ambientais para o desenvolvimento bacteriano. As bactérias necessitam de pH específico para seu crescimento máximo e a capacidade tampão evita a colonização, alterando o pH bucal (DALE, 1998).

Os primeiros estudos sobre a capacidade tampão da saliva foram feitos em 1946 por Dreizen, Mann e Cline. Cinquenta participantes fizeram parte da pesquisa e foram divididos em 3 grupos conforme a dieta nutricional. No primeiro grupo havia 16 pacientes nutricionalmente deficientes, mas relativamente livres de lesões de cárie. O segundo grupo consistia em 20 pessoas bem nutridas com atividade relativa de doença cárie. O grupo III também apresentava integrantes bem nutridos com presença de lesões de cáries rampantes. A análise salivar foi feita mediante o estímulo de parafina e acréscimo de 0,1 N de ácido láctico gota a gota e medindo-se o pH. A leitura e o adicionamento ácido foram feitos até o valor inferior à 4,0. Os resultados demonstraram que os pacientes mal nutridos e livres de doenças cáries

apresentaram a maior capacidade tampão salivar. Em contraste, os grupos II e III, com pacientes bem nutridos com moderada ou alta presença de lesões de cárie mostraram diminuição progressiva da ação tamponante.

Schlagenhauf e Rosendahl, em 1990, afirmaram não haver correlação entre a capacidade tampão e o tipo de dentição que a criança apresenta, ou seja, as dentaduras decídua, mista e a dentição permanente não influenciam na ação tamponante salivar. A saliva estimulada por parafina foi recolhida em 60 crianças de 3 a 16 anos de idade. As dentições foram classificadas conforme a presença de dentes decíduos e permanentes. O fluxo salivar apresentou a tendência de aumentar com a idade.

A capacidade tampão depende principalmente da ação do bicarbonato, apresentando um processo bioquímico dinâmico e complexo segundo Bardow et al. (2000). A saliva estimulada contém gás carbônico e sua pressão é muito menor que a pressão carbônica atmosférica. Quando a saliva é coletada de forma estimulada onde está exposta ao contato atmosférico, ocorre a perda de gás carbônico por diferença de gradiente de pressão entre o ar atmosférico e o gás carbônico bucal expirado pelos pulmões. Isso faz com que ocorra uma alteração de pH, tornando-o mais alcalino. Os autores obtiveram essa confirmação através da pesquisa com 20 voluntários adultos mediante a coleta de saliva em repouso e estimulada por parafina. A média de valor de pH na saliva estimulada foi significativamente mais alcalina e os dados relativos à capacidade tampão também foram elevados em relação à análise das amostras coletadas em repouso. A concentração de proteínas totais não diferiu entre os métodos distintos de coleta.

Em 2003, Sánchez e Preliasco diagnosticaram um grave problema à cavidade bucal, em especial aos órgãos dentários é o aparecimento de erosões dentais,

definidas como sendo uma perda de superfície dentinária pela ação de substâncias ácidas advindas da dieta e não resultantes de metabolismo bacteriano. Em pesquisa com 30 crianças de 4 a 10 anos de idade, portadores de erosão dental, a capacidade tampão apresentou-se muito baixa, concomitante ao fluxo salivar, devido à pequena quantidade de carbonatos secretados na saliva. Assim, a capacidade tampão reduzida associada à ingestão freqüente de bebidas ácidas predispõe ao surgimento de erosões dentais.

2.3 Constituintes Orgânicos

2.3.1 Concentração de Proteínas Totais

As proteínas presentes na saliva são responsáveis pela proteção dos tecidos bucais contra a desidratação, injúrias químicas, mecânicas e agressões microbianas (VEERMAN et al., 1996). Proteínas totais e enzima amilase salivar apresentam-se em graus elevados em crianças portadoras de diabetes. Essas diferenças podem ser causadas pelo stress, alta atividade de agentes microbianos ou talvez pelas proteínas originárias de tecido periodontal (LÓPEZ et al., 2003).

Fegurson e Fort (1974) analisando a variação da concentração de proteínas durante o dia concluíram que a concentração apresentou um alto valor entre 9 horas da manhã até às 10 horas da noite, havendo uma correlação positiva com o fluxo salivar. A coleta foi efetuada com saliva não estimulada de pacientes adultos. O

experimento iniciou-se às 21 horas do primeiro dia e prosseguiu até a 17 horas do dia seguinte com coletas salivares em intervalos regulares de 4 horas. Houve uma parada nas coletas por seis horas entre a 17 e a 23 horas. Após esse horário prosseguiram até as 19 horas do terceiro dia com o mesmo intervalo de 4 horas entre as coletas. A concentração mínima protéica ocorreu durante o período noturno até o despertar do paciente.

Skurk, Krebs e Rehberg (1979) investigaram os padrões protéicos em 9 crianças de 7 a 14 anos de idade que sofriam de parotidite crônica e um grupo controle. As amostras salivares foram coletadas em repouso e posteriormente com estímulo ácido e mecânico através de 200 mg de tablete de ácido ascórbico. Os valores médios na saliva não estimulada mostraram não haver diferença quanto ao fluxo e concentração de proteínas e uma diminuição significativa de amilase salivar nas crianças portadoras da doença. Porém, na saliva estimulada pela presença de ácido a concentração de proteínas foi expressivamente maior, e os parâmetros restantes inalterados.

Johnson et al. (1987), analisando a presença de doenças sistêmicas, realizaram uma pesquisa mensurando a concentração de proteínas salivares com o uso de drogas farmacológicas. Utilizaram 7 ratos adultos de laboratório, que recebiam diariamente injeções subcutâneas de dexametasona na dose de 10 µg/100 g de peso corpóreo durante 7 dias. A coleta salivar foi efetuada com um pequeno tubo de polietileno inserido na traquéia com os animais previamente sedados com hidrato de cloral. A concentração de proteínas foi substancialmente aumentada e a quantidade de saliva coletada foi reduzida em quase 75% em comparação ao grupo controle. Existe, portanto uma interação entre a atividade das glândulas salivares e a administração de medicamentos farmacológicos.

A concentração de proteínas não sofre variação com a erupção dentária conforme Hyypä et al. em 1989. Tanto a presença quanto a ausência dental não modificou os valores, assim como o modo alimentar também não causou alteração nos valores salivares protéicos. A pesquisa longitudinal consistiu em uma amostra de 33 crianças saudáveis que não faziam uso de medicamentos. Os autores acompanharam os bebês desde a fase edêntula, onde tinham de 2 a 6 meses de idade, até o irrompimento com as crianças atingindo a idade de 12 a 19 meses. Na primeira coleta, 27 crianças nutriam-se exclusivamente de aleitamento materno e numa coleta posterior somente cinco bebês mantinham o mesmo hábito. Ambas as coletas seguiram a mesma metodologia, a saliva sendo coletada com aparelho plástico aspirador no assoalho bucal, com ausência de estimulação. O grupo controle foi composto de 24 adultos com idade média de 23 anos e 3 meses. Esse grupo demonstrou padrões numéricos elevados em relação ao grupo infantil.

Ben-Aryeh et al. (1990) estudaram a composição da saliva em repouso em 136 pacientes saudáveis. Os indivíduos foram divididos em 5 grupos de acordo com a idade: grupo I com 25 bebês de 7 a 11 meses de idade, II com 28 infantes de 2 a 3 anos de idade, III com 28 crianças de 6 a 8 anos de idade, IV composto de 28 adolescentes de 12 a 14 anos e grupo V constituído de adultos de 25 a 63 anos de idade. A saliva foi coletada no período da manhã e para os grupos I e II foram utilizadas seringas plásticas sem agulhas. Para os demais grupos os indivíduos eliminaram a saliva expectorando em um recipiente. Foram achadas correlações lineares ascendentes entre a idade e as concentrações de proteína total e amilase salivar. A atividade amilolítica foi muito variável com diferenças expressivas entre os grupos I e II, respectivamente com idades entre 7 e 11 meses e 2 a 3 anos. A elevação nos níveis da enzima amilase continuaram após a adolescência. Para os

autores a composição salivar apresenta modificações durante a infância implicando um processo de desenvolvimento e maturação das glândulas salivares, indicando a necessidade de controle clínico salivar de acordo com a idade.

Ruhl e Schmalz (1999) avaliaram a composição salivar de proteínas durante o primeiro ano de vida com o intuito de verificar se a erupção dentária promovia alguma alteração. Coletaram amostras de saliva total não estimulada de 7 bebês com intervalos mensais até os 12 meses de vida. Notaram uma extraordinária constância nos padrões salivares protéicos de cada bebê durante o tempo de pesquisa. Não observaram diferenças notáveis associadas à erupção dentária. Concluíram haver uma marcante freqüência na composição salivar de proteínas mesmo durante o primeiro ano de vida. Atestaram ainda que as grandes mudanças ocorridas nessa fase no meio bucal não são acompanhadas por mudanças qualitativas detectáveis na composição salivar.

Para Dezan et al. (2002) o gênero e a idade não influenciam a concentração de proteínas totais. Pesquisaram a saliva não estimulada de 94 pacientes divididos por idade. As crianças foram separadas em 3 grupos: 18, 30 e 42 meses de idade e as coletas foram padronizadas quanto ao horário e método. Os valores numéricos mostraram uma semelhança na concentração protéica. Entretanto a amilase salivar teve relação direta com a idade. A atividade amilolítica foi significativamente maior nas crianças de 30 meses em comparação aos bebês com 18 meses de idade.

2.3.2 Amilase Salivar

A alfa-amilase está presente nas glândulas salivares maiores tais como parótida, sublingual e submandibulares, sendo secretada também pelas glândulas salivares menores do palato (DEIMLING et al. 2004). Entretanto as glândulas parótidas sintetizam a maior parte da amilase salivar totalizando quase 80% da produção total da enzima, sendo o restante produzido pelas glândulas submandibulares (MORSE et al., 1983b). Em valores absolutos, as glândulas parótidas produzem de 60 a 120 mg/100ml e as submandibulares aproximadamente 25 mg/100ml (EDGAR, 1992).

A digestão bucal é facilitada pela quebra do alimento, facilitando a atuação enzimática; pela concentração de amilase e pelo pH alcalino que aumenta a ação da amilase salivar (MORSE et al. 1983b). O potencial hidrogeniônico considerado ideal para a melhor atividade amilásica é por volta de 6,8 (EDGAR, 1992). Para Pedersen et al. (2002), a alfa-amilase não tem significância no processo digestivo por ser rapidamente inativada pelo ácido gástrico. Sua concentração aumenta de acordo com o fluxo salivar.

A alfa-amilase, principal enzima salivar, possui a função catalisadora no processo de degradação de carboidratos tendo como produto final da digestão amilolítica o amido seguido da maltose e glicose (MORSE et al., 1983b). Enquadra-se no grupo de enzimas denominadas de glicosilase e sua atividade e estabilidade dependem da presença de íons cloro e cálcio. Possui peso molecular de 55000 e em altas temperaturas e níveis elevados de pH torna-se excepcionalmente estável. A atividade da α -amilase difere-se da β -amilase, a qual não é encontrada em fontes

animais e somente está presente na cavidade bucal como produto da microbiota. A α -amilase está presente na maioria dos animais que se alimentam de comida contendo amido como: macacos, roedores e humanos. Em cães, gatos, cavalos não apresenta atividade significativa. A produção da enzima é originária dos ácinos serosos e os níveis amilolíticos na saliva humana variam de 0,04 a 0,4 mg/ml sendo que 5% dessa quantidade contêm proteínas salivares. Esses níveis modificam de indivíduo para indivíduo durante o dia e tendem a diminuir progressivamente com a idade (JACOBSEN; MELVAER; PETTERSEN, 1972).

A amilase salivar contribui também negativamente na cavidade bucal. Pode atuar como receptor para a aderência bacteriana na superfície da película adquirida. Distribui-se aleatoriamente dentro da película, sendo encontrada em maior quantidade no biofilme dental de faces palatais nos primeiros molares superiores. É considerada uma proteína estrutural da placa bacteriana (DEIMLING et al., 2004).

Rossiter et al. (1974) compararam a atividade da enzima amilase salivar com amilase pancreática em crianças de 6 meses a 1 ano de idade. Os pacientes apresentavam doenças sistêmicas como desnutrição e fibrose cística. O pâncreas encontrava-se debilitado com produção de amilase pancreática diminuída. As crianças portadoras de fibrose cística apresentaram níveis normais de amilase salivar. Entretanto a desnutrição afetou a quantidade amilolítica salivar diminuindo a concentração. No grupo havia uma criança recém-nascida prematura com alimentação via sonda gástrica. O nível de amilase salivar nessa criança prematura foi considerado normal quando comparado a bebês nascidos de gestação completa, porém baixos em relação a infantes e adultos. A constante elevação deve-se à maturação das glândulas salivares e não à presença de alimentos à base de amido.

Bellavia et al. (1979) investigaram a alfa-amilase em 25 bebês de 3 a 15 dias de vida com os padrões obtidos em adultos. A saliva foi coletada mediante o estímulo de um cristal de sacarose. Os resultados evidenciaram uma especificidade da enzima amilase 9 vezes maior nos adultos que nos grupo de tenra idade. Entretanto as formas da enzima nos bebês foram mais estáveis quando submetidas à imersão em altas temperaturas.

A concentração e secreção da amilase salivar foram acompanhadas longitudinalmente durante o primeiro ano de vida por Collares, Brasil e Kawazaki em 1979. Dez crianças nascidas de parto normal com bom desenvolvimento somático e neurológico receberam a introdução de amido em pequenas quantidades em torno do terceiro mês de vida. A dieta consistia em papa de fubá. Ao redor do quinto mês foi inserida a papa de vegetais. Quantidades bem maiores foram fornecidas depois do sétimo mês com arroz e derivados de farinha de trigo. Concomitante ao acompanhamento da dieta foram coletadas saliva no primeiro dia de vida, com 15 dias, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 dias e posteriormente aos 9 e 12 meses de idade. Como controle foram utilizadas 18 crianças com idade entre 20 e 30 meses. Notaram que o volume de saliva secretado no recém-nascido é pequeno elevando-se até atingir valores máximos entre 90 e 180 dias, diminuindo posteriormente aos 12 meses de vida. A concentração da amilase salivar também foi baixa no nascimento aumentando progressivamente até o primeiro ano de vida, onde foram observados níveis comparáveis àqueles encontrados em crianças com idade entre 20 e 36 meses e adultos jovens.

Posteriormente, em 1980, Collares, Brasil e Fernandes realizaram novo estudo avaliando a secreção de saliva e amilase salivar de recém-nascidos de baixo peso. Em 22 bebês recém-natos com peso entre 1220 a 2260g foram coletadas

amostras salivares individuais no primeiro dia de vida. Em 11 crianças desse mesmo grupo, a coleta foi repetida no trigésimo dia de vida. Como grupo controle foram estudados 27 recém-nascidos com peso entre 2600 a 3800g. Em 16 bebês desse grupo repetiu-se a coleta salivar no trigésimo dia. Para ambos os grupos padronizaram-se a técnica e horário de coleta. Os resultados permitiram verificar que quanto à capacidade de secreção de saliva e a concentração de amilase, não houve diferenças entre os grupos. Os dados sugerem amadurecimento precoce das glândulas salivares na vida intra-uterina, ocorrendo uma elevação dos níveis de amilase após o nascimento, indicando maturação acinar completa até o fim do primeiro ano de vida extra-uterino. O recém-nascido de baixo peso tem a mesma capacidade de digestão de polissacarídeos que o recém-nascido normal.

Ben-Aryeh et al. (1984) coletaram de 0,5 a 2ml de saliva em repouso com seringa plástica em 168 crianças com idade de 3 dias a 12 meses. Os valores encontrados para amilase salivar e pH foram baixos próximos ao nascimento e aumentaram com a idade. Após os 3 meses de idade notaram uma elevação expressiva na atividade amilásica, indicando um desenvolvimento independente do consumo de alimentos. Portanto, existe uma correlação positiva entre a idade dos bebês e amilase e outra negativa entre a idade e concentração de proteínas. A saliva apresentou um aspecto viscoso nos indivíduos com menos de um mês de vida e naqueles com idade inferior a 3 dias não foi possível realizar a coleta. O fluxo salivar foi baixo nos bebês com idade inferior a 30 dias e não apresentou alteração quanto ao gênero. O aleitamento materno e artificial, assim como a presença de dentes e a introdução de alimentos sólidos na dieta não demonstraram significância nos resultados. Estudaram também a interferência do peso da criança nos

parâmetros salivares e encontraram uma interligação positiva. Para os autores, a composição salivar em bebês possui valores próximos aos adultos.

Nessa mesma linha de raciocínio, Oliveira et al. (1997) realizaram pesquisa semelhante, tendo também como variante o peso, mas em crianças com idade entre 4 e 12 anos. Os autores embasados na idéia que indivíduos que consomem mais amido deveriam apresentar maiores taxas de amilase investigaram o perfil da enzima amilolítica em crianças obesas. Participaram 58 crianças, sendo 29 consideradas obesas e 29 classificadas como não obesas, constituindo o grupo controle. A saliva foi colhida durante cinco minutos com seringas plásticas estéreis após estímulo químico com suco de limão. Entre as crianças do grupo controle a concentração de amilase foi significativamente maior no gênero masculino. Os meninos obesos apresentaram concentração amilásica menor em relação aos controles. Concluíram, então os autores que a obesidade influi negativamente na concentração da amilase salivar em crianças.

Rudney, Hickey e Ji (1999) correlacionaram a amilase salivar e as proteínas totais com a aderência de *streptococcus* do grupo *mitis*, os primeiros habitantes do biofilme dental. Blocos de cultura padronizados foram cobertos com saliva total de 123 pacientes. As amostras foram analisadas e os mais altos escores de aderência encontrados foram relacionados às amostras salivares que continham maior quantidade de proteína total. A enzima amilase não demonstrou associação com aderência entre os microorganismos da pesquisa. Segundo os autores, os achados suportam a hipótese de que múltiplas proteínas contribuem para a aderência de cepas de *streptococcus* in vivo.

A presença de lesões de cárie parece não afetar a atividade da enzima amilase. Em 2003, Farias e Bezerra estudaram essa relação em um grupo de 40

pacientes entre 12 e 47 meses de idade com amostras salivares obtidas mediante um sugador plástico adaptado a uma pipeta. A enzima amilase, assim como a concentração de proteínas totais não teve diferença significativa entre o grupo controle e a amostra com doença cárie. Houve apenas diferença quanto aos níveis de imunoglobulinas.

Hannig et al. (2004) publicaram um estudo relativo à quantidade de amilase na película adquirida do esmalte. Foram utilizados elementos dentais bovinos, previamente preparados para a formação da película adquirida. A amilase salivar é considerada a precursora na formação de película adquirida sendo fundamental no processo de formação de biofilme dental. Notaram que *in situ* a formação de película adquirida contendo a enzima amilase, após 30 minutos, é maior na superfície vestibular quando comparada à palatal.

PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

Analisando a carência de informações científicas sobre o aspecto salivar de crianças de tenra idade, a presente pesquisa propõe avaliar alguns parâmetros bioquímicos da saliva como: pH, fluxo, capacidade tampão, atividade da enzima amilase, concentração de proteínas totais em crianças entre 0 a 36 meses de idade de ambos os gêneros.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

O projeto de pesquisa foi submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Universidade Cruzeiro do Sul em sessão de 22.06.05 e aprovado conforme protocolo nº 022/05.

4.1 Casuística

4.1.1 Seleção da Amostra

Foram analisadas crianças na faixa etária de 0 a 36 meses de idade, de ambos os gêneros, das seguintes Instituições:

- Lar do Alvorecer Cristão - Rua Harmonia, 1166

- Instituição Assistencial e Educacional Amélia Rodrigues - Rua das Silveiras, 17.

Critérios de Inclusão:

- Crianças sem comprometimento sistêmico e que não faziam uso de medicamentos regularmente;
- Crianças com condições bucais saudáveis, livres de lesões de cárie;
- Crianças cujos pais e/ou responsáveis concordaram através do termo de consentimento.

Critérios de Exclusão:

- Crianças com condições bucais apresentando lesões de cáries, fístulas e/ou abscessos dento-alveolares observáveis clinicamente;
- Crianças com comportamento negativo tais como: choro excessivo, resistência a abertura de boca, resistência física exagerada foram excluídas da pesquisa, a despeito do consentimento dos pais.

4.1.2 Divisão dos Grupos

Foram coletadas amostras salivares de 51 crianças sendo analisadas 40. A divisão foi feita de acordo com a presença quantitativa de dentes decíduos conforme a faixa etária (CUNHA, 2001). Estabeleceu-se 3 grupos compostos da seguinte maneira:

- Grupo I \Rightarrow 10 crianças edêntulas: 5 a 8 meses
- Grupo II \Rightarrow 15 crianças com 10 dentes clinicamente irrompidos:
10 a 17 meses

- Grupo III ⇒ 15 crianças com dentadura decídua completa: 30 a 35 meses.

4.2. Metodologia de Coleta Salivar

Os responsáveis foram previamente instruídos para no dia da coleta salivar não higienizarem a cavidade bucal das crianças e também para que as mesmas não se alimentassem ou ingerissem líquido por uma hora antes da realização da coleta. A coleta salivar foi efetuada com a criança sentada no colo da mãe ou responsável e/ou dispositivo apropriado. O profissional estava devidamente paramentado conforme as normas de biossegurança da OMS (gorro descartável, óculos de proteção, máscara descartável, luvas descartáveis e avental). Previamente à coleta salivar, foi realizado o exame intrabucal para detecção da possível presença da doença cárie. O método utilizado foi visual e táctil com auxílio de explorador de ponta romba (FLORIO et al., 2004).

A coleta salivar foi efetuada através de um dispositivo* adaptado utilizando-se bomba a vácuo da marca Nevoní[®], dois escalpes número 19 da BD Asepto[®] sendo um deles ligado a bomba e o outro inserido na cavidade bucal, ambos perfurando a tampa do tubo criogênico de 5ml da marca Alfa[®]. Com uma agulha de insulina (BD Plastipak[®]) foi retirada 1ml do tubo criogênico para outro tubo para análise da capacidade tampão. Todas as coletas foram realizadas no período matutino entre as 9:00 e 11:30h. O material foi transportado em caixa isolante térmica de isopor contendo gelo seco. Em laboratório, as amostras foram guardadas em freezer a 80°C negativos. (DEZAN et al., 2002).

*Kader, F. Personal communication, 2005.

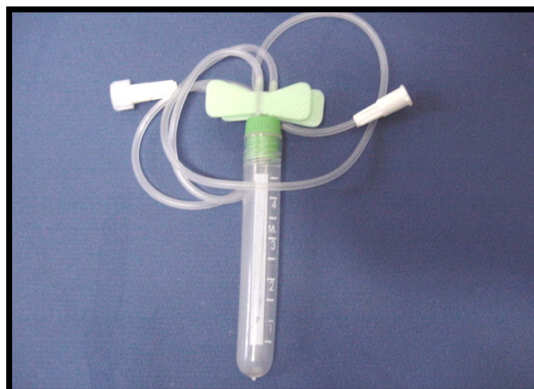


Figura 4.1- Dispositivo utilizado para coleta salivar



Figura 4.2- Equipamento para a realização de coleta salivar (dispositivo e bomba à vácuo)

4.3 Análises Laboratoriais

4.3.1 Fluxo Salivar Total e Leitura Inicial de pH

Para análise do volume de fluxo salivar foi efetuada a coleta por dois minutos obtendo-se a milimetragem por minuto de acordo com a graduação do tubo criogênico. Para a leitura de pH foi utilizado o aparelho pHmeter 240 Corning® (SÁNCHEZ; PRELIASCO, 2003).

4.3.2 Capacidade Tampão

A capacidade tampão foi determinada segundo o método descrito por Dreizen et al. (1946). Nesse método 1 ml de amostra foi titulada adicionando-se 0,2 ml de HCL 0,01N até a obtenção de um pH com valor inferior a 4 (DEZAN et al., 2002).

4.3.3 Concentração de Proteínas Totais

A concentração de proteínas totais da saliva foi determinada pelo método de Lowry et al. (1951) usando albumina sérica bovina (Sigma®) como padrão em uma curva de 0,1mg à 1,0 mg/ml. Os reagentes foram pesados em balança de precisão (Sartorius BP210S®) e preparados da seguinte maneira:

- Solução A: 2g de hidróxido de sódio dissolvidos em 500ml de água destilada acrescidos de 10g de carbonato de sódio;

- Solução B: 1,25g de sulfato de cobre e 2,5 g de citrato de sódio dissolvidos em 250ml de água destilada;
- Solução C: 500µl da solução B diluídos em 25 ml da solução A;
- Solução D: 5ml de reagente Folin em 5ml de água destilada.

Em um tubo de ensaio foram pipetados 0,5ml de saliva e 2,5ml de solução C (pipetas automáticas Labmate[®]) e após agitação foram deixados em repouso por 10 minutos. Posteriormente adicionou-se 250µl da solução D (Agitador de Tubos AP56 Phoenix[®]). Após 30 minutos foi efetuada a leitura à 660nm em espectrofotômetro (Spectrophotometer DR/4000U Hack[®]). A realização da leitura do Branco foi feita com a substituição da saliva por água destilada.

4.3.4 Atividade da Amilase Salivar

Para análise da atividade da amilase foram retirados 0,5ml da amostra salivar e acrescidos 0,5 ml de água destilada. Pipetou-se (pipetas automáticas Labmate[®]) 50µl dessa amostra salivar diluída e adicionou-se 5ml de água destilada a fim de se obter uma nova diluição. Dessa solução final foram retirados 20µl e adicionado 1ml de reagente à 37°C por 30 segundos. Após esse tempo, efetuou-se a leitura da absorbância inicial a 405nm (Spectrophotometer DR/4000U Hack[®]). Posteriormente realizou-se outro aquecimento por 60 segundos, realizando-se a segunda leitura considerada absorbância final. Com os resultados das absorbâncias inicial e final foi calculada a atividade da amilase salivar a partir da seguinte fórmula:

Ativ. Amilase Salivar U/l = [(Absorbância final–Absorbância inicial)x3953]x200

A realização da leitura do Branco foi feita com a substituição da saliva por água destilada (KAPLAN, 1996).

4.4 Tratamento Estatístico

O tratamento estatístico aplicado foi Minitab versão 14.2. Os dados foram analisados e resumidos através das frequências absoluta e relativa no caso de variáveis categóricas (como o gênero dos pacientes), e em termos de medidas resumo (média, desvio padrão, mínimo, máximo e mediana) no caso de variáveis numéricas (parâmetros bioquímicos).

Os grupos de indivíduos foram comparados pelo teste do Qui-Quadrado no caso de variáveis categóricas, e através da Análise de Variância (ANOVA) no caso das variáveis numéricas. O teste do Qui-Quadrado comparou os grupos em termos da frequência de ocorrência em cada categoria, e verificou se essa frequência foi homogênea nos grupos. A análise de variância (ANOVA) comparou os grupos através da média, levando em consideração a variabilidade dos dados: o resultado estatisticamente significativo indica que existe pelo menos um par de médias que não foi semelhante. Nesse caso, aplicou-se uma técnica de comparações múltiplas (nesse estudo utilizou-se as comparações múltiplas pelo método de Tukey) para verificar exatamente qual o par de médias que não foi semelhante.

Em qualquer teste estatístico, utilizou-se o nível de significância $\alpha = 0,05$. Ou seja, para qualquer valor de $p < \alpha$ (ou $p < 0,05$), o teste foi estatisticamente significativo.

Os gráficos de barras foram utilizados para a visualização de dados categóricos, e o gráfico de Boxplot¹ para a visualização das medidas resumo no caso de variáveis numéricas.

A comparação entre os parâmetros bioquímicos foi feita através da análise de correlação de Pearson² que mede a relação linear entre essas variáveis.

¹ Boxplot: é uma técnica que mostra graficamente algumas medidas resumo de um conjunto de dados, tais como: média, mediana, valor mínimo, valor máximo, bem como eventuais valores extremos chamados de *outliers*, e representados por um asterisco (*).

A média é indicada por um ponto preto, a mediana é representada por uma linha horizontal que fica dentro da caixa retangular, os valores dentro da caixa representam 50% dos dados, os valores mínimo e máximo são aqueles que correspondem ao extremo inferior e superior respectivamente das linhas verticais que saem das caixas.

² Correlação de Pearson, indicado pela estatística r , mede a relação linear entre duas variáveis numéricas. O valor de r é um número que pode variar entre -1 e 1, sendo que quanto mais próximo de -1 ou 1, mais forte é a correlação linear. Valores de r próximos de zero indicam que não existe uma relação linear entre as variáveis. O valor de p mostra o resultado do teste $r = 0$. Valor significativo do teste ($p < 0,05$) indica que r é estatisticamente significativa (diferente de zero), ou seja, existe uma correlação linear entre as variáveis.



RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados obtidos na presente investigação estão expressos em Tabelas e Figuras (gráficos de Boxplot).

5.1 Descrição da Amostra

Participaram desse estudo um total de 40 crianças, de ambos os gêneros, com idade entre 0 e 36 meses. As crianças foram divididas em 3 grupos, de acordo com a presença de dentes decíduos:

Nota-se na tabela 5.1 que no grupo I houve uma predominância de indivíduos do gênero feminino, enquanto que nos grupos II e III a proporção de indivíduos do gênero feminino e masculino foi mais equilibrada. O teste do Qui-Quadrado indica que esse desbalanceamento não foi significativo ($p=0,390$).

Tabela 5.1 - Distribuição numérica dos indivíduos quanto ao gênero

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
masculino	2 (20,0%)	7 (46,7%)	6 (40,0%)
feminino	8 (80,0%)	8 (53,3%)	9 (60,0%)
total	10 (100%)	15 (100%)	15 (100%)

Comparação entre os grupos: $\chi^2=1,884$ ($p=0,390$)

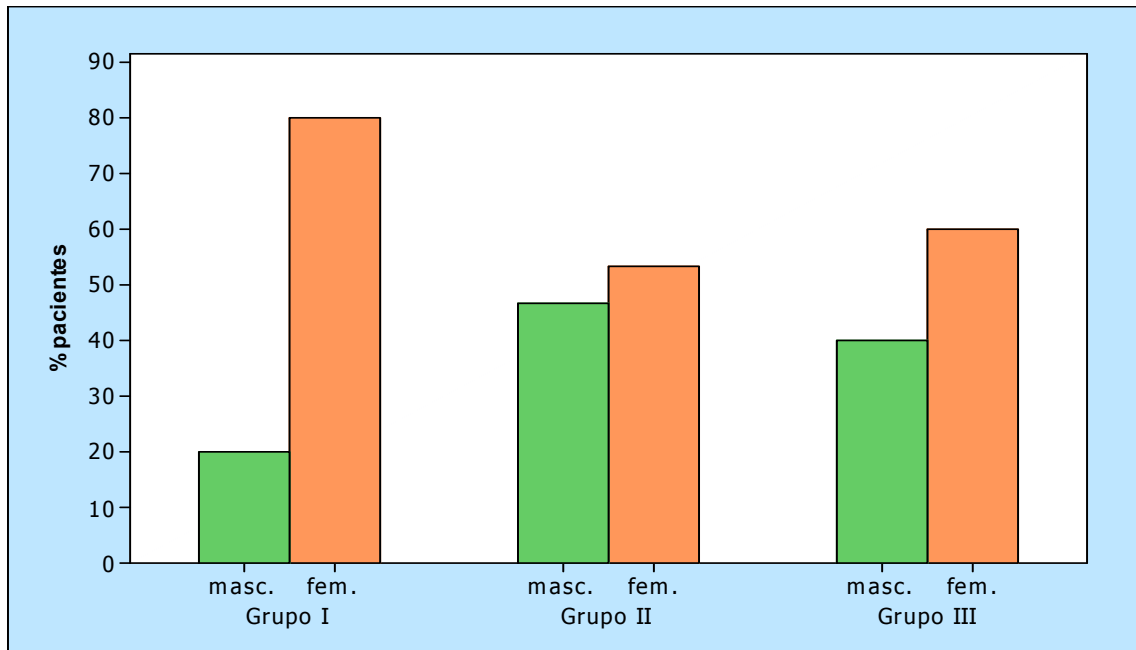


Figura 5.1 - Distribuição numérica dos indivíduos quanto ao gênero

A idade dos indivíduos variou entre 5 e 35 meses, sendo que a idade média dos pacientes que entraram para o grupo I foi de 7 meses; no grupo II foi 12,8 meses, e no grupo III foi 32,9 meses. A ANOVA indica que houve diferença significativa entre os grupos quanto à idade média dos pacientes ($p < 0,001$), e as comparações múltiplas indicam que essa diferença aconteceu entre todos os grupos, dois a dois.

Tabela 5.2 - Medidas resumo para a idade (meses)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	10	15	15
média	7,0	12,8	32,9
desvio padrão	1,2	2,5	1,9
mínimo	5	10	30
máximo	8	17	35
mediana	7,5	12,5	33

ANOVA: $F=595,9$ ($p < 0,001$)

Comparações múltiplas pelo método de Tukey:

$Idade_{(grupo\ I)} \neq Idade_{(grupo\ II)}$

$Idade_{(grupo\ I)} \neq Idade_{(grupo\ III)}$

$Idade_{(grupo\ II)} \neq Idade_{(grupo\ III)}$

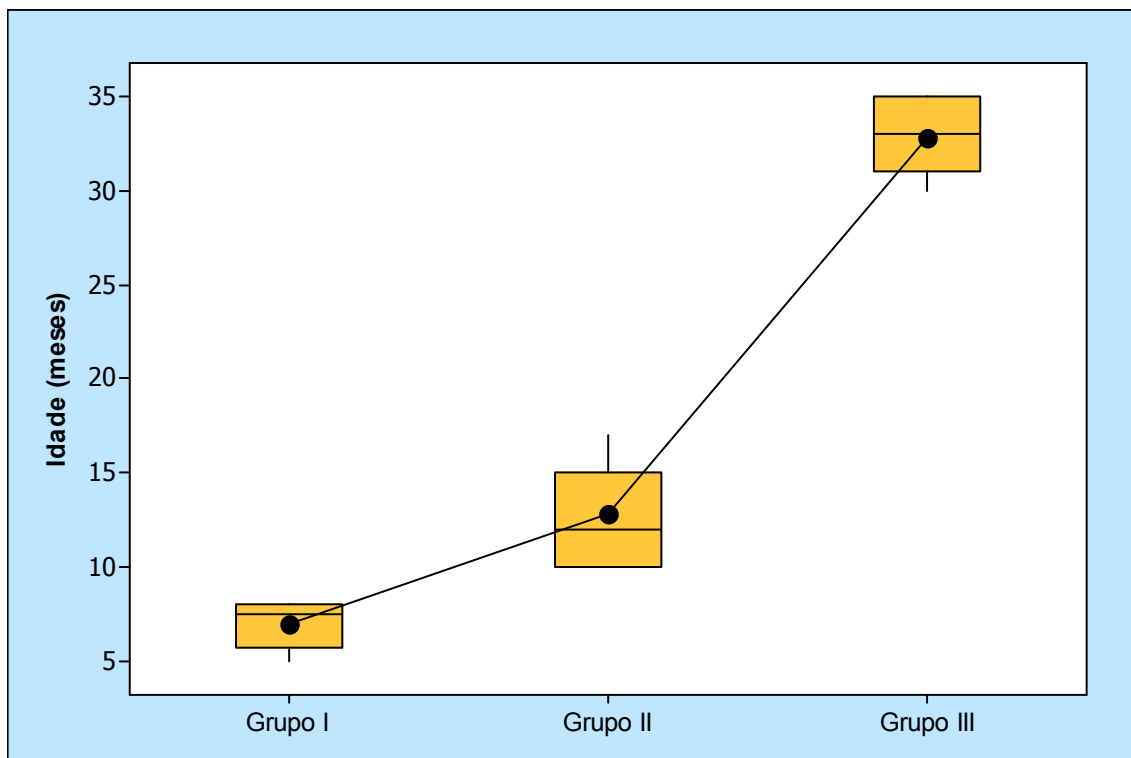


Figura 5.2 – Distribuição das faixas etárias da amostra conforme o grupo

5.2 Fluxo Salivar Total

A análise do fluxo salivar total das crianças estudadas não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, ou seja, a média do fluxo salivar foi semelhante nos 3 grupos ($p=0,518$).

Tabela 5.3 - Medidas resumo para o fluxo salivar (ml/min)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	10	15	15
média	0,47	0,58	0,55
desvio padrão	0,12	0,30	0,21
mínimo	0,25	0,20	0,25
máximo	0,60	1,25	1,15
mediana	0,47	0,50	0,55

ANOVA: $F=0,67$ ($p=0,518$)

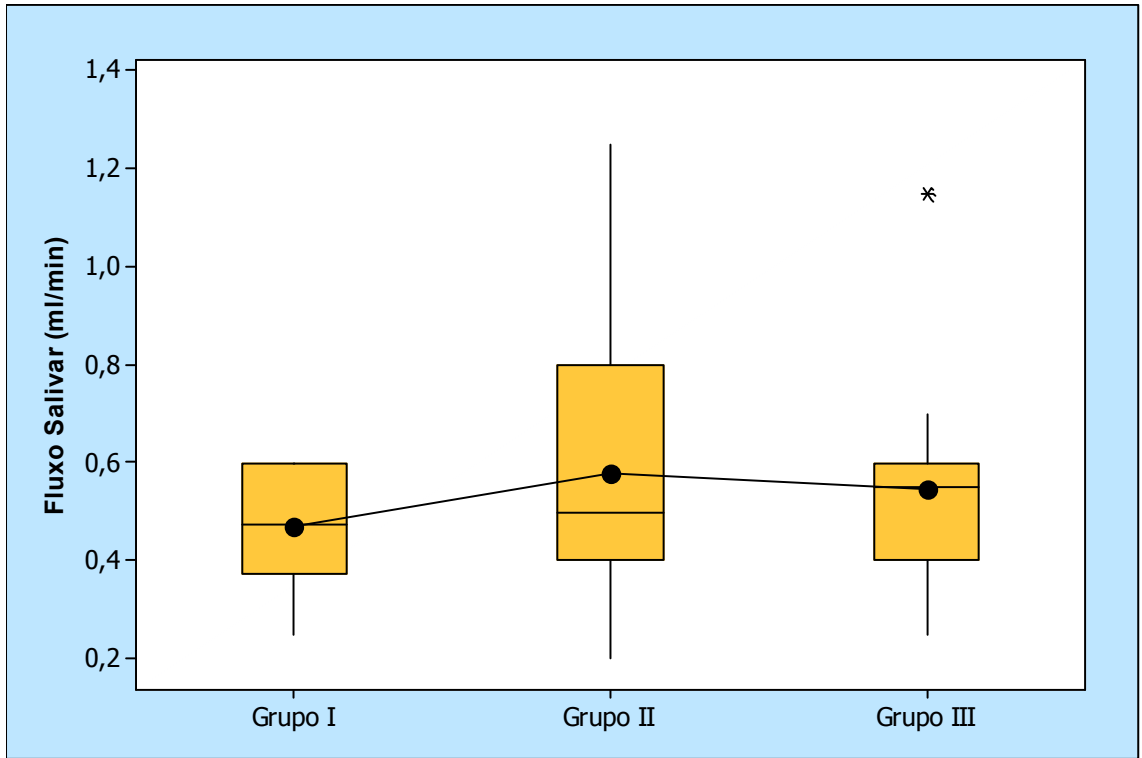


Figura 5.3 – Distribuição do fluxo salivar conforme os grupos

5.3 Leitura Inicial de pH

A média do valor inicial do pH foi semelhante entre os três grupos estudados, sendo que não houve diferença estatisticamente significativa, conforme mostra o resultado da ANOVA ($p=0,140$).

Tabela 5.4 – Medidas resumo para a leitura inicial do pH

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	10	15	15
média	7,18	7,60	7,42
desvio padrão	0,22	0,48	0,64
mínimo	6,83	6,56	5,92
máximo	7,55	8,30	8,37
mediana	7,19	7,55	7,46

ANOVA: $F=2,08$ ($p=0,140$)

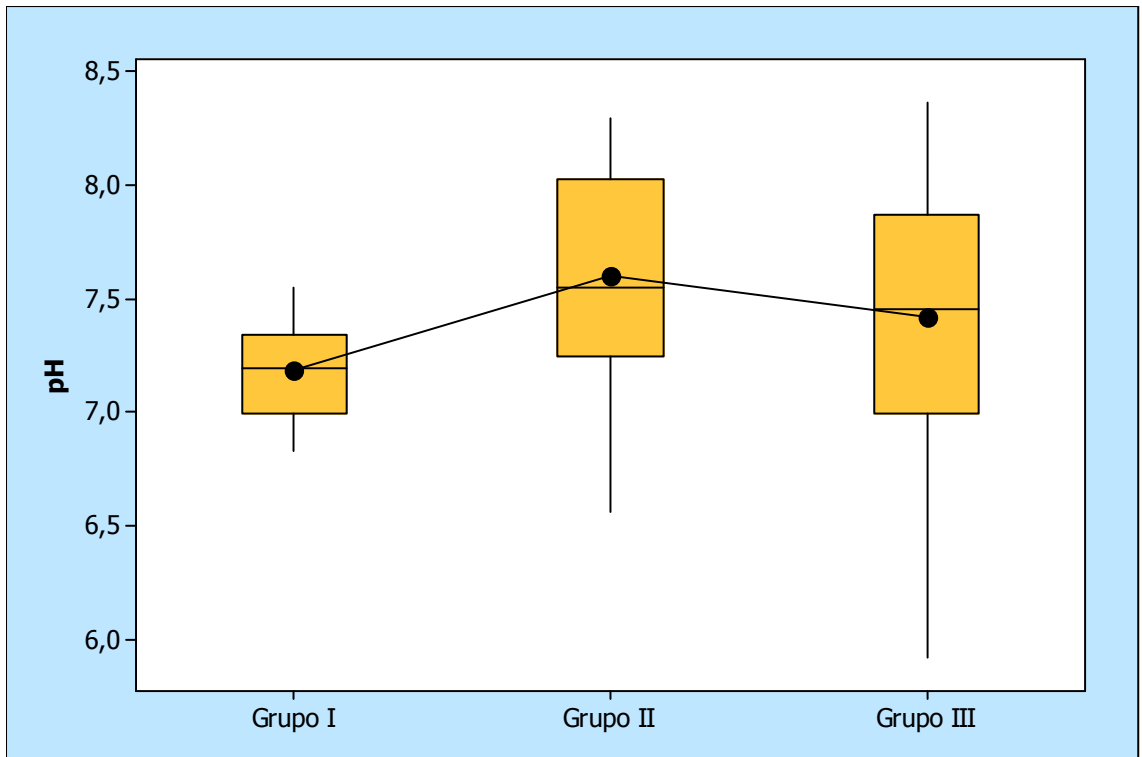


Figura 5.4 – Distribuição do pH conforme os grupos

5.4 Capacidade Tampão

Não foi possível realizar a coleta de material para a avaliação da capacidade tampão em todos os pacientes que entraram no estudo. Portanto somente 5 pacientes do grupo I, 11 do grupo II e 14 do grupo III foram avaliados.

A ANOVA indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,092$), portanto a média da capacidade tampão pode ser considerada semelhante nos três grupos de crianças.

Tabela 5.5 - Medidas resumo para a capacidade tampão (meq/ml pH)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	5	11	14
média	0,007	0,010	0,010
desvio padrão	0,001	0,004	0,003
mínimo	0,006	0,006	0,006
máximo	0,008	0,018	0,016
mediana	0,006	0,011	0,011

ANOVA: $F=2,61$ ($p=0,092$)

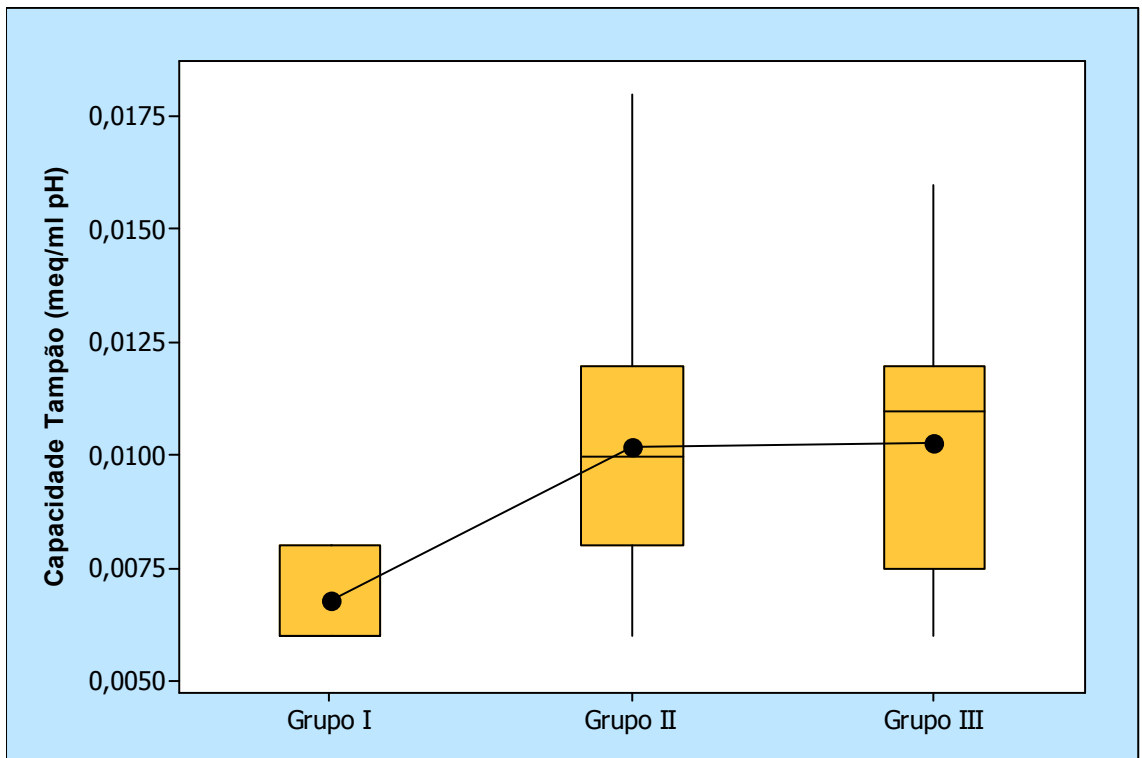


Figura 5.5 – Distribuição da capacidade tampão conforme os grupos

5.5 Concentração de Proteínas Totais

A concentração média de proteínas parece decrescer conforme o grupo estudado, porém essa diferença observada não foi significativa, conforme mostra a ANOVA ($p=0,139$). A média foi de 1,373 mg/ml no grupo I, 1,311 mg/ml no grupo II e 1,172 mg/ml no grupo III.

Tabela 5.6 - Medidas resumo para a concentração de proteínas totais (mg/ml)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	10	15	15
média	1,373	1,311	1,172
desvio padrão	0,257	0,215	0,292
mínimo	0,920	0,879	0,812
máximo	1,628	1,628	1,628
mediana	1,451	1,313	1,064

ANOVA: $F=2,08$ ($p=0,139$)

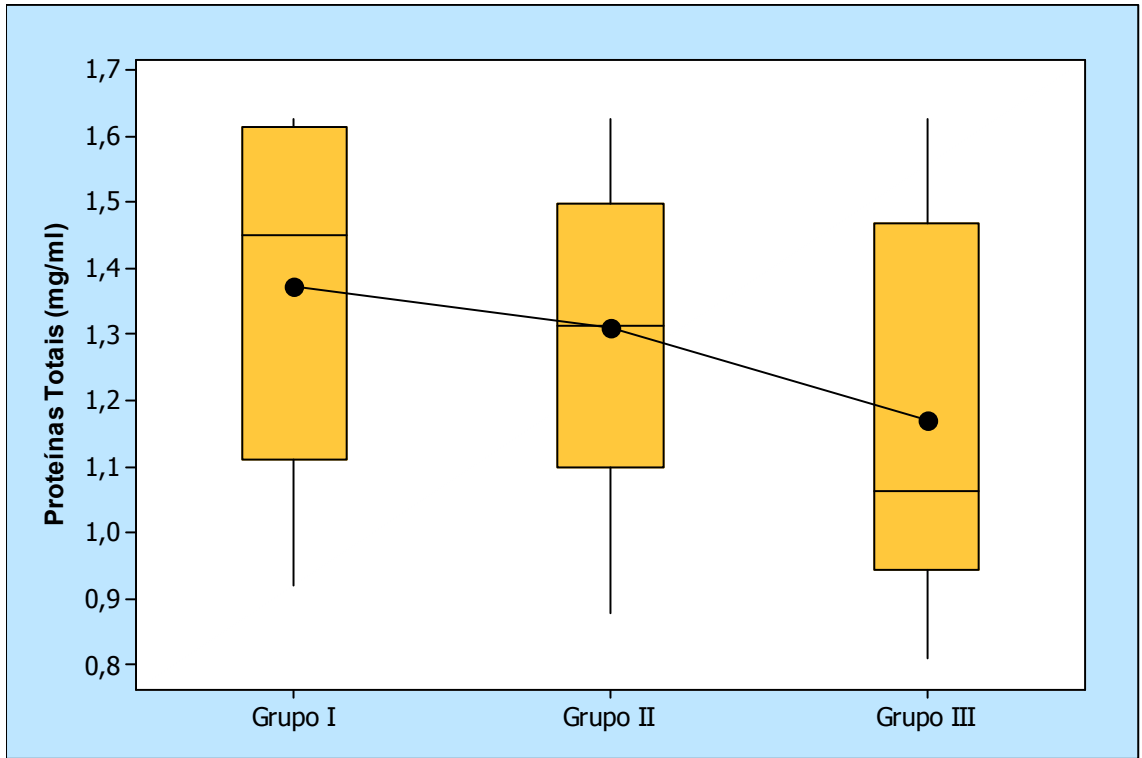


Figura 5.6 – Distribuição da concentração de proteínas totais conforme os grupos

5.6 Atividade da Amilase Salivar

A análise estatística da atividade da amilase salivar mostrou que existe diferença significativa entre os grupos ($p=0,028$). A média da amilase parece aumentar conforme o grupo de tratamento, sendo 54,4 UI/ml no grupo I, 72,5 UI/ml no grupo II e 90,8 UI/ml no grupo III. De fato, as comparações múltiplas indicaram diferença significativa entre os grupos I e III que apresentaram a menor e a maior média respectivamente.

Tabela 5.7 - Medidas resumo para a amilase salivar (UI/ml)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III
N	10	15	15
média	54,4	72,5	90,8
desvio padrão	28,5	35,4	30,6
mínimo	10,3	20,6	52,2
máximo	113,1	128,9	145,5
mediana	60,1	56,9	84,6

ANOVA: $F=3,94$ ($p=0,028$)

Comparações múltiplas pelo método de Tukey:

$Amilase_{(grupo\ I)} \approx Amilase_{(grupo\ II)}$

$Amilase_{(grupo\ I)} \neq Amilase_{(grupo\ III)}$

$Amilase_{(grupo\ II)} \approx Amilase_{(grupo\ III)}$

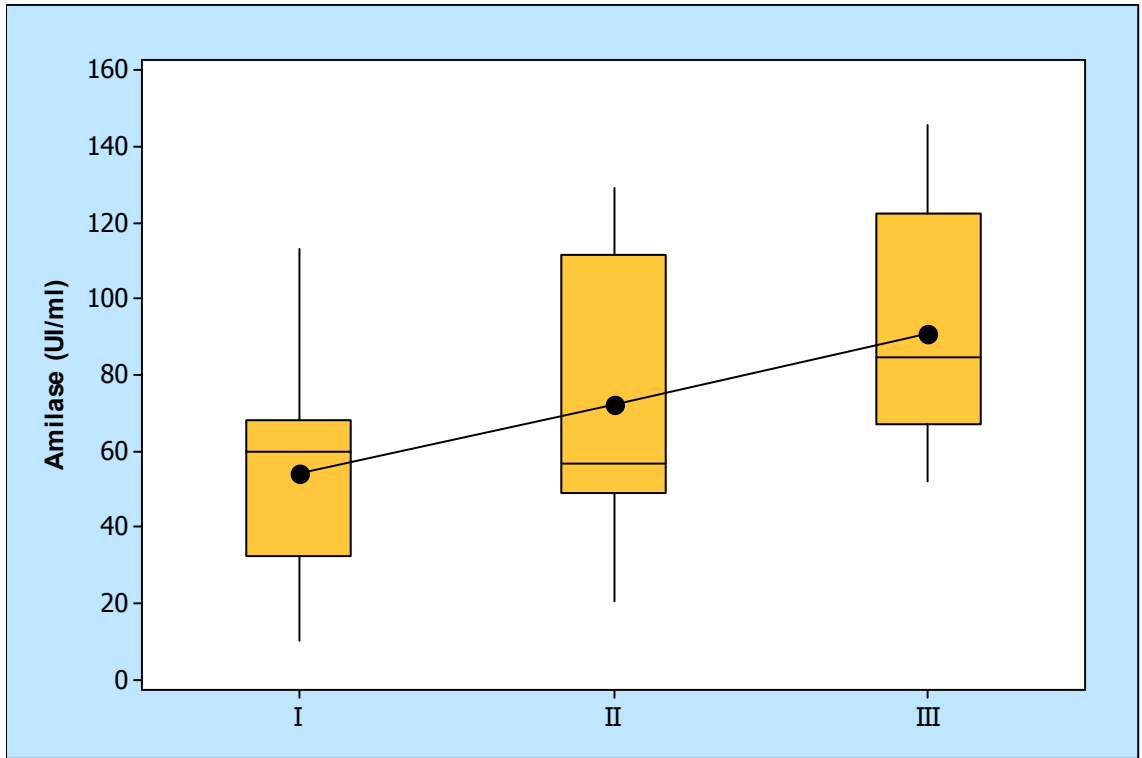


Figura 5.7 – Distribuição da atividade da amilase salivar conforme os grupos

5.7 Correlação entre os Parâmetros Bioquímicos

A comparação entre os parâmetros bioquímicos foi feita através da análise de correlação de Pearson que mede a relação linear entre essas variáveis.

Nota-se pela matriz que houve correlação significativa entre os parâmetros fluxo salivar e pH, fluxo salivar e capacidade tampão, pH e capacidade tampão e pH e concentração de proteínas.

A correlação significativa entre fluxo salivar e pH ($r=0,475$), fluxo salivar e capacidade tampão ($r=0,540$) e pH e capacidade tampão ($r=0,406$), foram positivas, ou seja, existe uma tendência de que quando uma variável aumenta, a outra também aumenta.

Já a correlação significativa entre as variáveis pH e concentração proteínas ($r=-0,358$) foi negativa, ou seja, enquanto uma variável aumenta, a outra diminui.

A correlação entre capacidade tampão e concentração de proteínas não foi significativa, mas ficou muito próximo da significância estatística ($p=0,055$).

Na seqüência da matriz de correlação, seguem os gráficos de dispersão que ilustram essa relação entre dois parâmetros analisados.

Tabela 5.8 - Matriz de correlações¹ entre os parâmetros bioquímicos salivares

	<i>Fluxo Salivar</i>	<i>pH</i>	<i>Capacidade Tampão</i>	<i>Concentração Proteínas</i>	<i>Amilase Salivar</i>
<i>Fluxo Salivar</i>		<i>r=0,475</i> <i>p=0,002</i>	<i>r=0,540</i> <i>p=0,002</i>	<i>r=0,028</i> <i>p=0,866</i>	<i>r=0,184</i> <i>p=0,255</i>
<i>pH</i>			<i>r=0,406</i> <i>p=0,026</i>	<i>r=-0,358</i> <i>p=0,023</i>	<i>r=0,265</i> <i>p=0,099</i>
<i>Capacidade Tampão</i>				<i>r=-0,354</i> <i>p=0,055</i>	<i>r=0,442</i> <i>p=0,015</i>
<i>Concentração Proteínas</i>					<i>r=-0,185</i> <i>p=0,252</i>

¹ r = correlação de Pearson; p = nível descritivo do teste.

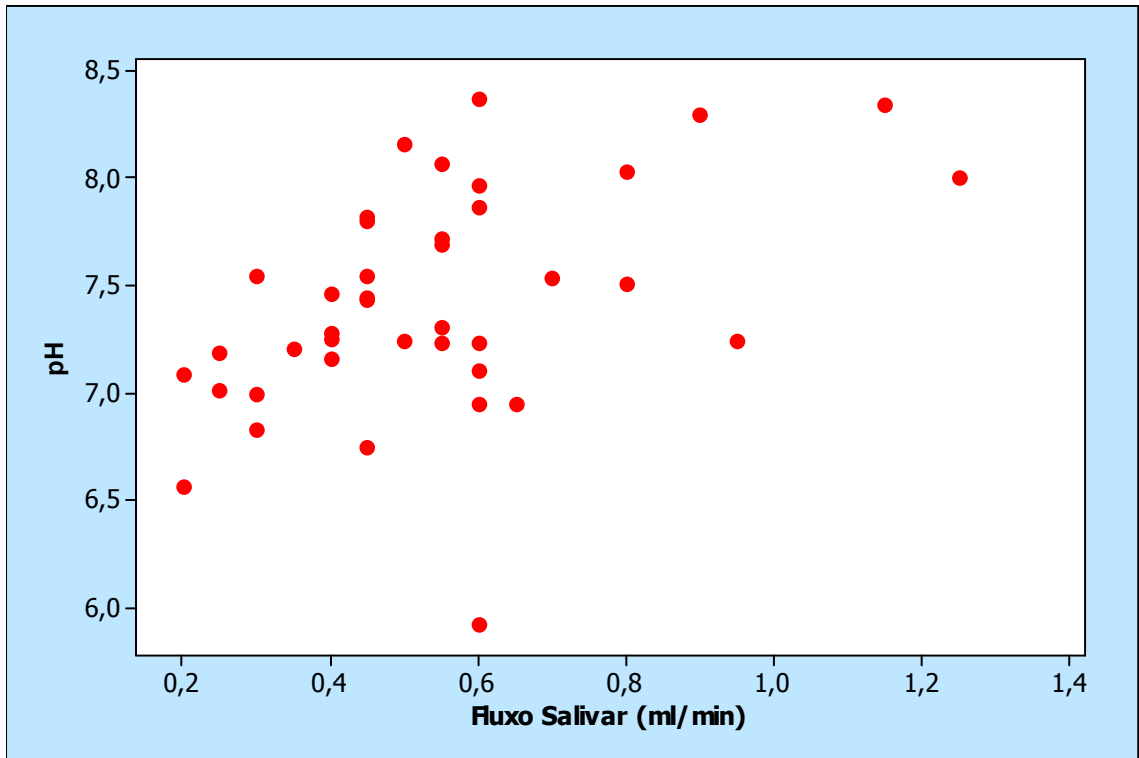


Figura 5.8 – Correlação entre fluxo salivar e pH

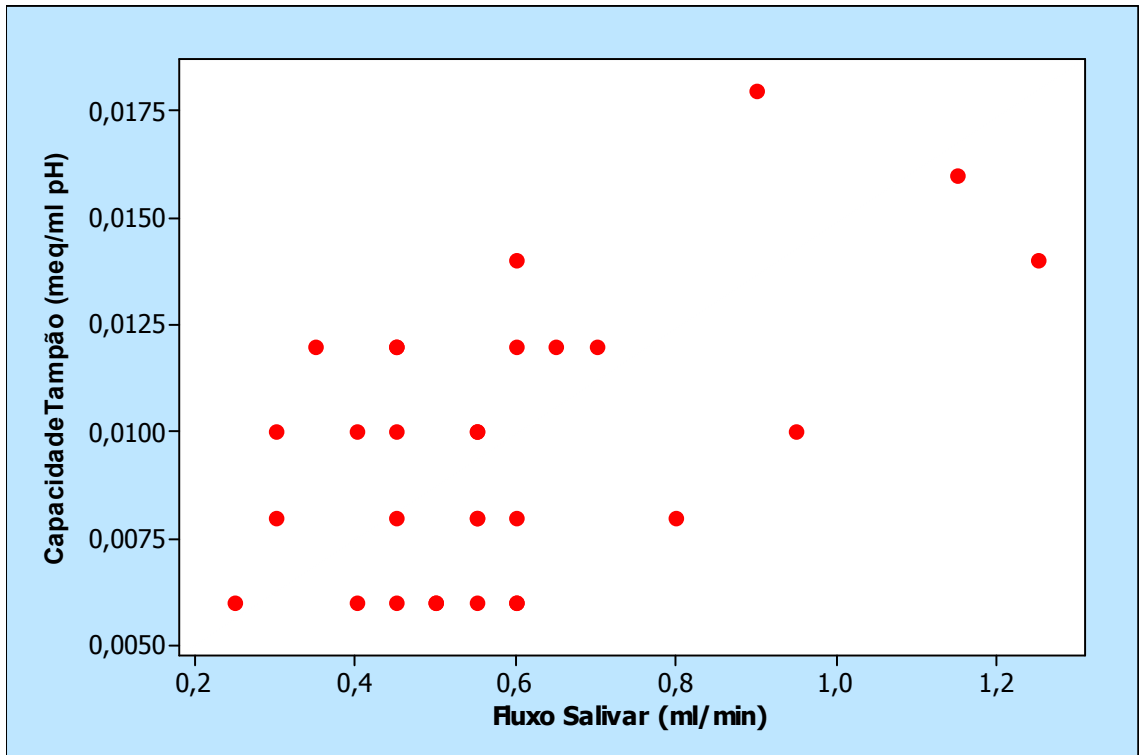


Figura 5.9 – Correlação entre fluxo salivar e capacidade tampão

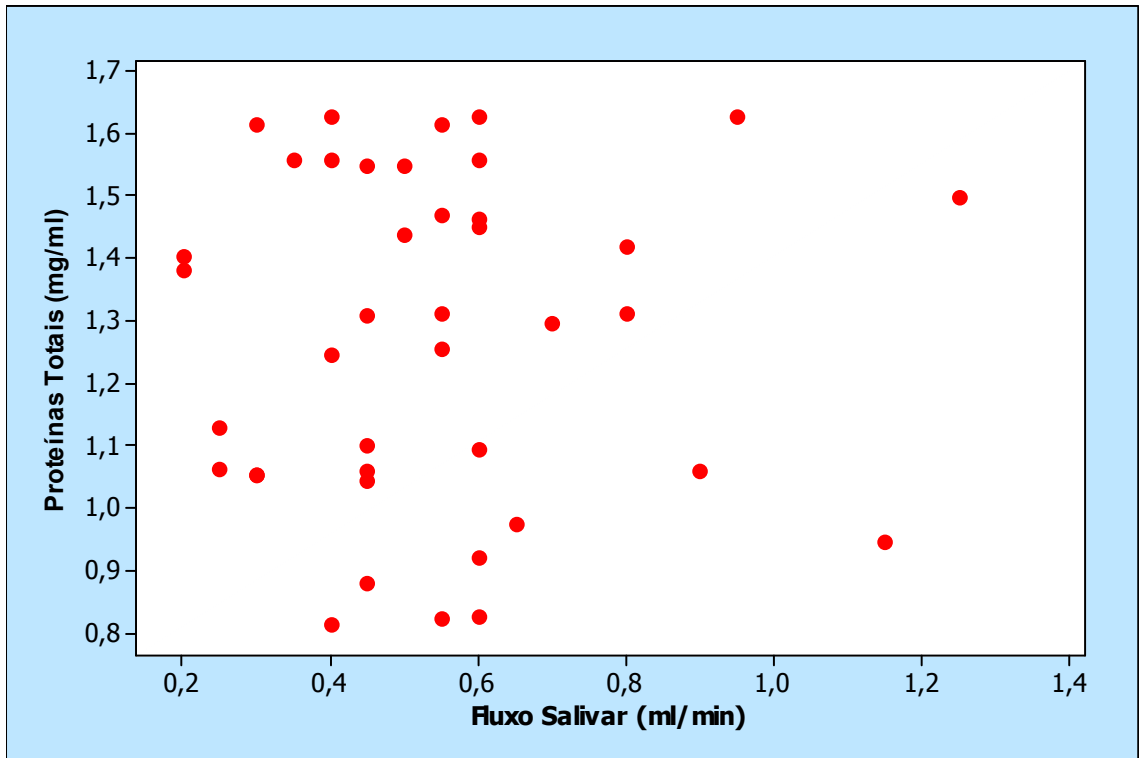


Figura 5.10 – Correlação entre fluxo salivar e concentração de proteínas totais

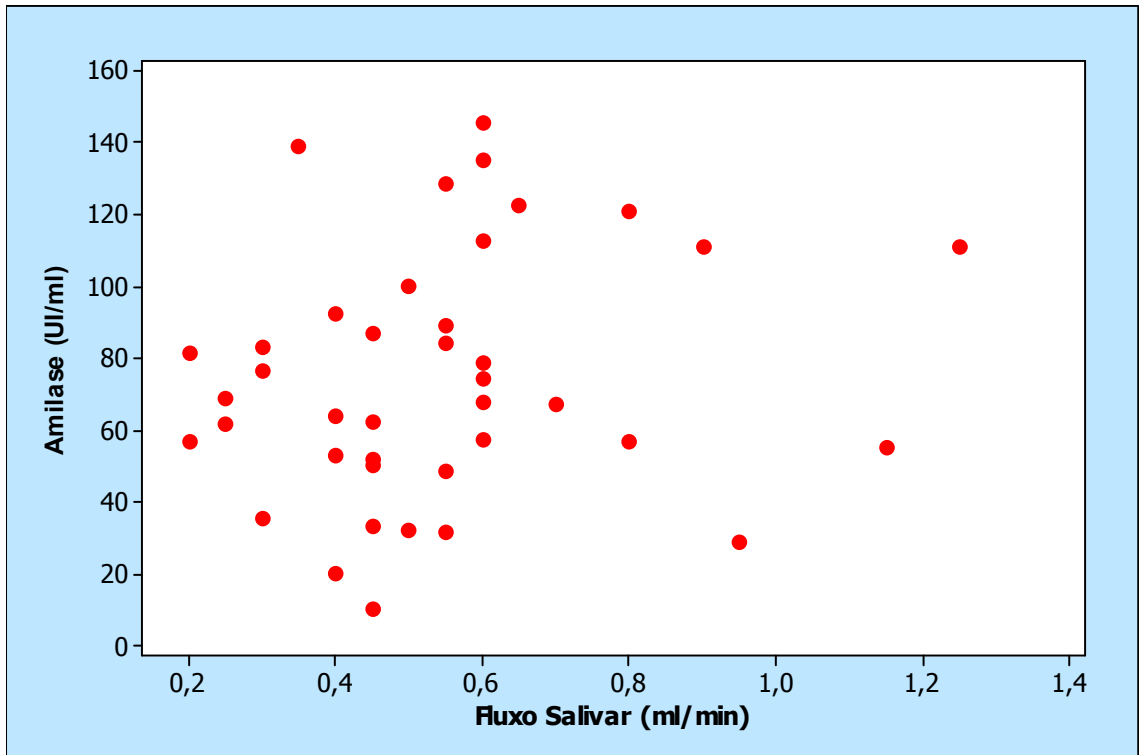


Figura 5.11 – Correlação entre fluxo salivar e atividade da amilase salivar

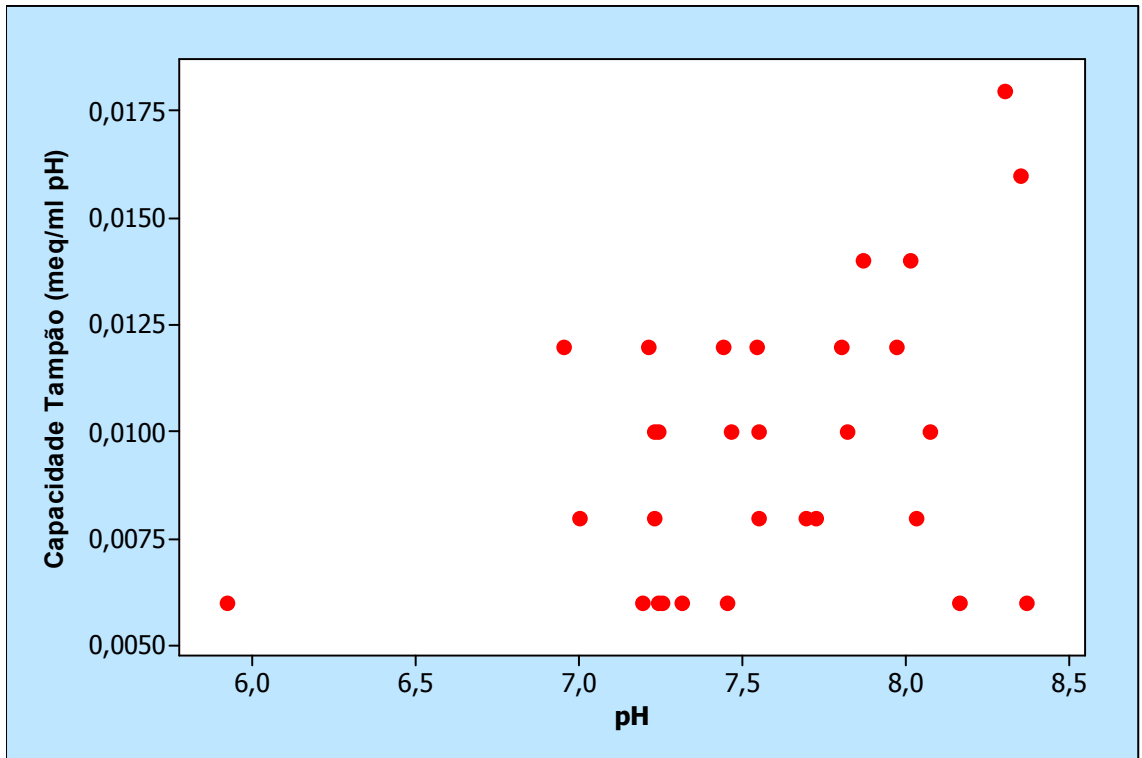


Figura 5.12 – Correlação entre pH e capacidade tampão

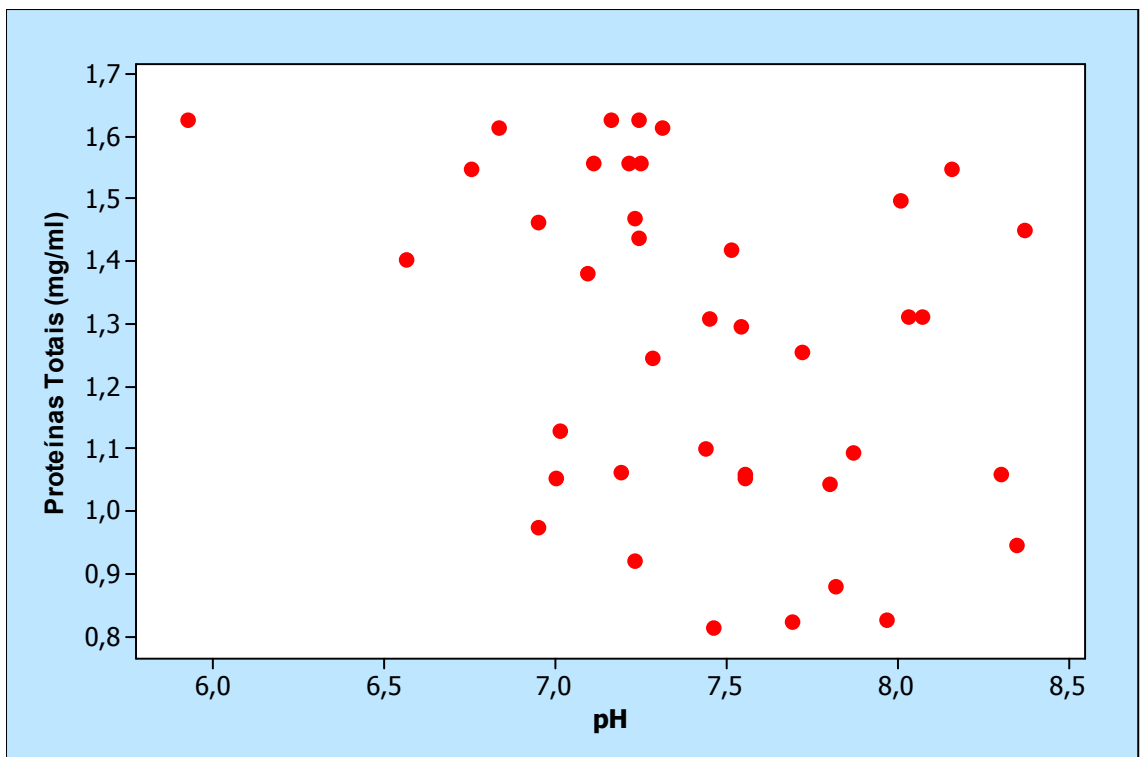


Figura 5.13 – Correlação entre pH e concentração de proteínas totais

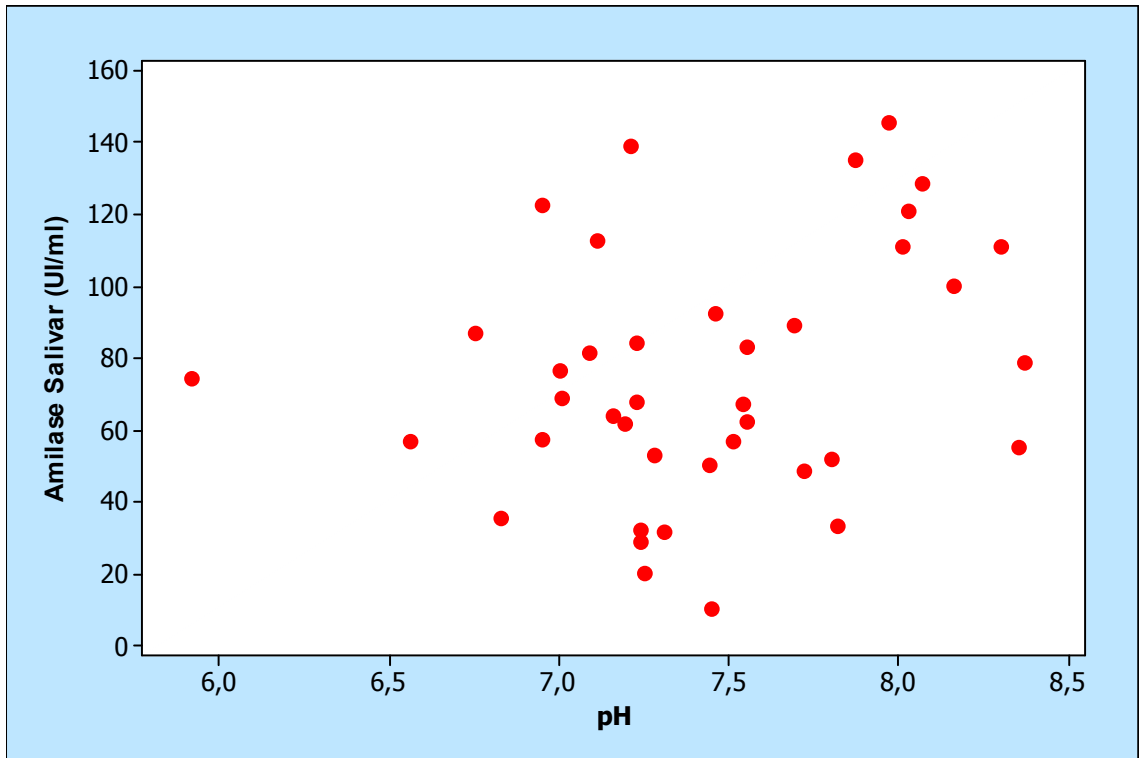


Figura 5.14 – Correlação entre pH e atividade da amilase salivar

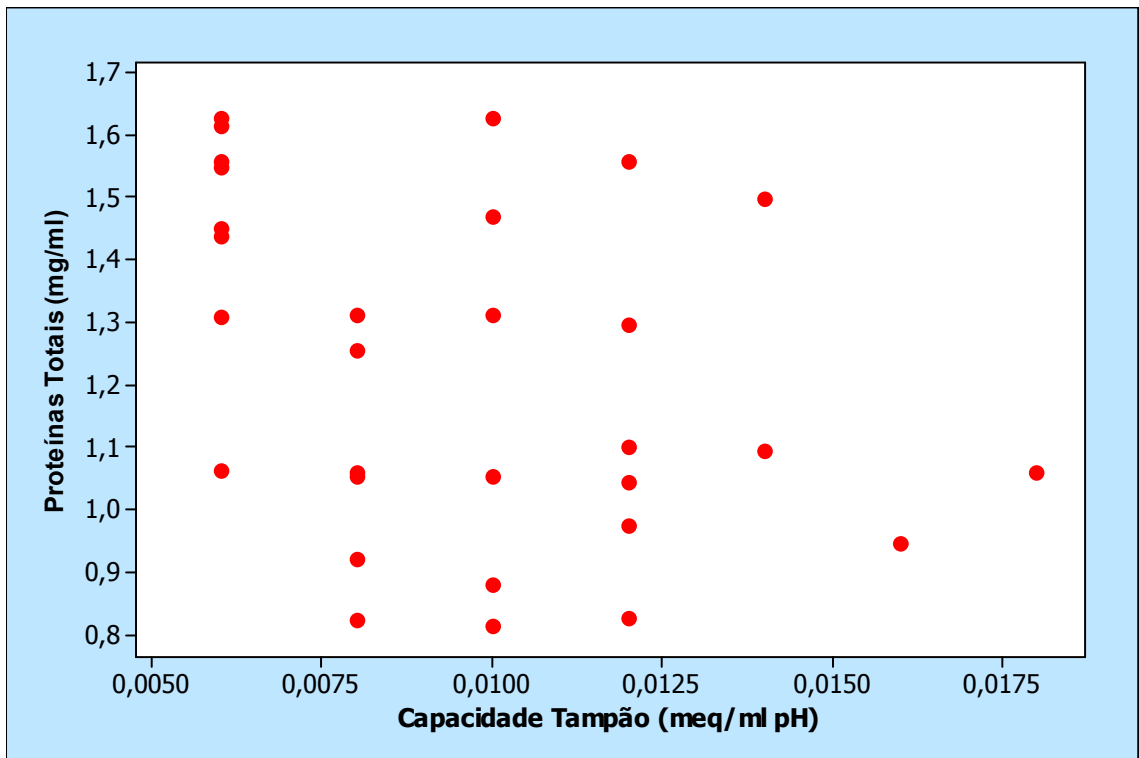


Figura 5.15 – Correlação entre capacidade tampão e concentração de proteínas totais

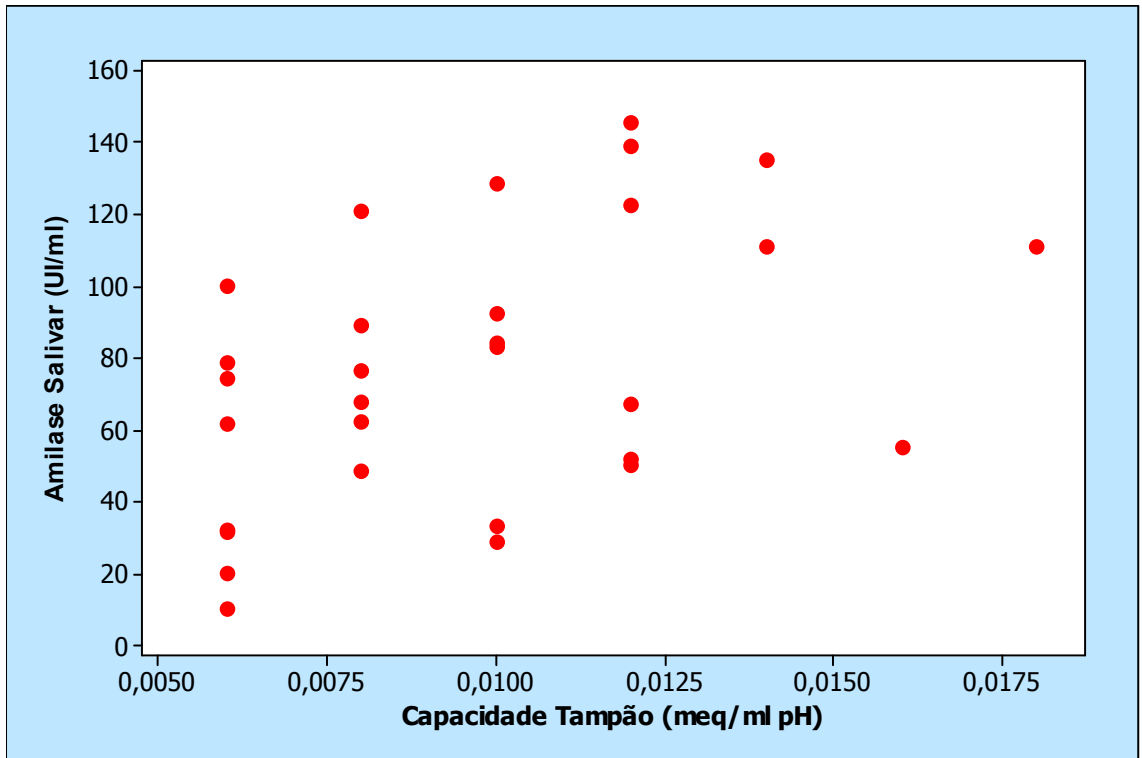


Figura 5.16 – Correlação entre capacidade tampão e atividade da amilase salivar

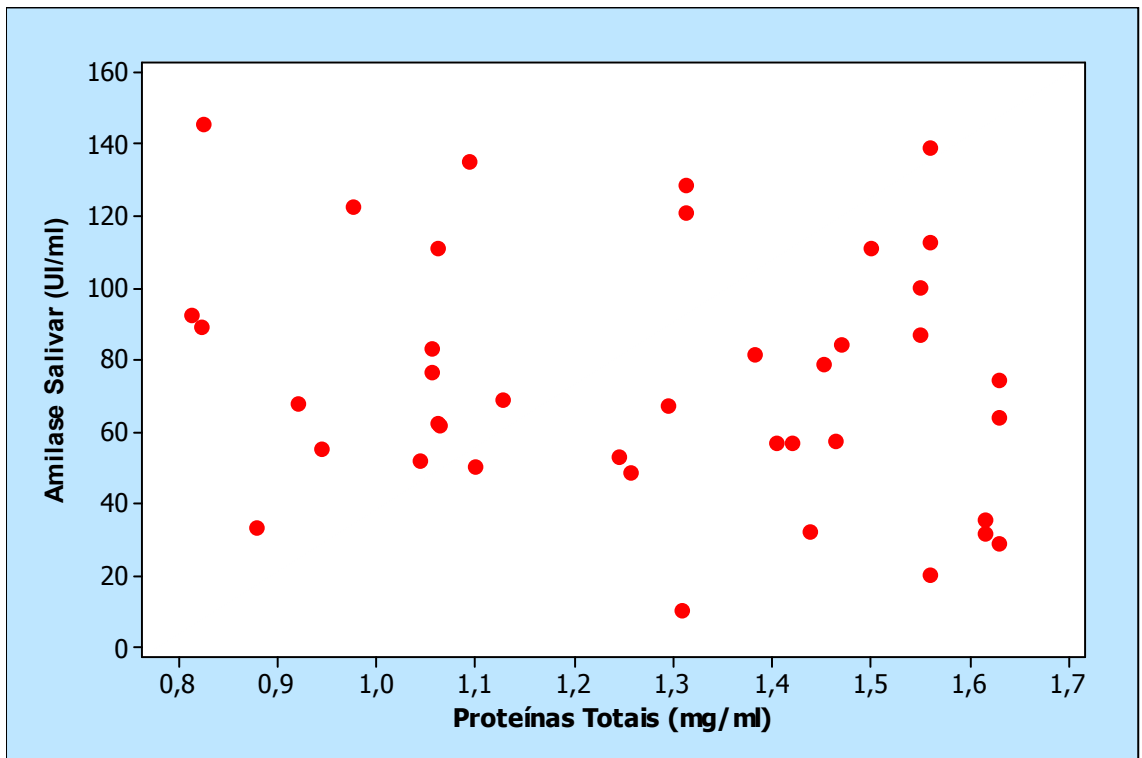


Figura 5.17 – Correlação entre concentração de proteínas totais e atividade da amilase salivar

5.8 Correlação entre os Gêneros

A ANOVA indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os gêneros e os parâmetros bioquímicos salivares estudados, ou seja, a média de fluxo salivar, pH, capacidade tampão, concentração de proteínas e atividade da amilase foi semelhante entre os gêneros masculino e feminino.

Tabela 5.9 - Medidas resumo para Fluxo Salivar (ml/min) por gênero

	masculino	feminino
N	15	25
média	0,50	0,56
desvio padrão	0,25	0,22
mínimo	0,20	0,20
máximo	1,25	1,15
mediana	0,45	0,55

ANOVA: $F=0,70$ ($p=0,407$)

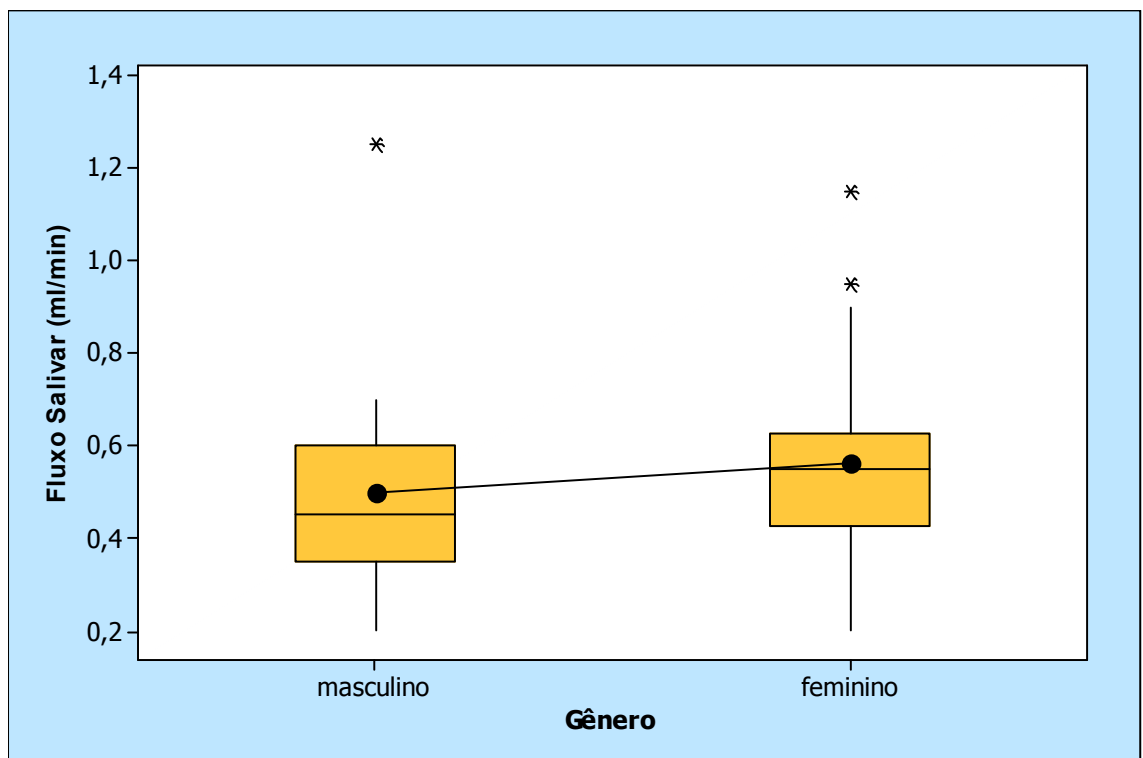


Figura 5.18 – Distribuição do fluxo salivar conforme o gênero

Tabela 5.10 - Medidas resumo para pH por gênero

	masculino	feminino
N	15	25
média	7,45	7,42
desvio padrão	0,42	0,57
mínimo	6,6	5,92
máximo	8,0	8,37
mediana	7,4	7,44

ANOVA: F=0,05 (p=0,823)

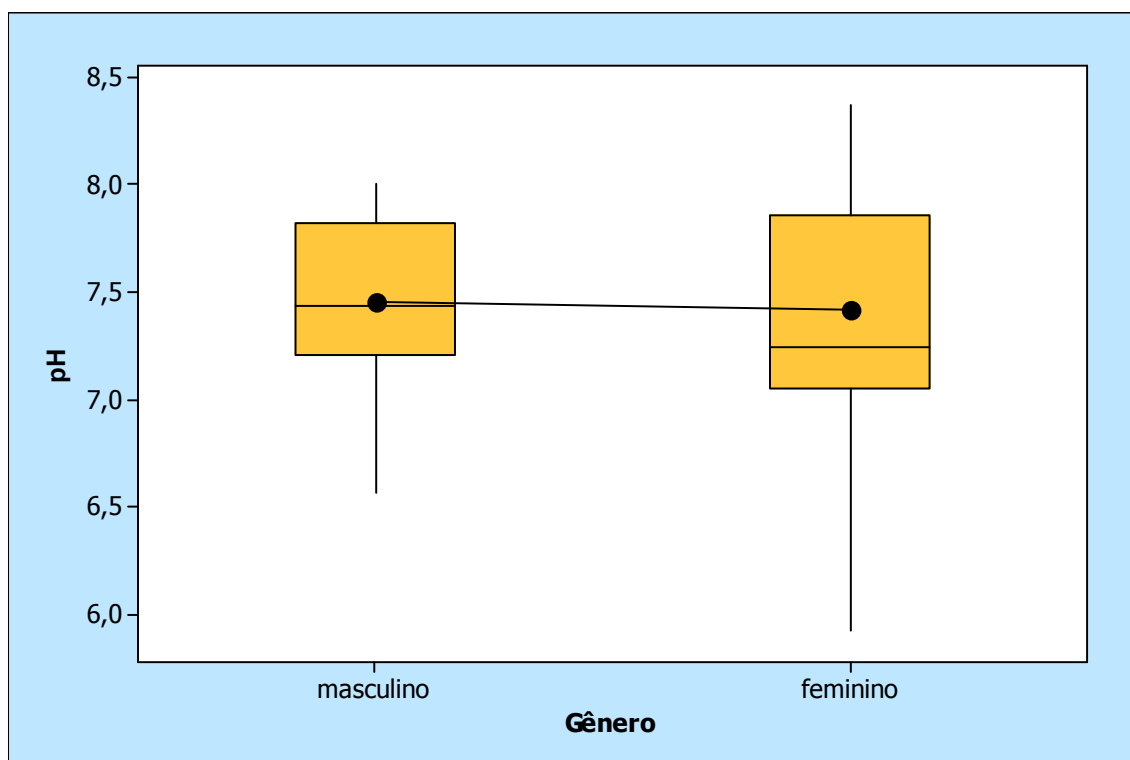


Figura 5.19 – Distribuição do pH conforme o gênero

Tabela 5.11 - Medidas resumo para capacidade tampão por gênero

	masculino	feminino
N	12	18
média	0,010	0,009
desvio padrão	0,003	0,003
mínimo	0,006	0,006
máximo	0,014	0,018
mediana	0,012	0,008

ANOVA: F=0,84 (p=0,367)

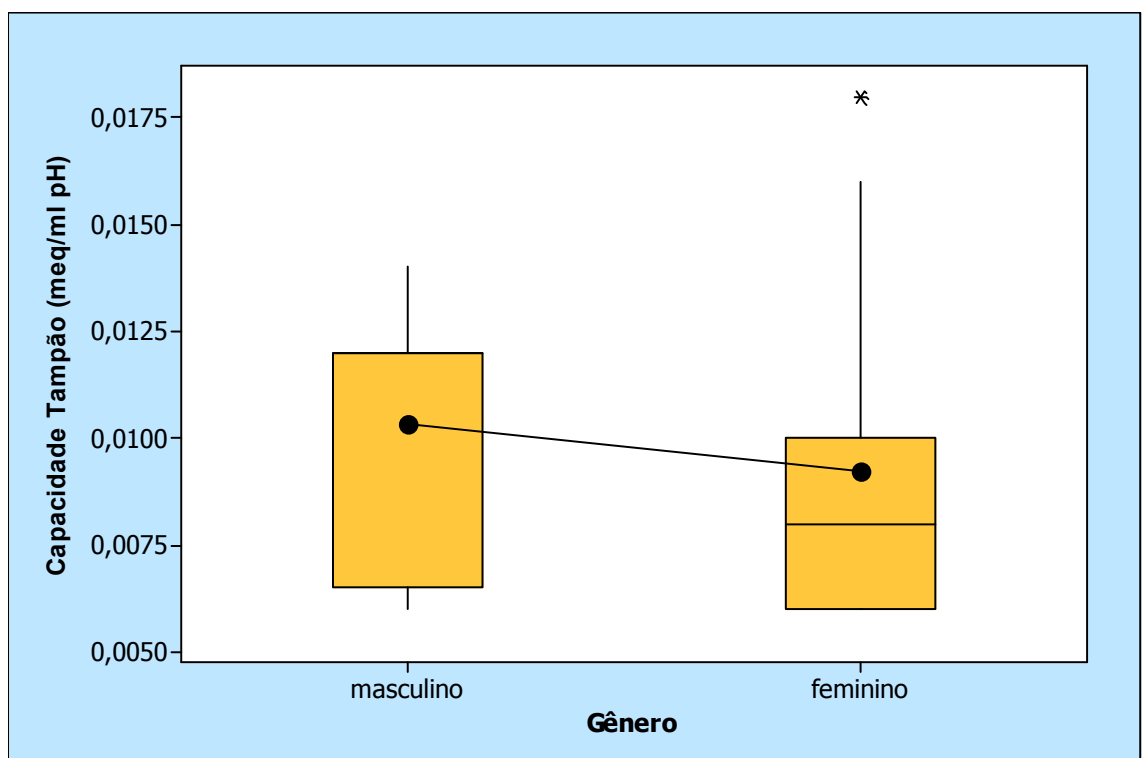


Figura 5.20 – Distribuição da capacidade tampão conforme o gênero

Tabela 5.12 - Medidas resumo para concentração de proteínas totais (mg/ml) por gênero

	masculino	feminino
N	15	25
média	1,27	1,28
desvio padrão	0,26	0,27
mínimo	0,82	0,81
máximo	1,61	1,63
mediana	1,26	1,31

ANOVA: F=0,01 ($p=0,933$)

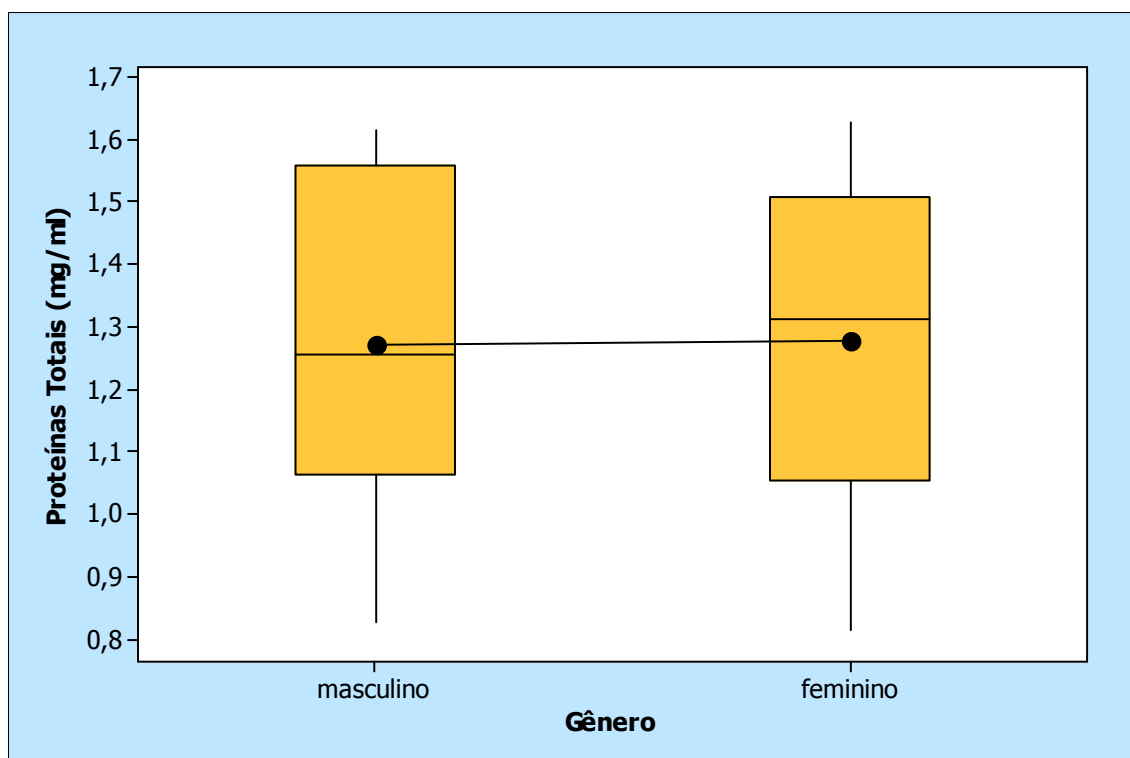


Figura 5.21 – Distribuição da concentração de proteínas totais conforme o gênero

Tabela 5.13 - Medidas resumo para amilase salivar (UI/ml) por gênero

	masculino	feminino
N	15	25
média	69,5	78,0
desvio padrão	41,9	29,5
mínimo	20,6	10,3
máximo	145,5	128,9
mediana	53,0	79,1

ANOVA: F=0,57 (p=0,456)

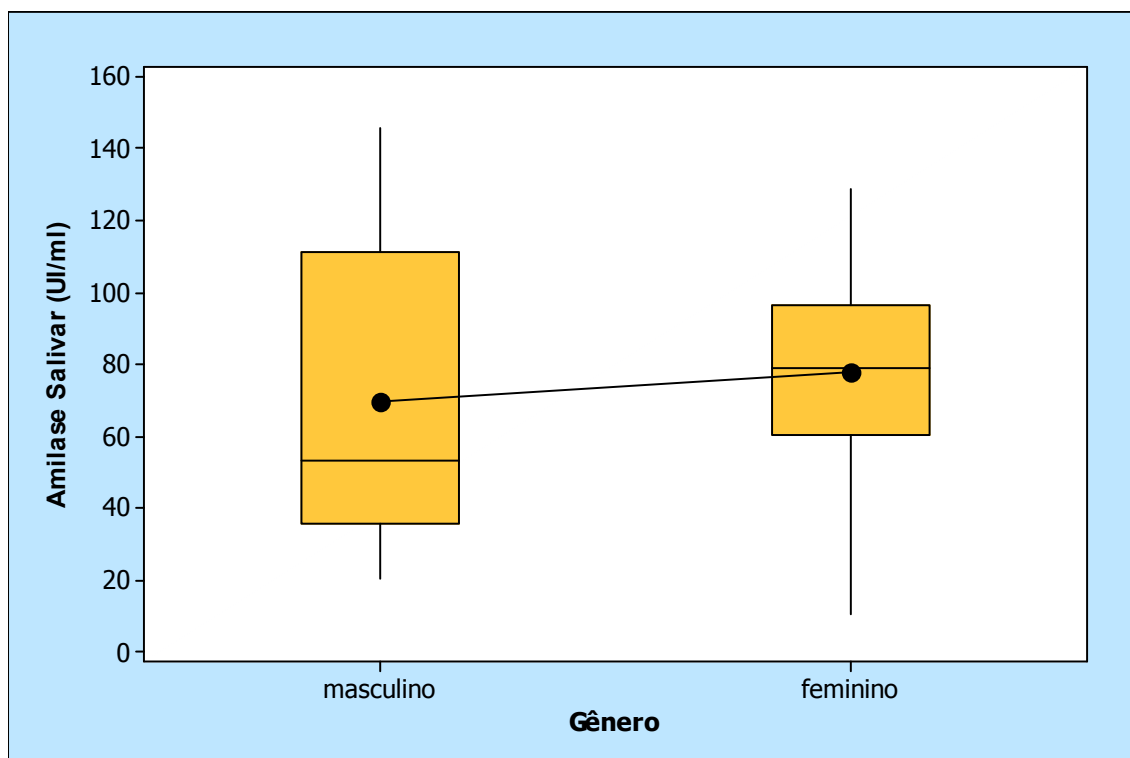


Figura 5.22 – Distribuição da atividade da amilase salivar conforme o gênero

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A partir do evento da fertilização, onde já se pode considerar o início da vida humana, constantes transformações ocorrem para se configurar uma identidade biológica unificada, que é o indivíduo. Assim, a partir do nascimento, a criança sofre diversas modificações somáticas, biológicas e psicológicas; marcadamente mais evidentes na primeira infância, convergindo para a definição do organismo humano adulto. Esse processo é dinâmico, tanto em referenciais antropométricos, como também em modificações específicas em determinados órgãos. Incontestavelmente, a cavidade bucal representa um modelo dessas transformações desde a criança edêntula até quando se estabelecem as dentições decídua e permanente. Na linha de raciocínio dessas afirmações, a proposição e a implementação da presente pesquisa justifica-se plenamente.

Para cumprir o intento do trabalho, assegurou-se a uniformidade da amostra, cuidando-se para que as crianças selecionadas apresentassem condições sócio-econômicas relativamente homogêneas. O status socioeconômico foi considerado

similar entre os grupos, à semelhança de Oliveira et al. (1997), López et al. (2003) e Florio et al. (2004). A relação número de dentes/faixa etária padroniza ainda mais a amostragem, já que nem sempre existe uma relação direta entre faixa etária/número de dentes irrompidos. Pode-se considerar que o número de dentes possa interferir nos resultados; na presente pesquisa descarta-se essa possibilidade. As crianças permaneciam durante 5 dias da semana na instituição por 10 horas. O motivo de permanência na creche era rigorosamente semelhante: o vínculo empregatício dos responsáveis (FLORIO et al., 2004).

A presença de doenças sistêmicas assim como a administração de drogas medicamentosas foram consideradas fatores de exclusão para a amostra (FARIAS; BEZERRA, 2003; LÓPEZ et al., 2003; FLORIO et al., 2004). Segundo Morse et al. (1983a), os parâmetros salivares podem se alterar quando o indivíduo faz uso de medicamentos ou possui enfermidades. Skurk, Krebs e Rehberg (1979) afirmaram ainda que alguns fatores são diretamente afetados pela presença de doenças específicas. A parotidite crônica promove uma diminuição na enzima amilase salivar e uma maior concentração de proteínas totais em saliva estimulada. Essa elevação em taxas protéicas salivares ocorre também pelo uso de drogas medicamentosas e alterações no fluxo salivar gerando valores irrealistas quando analisado (DAWES, 1987; JOHNSON et al., 1987). Para Farias e Bezerra (2003) a presença de condições patológicas bucais deve ser considerada fator de exclusão da pesquisa, assim como os abscessos dentais.

A avaliação odontológica foi efetuada conforme Florio et al. (2004). Os dentes decíduos foram considerados erupcionados quando qualquer parte da coroa se apresentava visível na cavidade bucal. O diagnóstico de lesões de cárie foi efetuado

pelo método visual e tátil, definindo como doença cárie às cavidades visíveis pela ruptura da superfície do esmalte, sulcos e fissuras.

Para a realização da coleta salivar alguns critérios foram rigorosamente seguidos no intuito de minimizar as divergências resultantes que poderiam alterar os fatores salivares. O horário de coleta foi padronizado para que não houvesse interferência do ritmo circadiano salivar. Conforme Fegurson e Fort (1974) as alterações na secreção salivar durante o dia podem interferir em alguns parâmetros salivares promovendo falsos resultados. De acordo com grande parte dos autores a coleta foi efetuada no período matutino, entre 9:00 e 11:30 horas (COLLARES; BRASIL; KAWAZAKI, 1979; COLLARES; BRASIL; FERNANDES, 1980; CROSSNER, 1984; HYYPPÄ et al., 1989; BEN-ARYEH et al., 1984; BEN-ARYEH et al., 1990; SCHLAGENHAUF; ROSENDAHL, 1990; MAZENGO et al., 1994; KEDJARUNE et al., 1997; OLIVEIRA et al., 1997; BARDOW et al., 2000; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; DEZAN et al., 2002; FARIAS; BEZERRA, 2003). Porém, Andersson (1972) e Rossiter et al. (1974) realizaram as coletas salivares no período vespertino, razão explicada por Oliveira et al. (1997) onde o maior volume de secreção ocorre na metade do dia. Conforme Edgar (1992), o pico de fluxo de saliva acontece por volta das 5 horas da tarde e o mínimo durante a noite, sendo essa variação independente da alimentação e do estágio de sono. A média de fluxo circadiano é de 640 ml durante o dia e somente 10 ml produzidos durante a noite (DALE, 1998).

Considerando que a saciedade e a fome interferem nos resultados, foi estipulado um período mínimo entre a última ingestão de alimento e o momento da coleta. O intervalo de 1 hora foi criteriosamente seguido para se evitar interposição nos procedimentos salivares (BEN-ARYEH et al., 1984; BEN-ARYEH et al., 1990;

HYYPPIÄ et al., 1989; MAZENGO et al., 1994; RUDNEY; HICKEY; JI, 1999; ANDERSON; HECTOR; RAMPERSAD, 2001; FARIAS; BEZERRA, 2003; FLORIO et al., 2004). Alguns autores sugerem um período de 2 horas (SANTOS; LONG, 1994; OLIVEIRA et al., 1997; BARDOW et al., 2000; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; DEZAN et al., 2002; SÁNCHEZ; PRELIASCO, 2003) e outros advogam que 30 minutos são necessários para se excluir as interferências (COLLARES; BRASIL; KAWAZAKI, 1979; NICOLAU, 1966).

Nessa pesquisa, a saliva total foi estudada pela facilidade de obtenção em qualquer idade a ser analisada; e não a saliva secretada especificamente de uma glândula salivar (ROSSITER et al., 1974). Veermam et al. (1996) mencionaram a dificuldade em se adquirir saliva de glândulas separadamente. Diversos artifícios são empregados para a realização de coletas salivares, dentre eles os métodos de drenagem, expectoração, sucção ou aspiração e com roletes de algodão denominado de *swabs*. Porém, a técnica que reproduz maior fidelidade sem interferências é o método da expectoração com saliva não estimulada. Os processos restantes considerados sem estímulo, ou seja, sem a necessidade de solução ácida ou excitação mastigatória como a parafina, mas que necessitam da introdução de um dispositivo para a coleta, seja um coletor ou algodão, induzem algum grau de estímulo (DAWES, 1987). Anderson, Hector e Rampersad (2001), pesquisaram os fatores salivares com as crianças expectorando dentro de funis durante 10 minutos. Hyypä et al. (1989), Dezan et al. (2002) e Farias e Bezerra (2003) realizaram os estudos aspirando à saliva do assoalho bucal sem estímulo. Em crianças de pouca idade, Ben-Aryeh et al. (1984,1990) preferiram a técnica de aspiração com seringas plásticas descartáveis sem agulhas. Ben-Aryeh et al. (1990) e Anderson, Hector e Rampersad (2001) coletaram saliva pelo método de expectoração nas crianças em

idade escolar. Entretanto, as crianças não possuem habilidade para expectorar em tubos pequenos e também para mascar parafina (O'SULLIVAN, CURZON, 2000; SÁNCHEZ, PRÉLIASCO, 2003). Florio et al. (2004) elegeram os roletes de algodão estéreis para a coleta. Qualquer método a ser selecionado não minimiza a dificuldade de se coletar saliva em crianças, sendo sempre um processo de difícil execução (SANTOS; LONG, 1994; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; SÁNCHEZ; PRELIASCO, 2003). Assim, segundo Hyypä et al. (1989), pouco se conhece sobre a saliva de bebês pela dificuldade de obtenção. Corroborando com o descrito anteriormente, Bellavia et al. (1979) relataram o longo período de 1 hora e 30 minutos para adquirir 3 ml de bebês recém-nascidos.

Todos os indivíduos da amostra durante o processo de coleta salivar permaneceram sentados, calmos e de olhos abertos (ANDERSSON, 1972; MAZENGO et al., 1994; HYYPPÄ et al., 1989; BARDOW et al., 2000; O'SULLIVAN; CURZON, 2000; SÁNCHEZ; PRELIASCO, 2003). A posição é muito importante, pois a ortostase aumenta o fluxo salivar (OLIVEIRA et al., 1997). Situações de estresse, como o choro, foram evitadas antes e durante a coleta, pois poderiam alterar determinados parâmetros salivares como a diminuição do fluxo (DEVILDOS; YURGE; MINUZZI, 1970; BATES; ADAMS, 1968; MORSE et al., 1983b). A amilase salivar também sofre interferências em casos de estresse, diminuindo sua atividade (MORSE et al., 1983b). Já em ambientes de relaxamento há a diminuição das proteínas salivares, aumento de fluxo, pH e atividade da amilase (MORSE et al., 1983b). Garret (1987) afirmou que toda interferência nos fatores salivares é resultante das inibições das glândulas salivares e por isso deve-se manter o conjunto ambiente/indivíduo o mais inalterado possível. No intuito de se evitar os falsos resultados dos parâmetros salivares, as crianças que demonstraram

resistência ao atendimento e choraram durante o processo foram excluídas da pesquisa.

Em virtude da diversidade de metodologias e análises para os parâmetros bioquímicos salivares, nota-se uma ampla variação de resultados na literatura científica fragilizando a análise comparativa entre as pesquisas (NAVAZESH, CHRISTENSEN, 1982; LARSEN et al., 1999; ANDERSON; HECTOR; RAMPERSAD, 2001).

Em relação ao pH, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Em estudo similar Ben-Aryeh et al. (1984), encontraram em bebês de 3 dias a 12 meses uma correlação positiva entre o pH e a idade. Segundo os autores o pH de bebês com idade inferior a 6 meses é menor, ou seja, mais ácido. Entretanto, para Anderson (1972) existe uma variação negativa, porém a faixa etária estudada pelo autor consistia de crianças em idade escolar e pré-adolescência. Analisando também o pH crítico, Anderson, Hector e Rampersad (2001) relataram que o valor considerado limítrofe é maior em crianças, havendo portanto um risco elevado de desmineralização de esmalte quando comparado a adultos.

O método de coleta salivar pode interferir nos resultados referentes ao pH, independente da faixa etária, gênero e outros padrões a serem estudados. Segundo Bardow et al. (2000), a média de pH de saliva coletada de forma estimulada, seja gustatório ou mastigatório, torna-se mais alcalina em relação à adquirida em repouso, sem a presença de nenhum estímulo. Andersson (1972) confirma essa conclusão, relatando que o pH é menor em saliva estimulada quando comparado à saliva sem estímulo. Dentre todos os constituintes salivares o pH não sofre tanta influência do ritmo circadiano (FEGURSON; FORT, 1974).

No presente estudo foi encontrada uma correlação positiva estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o pH e fluxo salivar. Esses valores perfilam aos de O'Sullivan e Curzon em 2000, nas crianças de 3 a 16 anos, confirmando haver essa conexão pH/fluxo salivar.

A capacidade tampão salivar foi similar entre todos os indivíduos da amostra. Portanto, não há variação da ação tamponante, ou seja, a resistência salivar às mudanças de pH não alterou com a idade. Os dados se assemelham aos obtidos por Schlagenhauf e Rosendhal (1990) os quais notaram que a capacidade tampão não apresenta variação entre a dentadura decídua e dentição permanente. No estudo de Andersson (1972) a atuação tampão foi diminuindo nas crianças com dentadura mista. Conforme Mazengo et al. (1994) o local de residência pode influenciar esse parâmetro salivar, sendo a ação tamponante maior em crianças residentes em área rural devido à dieta rica em fibras, principalmente grãos. Kedjarune et al. (1997), porém, asseguraram que a capacidade tampão, assim como o pH, foram mais elevados em residentes urbanos. Alguns autores afirmaram não haver essa relação da dieta e local de residência; e ainda outros fatores como estado nutricional e presença de lesões de cárie, com a capacidade tampão salivar (NICOLAU, 1966; DREIZEN; MANN; CLINE, 1946; SANTOS; LONG, 1994). Nicolau, em 1966, acreditou não haver relação entre capacidade tampão e presença de lesões de cárie em primeiros molares permanentes.

Os métodos de coleta reproduzem resultados distintos quanto à capacidade tampão. Em saliva coletada de forma estimulada a atuação tampão demonstra dados elevados em relação à saliva em repouso. Foi selecionado para a presente pesquisa a análise mediante a titulação ácida, uma vez que os métodos comerciais apresentam valores referentes a pacientes adultos (SANTOS; LONG, 1994).

Baseando-se nesses dados referentes à localização, presença de patologias dentárias e metodologia, a presente pesquisa não obteve diferença, já que houve a padronização do método e dos indivíduos participantes, sendo todos habitantes de locais urbanos, isentos de lesões de cárie e demais patologias.

Os valores registrados nesse estudo demonstraram uma correlação positiva estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre a capacidade tampão com o fluxo salivar e o pH. Esses resultados convergem com as informações relatadas por outros autores (MAZENGO, et al. 1994; KEDJARUNE, et al., 1997; BARDOW et al., 2000). Analisando a correlação entre a capacidade tampão e a concentração de proteínas totais, nota-se uma correlação muito próxima à significância ($p = 0,055$). Esse resultado é confirmado pelo estudo de Bardow et al. em 2000. Segundo os autores, com os quais concordamos, as proteínas totais contribuem para o aumento da ação tamponante devido à interação protéica com outros componentes da saliva sob condições fisiológicas, resultando indiretamente na elevação do efeito tampão.

As glândulas salivares apresentam mudanças estruturais com o transcorrer do tempo. Ocorre uma perda das estruturas acinares havendo uma substituição dessa massa celular por um tecido conjuntivo (WATERHOUSE et al. 1973). Isso deveria implicar uma redução do fluxo salivar. Entretanto, muitos estudos demonstram que o fluxo salivar total, de saliva estimulada e em repouso, tendem a aumentar com a idade (DAWES, 1987; SCHLAGENHAUF; ROSENDHAL, 1990; MAZENGO et al., 1994; SANTOS; LONG, 1994). Em relação as crianças, as pesquisas também demonstram existir essa correlação com a idade (BEN-ARYEH et al., 1984; DEZAN et al., 2002). Apesar dos autores afirmarem haver um fluxo maior em adultos em comparação às crianças confirmando esse aumento crescente da secreção salivar, Andersson (1972) assegura que os valores do fluxo salivar

estimulado em crianças são similares a dados quantitativos de adultos. Collares, Brasil e Kawazaki (1979) descreveram que o fluxo é pequeno em recém-nascidos, elevando-se até atingir valores máximos entre 90 e 180 dias de vida, diminuindo posteriormente com 1 ano. Entre o terceiro e o sexto mês de vida ocorre um aumento acentuado. Os valores são comparáveis àqueles obtidos em crianças de 20 a 36 meses. Esses dados podem explicar o fato de não existir a variação de fluxo nesta pesquisa, em virtude da mesma abranger exatamente essa faixa etária.

Discordando desses autores, Heft e Baum (1984) após estudo da variação do fluxo salivar estimulado e não estimulado, em pacientes adultos e jovens, não encontraram variação da secreção salivar em nenhum grupo. Crossner em 1984, pesquisando adolescentes durante 15 meses, observou que o fluxo salivar manteve-se constante durante todo o período de realização da pesquisa. Anderson, Hector e Rampersad (2001) também não acharam diferença na secreção salivar entre adultos e crianças na coleta em repouso. Os resultados desta pesquisa concordam com os autores não havendo diferença significativa entre os grupos estudados. O fluxo salivar não mostrou alteração em relação à faixa etária e, portanto em relação à erupção dental.

Para Dawes et al. (1987), o fluxo salivar total independe do peso corpóreo e tamanho da glândula salivar. Os fatores que realmente influenciam o fluxo são o grau de hidratação corporal, exposição à luz, olfação, estímulos, ritmo circadiano e circanual, administração de drogas e posição corpórea (DAWES et al., 1987). Outro fator a ser considerado é a presença de doenças sistêmicas. Estas alteram o fluxo salivar, conforme López et al. (2003), que avaliaram crianças portadoras de diabetes. As mesmas apresentavam decréscimo no fluxo salivar em relação às crianças saudáveis. Em relação ao peso da criança, Collares, Brasil e Fernandes

(1980) afirmaram não haver interação com o fluxo salivar, não existindo uma correlação entre fluxo salivar e peso corporal em crianças.

A presença de lesões de cárie é outro valor a ser considerado como modificador de fluxo salivar. De acordo com Santos e Long (1994) à medida que a secreção salivar diminui, há um aumento do índice de ceo-d. Portanto há uma correlação negativa entre a doença cárie e o fluxo salivar (CURY; GIL, 1998; O'SULLIVAN; CURZON, 2000).

Em investigações referentes a crianças residentes em áreas urbanas e rurais, Mazengo et al. (1994) não observaram diferença significativa de fluxo salivar. Posteriormente, Kedjarune et al. em 1997, mencionaram que a secreção salivar de crianças de áreas rurais foi maior devido ao consumo de vegetais.

Muitos autores relataram que o fluxo salivar sofre variação conforme a metodologia aplicada durante a coleta. A presença de estímulo promove uma secreção salivar muito maior do que se realizada a coleta de saliva sem estímulo algum (NAVAZESH; CHRISTENSEN, 1982; BARDOW et al., 2000; ANDERSON; HECTOR; RAMPERSAD, 2001). Na saliva estimulada o fluxo salivar em adultos foi 10 vezes maior que a mensuração do fluxo salivar em repouso e em crianças essa diferença foi duplicada quando comparados os fluxos salivares estimulados e em repouso (ANDERSON; HECTOR; RAMPERSAD, 2001). O ato mastigatório induz a um aumento do fluxo salivar por estimular os receptores dos músculos da mastigação e ligamentos periodontais (Edgar, 1992).

Para a investigação da concentração de proteínas totais na saliva neste estudo, foi utilizado o método de Lowry et al. (1951) por ser amplamente relatado na literatura científica e também por apresentar simplicidade em sua metodologia (BELLAVIA et al., 1974; BEN-ARYEH et al., 1984; JOHNSON et al., 1987; HYYPPÄ

et al., 1989 BEN-ARYEH et al., 1990; MAZENGO et al., 1994; KEDJARUNE et al., 1997; RUDNEY; HICKEY, JI, 1999; DEZAN ET AL., 2002). Rudney, Hickey e Ji (1999), creêm que o método de Lowry et al. (1951) subestima as concentrações protéicas e os resultados apenas fornecem um valor estimado da faixa de variação entre indivíduos. Outras técnicas para identificação de proteínas totais, como o método de biureto, reagente Coomassie blue e utilização de kits comerciais, também são relatados (BARDOW et al., 2000; FARIAS; BEZERRA, 2003; LÓPEZ et al., 2003).

Considerando os grupos submetidos à pesquisa, não foram constatadas diferenças significativas na quantidade de proteínas em relação aos grupos. Assim, a relação protéica salivar não se altera com a idade. Os resultados convergem com os estudos de Hyypä et al. (1989) e Dezan et al. (2002). Os autores não encontraram variação de proteínas em relação à idade, erupção dental e padrão alimentar. Portanto, as proteínas salivares não se alteram com a erupção dental, havendo uma constância. As profundas mudanças na cavidade bucal concomitantes ao surgimento dos elementos dentais decíduos não são acompanhadas por alterações quantitativas na composição salivar protéica (RUHL; SCHMALZ, 1999). Em saliva não estimulada de crianças portadoras de doenças como parotidite crônica, também não há alteração de proteínas em relação a crianças saudáveis (SKURK; KREBS; REHBERG, 1979). Entretanto, alguns autores discordam, afirmando haver correlação protéica com a idade. Bellavia et al. (1979) e Tenovuo (1998) evidenciaram uma quantidade maior em adultos quando comparados a recém-nascidos. Ben-Aryeh et al. em 1984 e 1990, obtiveram valores crescentes protéicos em estudos distintos com crianças de 3 dias a 12 meses e indivíduos de 7 meses a 63 anos.

Em relação aos métodos de análise comparativa entre saliva estimulada e em repouso, Bardow et al. (2000) afirmaram que as proteínas não diferem em sua concentração. Os diferentes resultados de vários estudos demonstram não existir uma influência estabelecida entre o padrão alimentar e o parâmetro salivar protéico. Mas, segundo Kedjarune et al. (1997) alterações podem ocorrer conforme a alimentação. Para os autores as crianças de áreas urbanas apresentam níveis mais elevados de proteínas totais decorrentes da ingestão diária de proteína animal. Porém, Mazengo et al. (1994) citaram que as proteínas da dieta principalmente originárias de plantas produzem altos valores salivares protéicos na população infantil rural. A concentração de proteínas totais também pode diferir na presença de doenças sistêmicas. No estudo de López et al. (2003), as proteínas totais foram maiores nas crianças portadoras de diabetes.

A presença de lesões de cárie parece não influenciar a concentração de proteínas totais. Farias e Bezerra (2003) não descobriram variação entre os grupos de crianças com presença de doença cárie em relação àquelas com ausência da doença. Dezan et al. (2002) sugerem que diferenças achadas nas pesquisas podem ser creditadas a diferentes métodos de coleta salivar.

Os resultados notados em nosso estudo relativos à atividade da amilase salivar demonstram uma diferença significativa entre os grupos I e III. A média da atividade da amilase salivar aumentou conforme a idade, ou seja, pode-se inferir que a enzima α -amilase da saliva eleva sua atividade e portanto sua concentração, de acordo com a presença quantitativa de elementos dentais na cavidade bucal ($p < 0,05$). Os dados são similares aos encontrados por Collares et al. (1974); Rossiter et al. (1974); Ben-Aryeh et al. (1984); Ben-Aryeh et al. (1990); Mazengo et al. (1994); Rudney, Hickey e Ji (1999) e Dezan et al. (2002). Muitos autores explicam

essa elevação constante do nascimento à idade adulta devido à maturação das glândulas salivares, introdução de alimentos sólidos, ação do ato mastigatório sobre as glândulas salivares e até mesmo à presença de amido como indutor de amilase pancreática, conseqüentemente de amilase salivar (COLLARES; BRASIL; KAWAZAKI, 1979; ROSSITER et al., 1974; DEZAN et al., 2002). Todavia, Ben-Aryeh et al. (1984) e Mazengo et al. (1994) discordaram desse conceito estabelecido, afirmando que o consumo de alimentos não interfere, uma vez que o significativo aumento da atividade da amilase salivar aparece após os 3 meses de idade. Esse aumento permanece até mesmo após a adolescência (Ben-Aryeh et al., 1990). Collares, Brasil e Kawazaki (1979), também encontraram altos níveis no segundo mês de vida.

Em relação às lesões de cárie na cavidade bucal, parece não existir correlação com a enzima amilase (NICOLAU, 1966; JACOBSEN; MELVAER; PETTERSEN, 1972; FARIAS; BEZERRA, 2003). O peso corpóreo da criança, ou seja, indivíduos que apresentam obesidade tendem a ingerir maior quantidade de amido e a apresentar taxas elevadas de α -amilase. Contudo, em estudo de Oliveira et al. (1997) houve correlação negativa entre as variáveis. Em recém-nascidos de baixo peso a capacidade de digestão de polissacarídeos é semelhante a recém-nascido de peso normal. As doenças sistêmicas podem alterar os padrões amilolíticos (SKURK; KREBS; REHBERG, 1979, LÓPEZ et al., 2003).

Ao cotejarmos os parâmetros bioquímicos salivares com relação ao gênero, o tratamento estatístico não apresentou diferenças significantes. Dawes (1987), mencionou que o efeito gênero ainda não provoca, claramente, mudanças na composição e secreção salivar. O fator pH não sofre influência segundo Andersson (1972). No entanto esse mesmo autor relatou que a capacidade tampão parece ser

menor em meninas, supondo haver essa distinção devido a hábitos alimentares. Com referência ao fluxo salivar total, Andersson (1972), Crossner (1984) e Mazengo et al, (1994) encontraram diferença na secreção salivar entre meninos e meninas, existindo um volume salivar maior no primeiro grupo. Ambos realizaram pesquisas com crianças em idade mais avançada, por volta dos 7 aos 14 anos. Contudo, Santos e Long em 1994, avaliando crianças com dentadura decídua, não obtiveram resultados distintos entre os gêneros, o que coincide com nossa pesquisa e a de Ben-Aryeh et al. (1984). Bardow et al. (2000) mencionaram que homens possuem fluxo salivar maior quando comparados às mulheres. Analisando essas informações, pode-se supor que exista alguma variação salivar entre os gêneros a partir de uma certa idade mas, para concretização de tal fato, são necessários estudos múltiplos e independentes. Em se tratando da concentração de proteínas totais salivares e atividade da amilase salivar, Ben-Aryeh et al. (1984), Ben-Aryeh et al. (1990) e Dezan et al. (2002) referiram não haver desigualdade de valores entre os gêneros, concordando com os obtidos nesta pesquisa. Para Oliveira et al. (1997), os meninos apresentaram valores amilolíticos superiores às meninas. Após a aquisição dessas informações, relataram não haver resultados semelhantes na literatura, que confirmem ou não tais valores.

A compreensão da fisiologia e características dos parâmetros salivares é fundamental para a base da odontologia atual. Os conceitos, assim como as intervenções clínicas, sofreram profundas transformações, sendo ambos focados no monitoramento da saúde e estruturados nos paradigmas da prevenção bucal. Assim, o diagnóstico precoce dos fatores que predispõem o indivíduo à doença pode limitar ou até mesmo cessar o desenvolvimento da injúria, particularmente a lesão de cárie. Para o equilíbrio do processo saúde-doença, faz-se necessário avaliar os

parâmetros salivares, haja vista que estão intimamente ligados. Existe, portanto, a possibilidade de se estabelecer um plano preventivo individualizado conforme a idade da criança conhecendo suas características salivares e observando-se que qualquer desequilíbrio quantitativo de pH, fluxo salivar e capacidade tampão predis põem potencialmente à doença. A atividade da amilase também deve ser enquadrada na elaboração do tratamento preventivo. Sabendo-se que possui uma correlação positiva com a idade, a amilase salivar não somente auxilia na absorção de nutrientes como também favorece a formação do biofilme dental. A concentração de proteínas totais deve igualmente ser levada em consideração no âmbito clínico. As alterações protéicas não implicam diretamente no surgimento da lesão de cárie, mas podem gerar mudanças periodontais. Dessa forma, o enfoque clínico não pode ser padronizado para todas as crianças.

A diversidade de resultados encontrados na literatura científica confirmam as variações nos dados deste estudo em relação à idade. A pluralidade de técnicas e análises para avaliação de parâmetros bioquímicos salivares podem influenciar qualquer pesquisa, principalmente quando a investigação conjuga-se com amostras baseadas em faixas etárias tão precoces quanto as desta pesquisa. A dificuldade na aquisição de conteúdo salivar em pacientes de tenra idade torna-se uma imposição para a realização de estudos relativos à análise de padrões salivares. Dessa forma, fica evidente a certeza da necessidade de maiores investigações sobre os parâmetros bioquímicos da saliva em crianças de tenra idade.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados discutidos no presente trabalho e considerando as condições em que foi realizado, pode-se concluir que:

- O fluxo salivar, pH, capacidade tampão e concentração de proteínas totais não se alteraram com a idade, gênero e a presença de elementos dentais;
- A atividade da amilase aumentou significativamente entre as crianças do grupo I e III;
- Analisando toda a amostra, houve uma correlação positiva entre o fluxo salivar e pH, fluxo salivar e capacidade tampão e pH e capacidade tampão; conforme um parâmetro salivar aumenta, o co-relacionado tende a crescer;

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS ¹

Andersson R. The flow rate, pH and buffer effect of mixed saliva in schoolchildren. *Odont Revy* 1972;23:421-428.

Anderson DJ, Hector MP. Periodontal mechanoreceptors and parotid secretion in animals and man. *J Dent Res* 1987;66(2):518-523.

Anderson P, Hector MP, Rampersad MA. Critical pH in resting and stimulated whole saliva in groups of children and adults. *Int J of Paediatr Dent* 2001;11(4):266-273.

Bardow A, Moe D, Nyvad B, Nauntofte B. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. *Archs Oral Biol* 2000;45(1):1-12.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE

Bates JF, Adams D. The influence of mental stress on the flow of saliva in man. *Archs Oral Biol* 1968;13(5):593-596.

Bellavia SL, Moreno J, Sanz E, Picas EI, Blanco A. α -Amylase activity of human neonate and adult saliva. *Archs Oral Biol* 1979;24(2):117-121.

Ben-Aryeh H, Lapid S, Szargel R, Benderly A, Gutman D. Composition of whole unstimulated saliva of human infants. *Archs Oral Biol* 1984;29(5):357-362.

Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. *Archs Oral Biol* 1990;35(11):929-931.

Collares EF, Brasil MRL, Kawazaki ST. Secreção de saliva, concentração e secreção da amilase salivar humana no primeiro ano de vida. *Arq Gastroent* 1979;16(2):91-94.

Collares EF, Brasil MRL, Fernandes MIM. Secreção de saliva, concentração e secreção da amilase salivar em recém-nascidos de baixo peso. *Arq Gastroent* 1980;17(4):224-227.

Crossner CG. Salivary flow rate in children and adolescents. *Swed Dent J* 1984;8:271-276.

Cunha NA. Avaliação da presença quantitativa de dentes decíduos de acordo com a faixa etária: estudo em crianças de 03 a 39 meses de idade. Santo André, 2001. Monografia (Especialização em odontopediatria)– APCD/EAP.

Cury JA, Gil PSS. Identificação dos pacientes com potencial cariogênico. *RGO* 1988;36 (2):106-108.

Dale AC. Glândulas salivares. In: TenCate R. Histologia bucal. 5º. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1998. cap. 15, p. 296-322.

Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987;66(Spec Iss):648-653.

Deimling D, Breschi L, Hoth-Hannig W, Ruggeri A, Hannig C, Nekrashevych Y, et al. Electron microscopic detection of salivary α -amylase in the pellicle formed in situ. *Eur J Oral Sci* 2004;112:503-509.

Devildos LR, Yurge LS, Minuzzi ML. The flow of saliva—its variations under various influences. *Rev Bras Odontol* 1970;27(162):98-103.

Dezan CC, Nicolau J, Souza DN, Walter LRF. Flow rate, amylase activity, and protein and sialic acid concentrations of saliva from children aged 18, 30 and 42 months attending a baby clinic. *Archs of Oral Biol* 2002; 47(6):423-427.

Dreizen S, Mann AW, Cline JK, Spies TD. The buffer capacity of saliva as a measure of dental caries activity. *J Dent Res* 1946; 25:213-222.

Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992;172(8):305-312.

Farias DG, Bezerra ACB. Salivary antibodies, amylase and protein from children with early childhood caries. *Clin Oral Invest* 2003;7:154-157.

Ferguson DB, Fort A. Circadian variations in human resting submandibular saliva flow rate and composition. *Archs Oral Biol* 1974;19(1):47-55.

Flaitz CM, Hicks MJ, Carter AB, Rossmann SN, Demmler GJ, Simon CL, et al. Saliva collection technique for cytologic, microbiologic and viral evaluation in pediatric HIV infection. *ASDC J Dent children* 1998;65(5):318-324.

Florio FM, Klein MI, Pereira AC, Goncalves RB. Time of initial acquisition of mutans streptococci by human infants. *J Clin Pediatr Dent* 2004;28(4):303-308.

Garret JR. The proper role of nerves in salivary secretion: A Review. *J Dental Research* 1987;66(2):387-397.

Hannig C, Attin T, Hanning M, Henze E, Brinkmann K, Zech R. Immobilisation and activity of human α -amylase in the acquired enamel pellicle. *Archs Oral Biol* 2004;49:469-475.

Heft MW, Baum BJ. Unstimulated and stimulated parotid salivary flow rate in individuals of different ages. *J Dent Res* 1984;63(10):1182-1185.

Hyypä T, Karhuvaara L, Tenovuo J, Lumikari M, Vilja P. Antimicrobial factors in whole saliva of human infants: a longitudinal study. *Pediatr Dent* 1989;11(1):30-36.

Jacobsen N, Melvaer KL, Pettersen AH. Some properties of amylase: a survey of the literature and some observations. *J Dental Research* 1972;51(2):381-388.

Johnson DA, Alvares OF, Etzel KR, Kalu DN. Regulation of salivary proteins. *J Dent Res* 1987;66(2):576-582.

Kaplan LA, Pesce AJ. *Clinical Chemistry theory, analysis, and correlation*. 3^o. 1996. p. 555-567.

Kedjarune U, Migasena P, Changbumrung S, Pongpaew P, Tungtrongchitr R. Flow rate and composition of whole saliva in children from rural and urban Thailand with different caries prevalence and dietary intake. *Caries Res* 1997;31(2):148-154.

Lagerlöf F, Oliveby A. Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 1994;8(2):229-238.

Larsen MJ, Jensen AF, Madsen DM, Pearce EIF. Individual variations of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva. *Archs Oral Biol* 1999;44(2):111-117.

Lopez ME, Colloca ME, Páez RG, Schallmach JN, Koss MA, Chevonagura A. Salivary characteristics of diabetic children. *Braz Dent J* 2003;14(1):26-31.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randal RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.

Mazengo MC, Söderling E, Alakuijala P, Tiekso J, Tenovuo J, Simell O, et al. Flow rate and composition of whole saliva in rural and urban Tanzania with special reference to diet, age, and gender. *Caries Res* 1994;28(6):468-476.

Mcdonnel S, Hector MP. The secretion and distribution of saliva in children. *J Dent Res* 1997;76(5):1074.

Morse DR, Schacterle GR, Furst ML, Esposito JV, Zaydenburg M. Stress, relaxation and saliva: relationship to dental caries and its prevention, with a literature review. *Annals of Dentistry* 1983a,42(2):47-54.

Morse DR, Schacterle GR, Zaydenberg M, Furst ML, Pollack RL, Moskow A, et al. Salivary volume and amylase activity. I: relaxation versus chewing. *J Am Soc of Psych Dent and Med* 1983b;30(3):85-96.

Morse DR, Schacterle GR, Furst L, Zaydenberg M, Pollack RL. Oral digestion of a complex-carbohydrate cereal: effects of stress and relaxation on physiological and salivary measures. *Am J Clin Nutr* 1989;49:97-105.

Navazesh M, Christensen CM. A comparison of whole mouth resting and stimulated salivary measurement procedures. *J Dental Research* 1982;61(10):1148-1162.

Nicolau J. Capacidade-Tampão e atividade amilolítica da saliva no aparecimento de cárie dental em crianças. *Rev Bras Odont* 1966;25(142):413-417.

O'Sullivan EA, Curzon MEJ. Salivary factors affecting dental erosion in children. *Caries Res* 2000;34(1):82-87.

Oliveira CG, Collares EF, Barbieri MA, Fernandes MIM. Produção e concentração de saliva e amilase salivar em crianças obesas. *Arq Gastroent* 1997;34(2):105-111.

Pedersen W, Schubert M, Izutsu K, Mersai T, Truelove E. Age-dependent decreases in human submandibular gland flow rates as measured under resting and post-stimulation conditions. *J Dent Res* 1985;64(5):822-825.

Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* 2002;(8):117-129.

Rossiter MA, Barrowman JA, Dand A, Wharton BA. Amylase content of mixed saliva in children. *Acta Paediatr Scand* 1974;63:389-392.

Rudney JD, Hickey KL, Ji Z. Cumulative correlations of lysozyme, lactoferrin, peroxidase, S-I-gA, amylase, and total protein concentrations with adherence of oral viridans streptococci to microplates coated with human saliva. *J Dent Res* 1999;78(3):759-768.

Ruhl S, Schmalz G. Salivary proteins and glycoproteins during the first year of infancy. *J Dent Res (Spec Iss)* 1999;(78):142.

Sánchez GA, Peliasco MVF. Salivary pH changes during soft drinks consumption in children. *Int J Paediatr Dent* 2003;13(4):251-257.

Santos VL, Long SM. Avaliação do risco de cárie através da determinação do índice ceo-d e testes salivares (fluxo salivar e capacidade tampão) em crianças com dentadura decídua na faixa etária de 3 a 6 anos de idade. *Rev. ABO Nac* 1994;2(4):253-261.

Sas R, Dawes C. The intra-oral distribution of unstimulated and chewing-gum-stimulated parotid saliva. *Archs Oral Biol* 1997;42(7):469-474.

Schlagenhauf U, Rosendahl R. Clinical and microbiological caries-risk parameters at different stages of dental development. *J Pedodont* 1990;14(3):141-143.

Skurk A, Krebs S, Rehberg J. Flow rate, protein, amylase, lysozyme and kallikrein of human parotid saliva in health and disease. *Archs Oral Biol* 1979;24(11):739-743.

Tenovuo J. Antimicrobial function of human saliva – how important is it for oral health? *Acta Odontol Scand* 1998;56:250-256.

Veerman ECI, Keybus PAMVD, Vissink A, Amerongen AVN. Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *Eur J Oral Sci* 1996;104(4):346-352.

Watanabe S. Salivary clearance from different regions of the mouth in children. *Caries Res* 1992;26(6): 423-427.

Waterhouse JP, Chisholm DM, Winter RB, Patel M, Yale RS. Replacement of functional parenchymal cells by fat and connective tissue in human submandibular salivary glands: an age-related change. *J Oral Pathol* 1973;2:16-27.

ANEXOS

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

Prezado (a) responsável.

Este projeto visa estudar alguns valores salivares tais como: pH, fluxo, capacidade tampão, atividade da enzima amilase, concentração de proteínas em grupos de crianças de 0 a 36 meses.

Serão coletados uma amostra da saliva, exame clínico para diagnóstico de cárie e aplicado um questionário com objetivo de colher dados para pesquisa científica, incluindo posterior publicação dos resultados em tese, revistas e livros da área odontológica.

A participação da criança nesta pesquisa será determinada pelo seu responsável, cabendo-lhe o direito de desistência se assim o quiser, sem acarretar nenhum prejuízo.

Foi-me explicado que a referida pesquisa não implicará em danos à saúde da criança e sendo assim ratifico a autorização.

Eu, _____,
responsável pelo menor _____
estou ciente do acima exposto e concordo plenamente com sua participação.

São Paulo, _____ de _____ de 2005.

Assinatura do responsável: _____

Documento RG nº: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA OBTENÇÃO DE IMAGEM E USO

Nome do paciente: _____

Eu, _____,

autorizo a tomada de fotografias sujeita às seguintes condições:

- as fotografias serão utilizados para ilustrar informações sobre as condições bucais ou de tratamento;
- o material poderá ser utilizado em artigo para ser publicado em livros ou revistas profissionais;
- não serão utilizados nomes;
- todas as fotografias serão a mim apresentadas.

O paciente é incapaz de consentir legalmente pois apresenta idade menor de 18 anos. Portanto eu autorizo para o mesmo.

Assinatura do Responsável

São Paulo, ____ de _____ 200__.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)