

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

MARÍLIA ANDRADE MAIA BARRETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA SALIVA EM PACIENTES COM
DIABETES TIPO II**

PATOS – PB

2017

MARÍLIA ANDRADE MAIA BARRETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA SALIVA EM PACIENTES COM
DIABETES TIPO II**

Trabalho de Conclusão do Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

**PATOS - PB
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCC

B273a Barreto, Marília Andrade Maia
Avaliação da atividade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes
tipo II / Marília Andrade Maia Barreto. – Patos, 2017.
48f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2017.

"Orientação: Profa. Dra. Maria Angélica Sátyro Gomes Alves".

Referências.

1. Diabetes mellitus. 2. Salivar. 3. Antioxidantes I. Título.

CDU 577.1:616.314

MARILIA ANDRADE MAIA BARRETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA SALIVA EM PACIENTES
COM DIABETES TIPO II**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Data de aprovação: 05/04/2011

BANCA EXAMINADORA

Maria Angélica Satyro Gomes Alves

Prof.^a Dr.^a Maria Angélica Satyro Gomes Alves – Orientadora
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Abraão Alves de Oliveira Filho

Prof. Dr. Abraão Alves de Oliveira Filho – 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Elizandra Silva da Penha

Prof.^a MSc Elizandra Silva da Penha – 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

*A Deus pai, todo poderoso.
Ao meu pai (in memoriam), que sempre me enviou forças para continuar.
À minha mãe, que desejou essa vitória tanto quanto eu.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a *Deus* pelo dom da vida, por ter me amparado nos momentos de dificuldade, por ter me ouvido e me atendido sempre que precisei, por se mostrar presente em todos os momentos da minha vida e por me amar mesmo quando eu não mereci.

Ao meu pai, *Miguel Moreira de Freitas Neto (in memoriam)*, que mesmo ausente fisicamente, sempre esteve presente em sonhos, pensamentos, orações e vibrações, por ter me ensinado, mesmo nos poucos anos de convivência, a ser uma pessoa do bem e de bom caráter e por ter me mandado forças para continuar quando eu pensei em desistir. À minha mãe, *Maria de Andrade Maia Barreto*, que foi mãe, pai, avó, avô, amiga e companheira de vida, nenhuma palavra nesse mundo conseguirá expressar minha gratidão a essa mulher guerreira, batalhadora, determinada e excepcional, que nunca mediu esforços para me manter longe de casa e que foi meu ombro amigo quando eu não tinha a quem recorrer.

Ao novo pai que a vida me deu, *Antônio José*, meu “paidrasto”, que é uma mistura de pai, amigo e irmão, por ter segurado a barra quando eu não pude estar presente em casa, pelo amor que ele tem por mim e por minha mãe e pelo ser humano incrível que ele é.

Às minhas tias *Raimunda e Ednir*, por serem minhas “segundas mães”, pela ajuda financeira sempre que puderam, pelas ligações e demonstrações de amor e por todas as vindas a Patos nos inícios de cada semestre.

A toda minha família pelo amor dedicado e pelo apoio em todas as minhas batalhas enfrentadas e vencidas.

Aos meus amigos da vida inteira, em especial minhas grandes amigas *Alyne e Monize*, por nunca terem deixado o nosso trio se afastar, apesar da distância, da ausência em datas especiais, dos momentos de tristeza e por me incentivarem em todos os meus planos e sonhos.

À grande amiga que Patos me apresentou, *Leidilane Mendes*, que foi minha dupla não só de faculdade, mas de vida e me ajudou de todas as formas que ela conseguiu e até das vezes que ela não conseguiu, mas se esforçou pra me deixar feliz, deixo aqui registrada a minha eterna gratidão e amizade. E também à minha amiga-mãe-irmã *Enaura Campos*, que sempre se mostrou ali, firme e forte,

segurando a barra, sempre confiando e acreditando em mim quando nem eu acreditava.

Aos meus amigos da faculdade, *Thaynan, Ingrid, Luís, Danilo, Ana Amélia, Rafael e Cidinha* por enfrentarem as dificuldades junto comigo, por compartilharem momentos de alegria, tristeza, dúvidas e incertezas e a todos que eu não citei, mas que de alguma forma tornaram a vida longe de casa um pouco menos dolorosa.

À minha orientadora, *Prof^a. Angélica Sátyro*, por ser uma excelente orientadora, sempre disponível para me atender e tirar minhas dúvidas, nos recebendo até em sua casa em dias de desespero e correria. Muito obrigada por tudo que a senhora me ensinou e saiba que a tenho como exemplo de profissional e ser humano.

Ao *Prof. Abrahão*, por ter nos ajudado tão gentilmente na pesquisa e todas as outras vezes que precisamos. À *Prof^a Elizandra* pela sua doçura e amor pela profissão e pelos pequenos da clínica infantil, o que me ajudou a confirmar o amor em comum que temos pela odontopediatria. Tenho vocês como exemplo, muito obrigada.

Aos demais professores, por ajudarem na minha formação acadêmica e por fazerem seu trabalho de forma brilhante.

Aos funcionários da UFCG, em especial *Damião e Vânia*, pelo vínculo que criamos ao longo desses cinco anos.

Aos pacientes da clínica-escola de odontologia da UFCG, que sempre se disponibilizam a receber o tratamento oferecido por nós alunos.

Aos pacientes da pesquisa, que possibilitaram a realização do meu trabalho de conclusão de curso.

Por fim, a todos que eu não citei, mas que também contribuíram para que hoje eu chegasse até aqui, muito obrigada!

“A cruz sagrada seja minha luz”

Oração de São Bento

BARRETO, M. A. M. **Avaliação da atividade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II.** Patos, Paraíba. Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, 2017, 48p.

RESUMO

A saliva é um fluido biológico produzido no interior das glândulas salivares. Devido à presença de várias substâncias antioxidantes neste fluido, este tem papel importante no controle e modulação dos danos oxidativos na cavidade oral. Objetivo: analisar a capacidade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II. Material e métodos: O estudo foi realizado com 98 pacientes, sendo 48 diabéticos e 50 não diabéticos. Todos tinham entre 18 e 80 anos, eram de ambos os sexos, não fumantes e os pacientes do grupo diabético tinham o diabetes tipo II confirmado em seu prontuário. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos do Hospital Universitário Alcides. Para a avaliação da atividade antioxidante, foram medidas a concentração de ácido úrico salivar e a capacidade quelante do íon ferroso. Os dados foram analisados por meio do teste “t” de *student* não pareado. Foi utilizado o programa Graph Pad Prism versão 6.0 para as análises estatísticas. Resultados: Na análise dos níveis de ácido úrico salivar, observou-se que não houve diferença estatística em relação a esse parâmetro entre os grupos controle e diabético. Quando avaliada a atividade antioxidante total por meio da capacidade de quelar o íon ferroso na saliva, observou-se que o grupo controle apresentou um percentual significativamente maior em relação ao grupo de pacientes diabéticos. Conclusão: os níveis de ácido úrico salivar apresentaram-se semelhantes nos dois grupos que foram analisados (diabéticos e não diabéticos) e a capacidade quelante do íon ferroso salivar apresentou-se maior nos pacientes não diabéticos, concluindo que a presença do diabetes pode influenciar na diminuição da defesa antioxidante salivar.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus*. Saliva. Antioxidantes.

ABSTRACT

Saliva is a biological fluid produced not inside the salivary glands. Due to the presence of several antioxidant substances in this fluid, it plays an important role in not controlling and modulating oxidative damage in the oral cavity. Objective: analyze the antioxidant capacity of saliva in patients with type II diabetes. Material and methods: The study was conducted with 98 patients, 50 and 48 diabetics and non-diabetics. All were between 18 and 80 years old, were of both sexes, non-smokers and patients in the diabetic group had type II diabetes confirmed in their medical records. The research project was approved by the Human Research Ethics Committee of the Alcides Candia University Hospital. For evaluation of the antioxidant activity were measured the concentration of salivary uric acid and ferrous ion chelating capacity. The data were analyzed by means of the unpaired student "t" test. Graph Pad Prism version 6.0 was used for statistical analyzes. Results: In the analysis of salivary uric acid levels, it was observed that there was no statistical difference in relation to this parameter between the control and diabetic groups. When evaluating the total antioxidant activity through the ability to chelate the ferrous ion in saliva, It was observed that the control group presented a significantly higher percentage in relation to the group of diabetic patients. Conclusion: salivary uric acid levels were similar in both groups (diabetics and non-diabetics) Concluding that the presence of diabetes may influence the reduction of salivary antioxidant defense.

Keywords: *Diabetes mellitus*. Saliva. Antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Valores de ácido úrico salivar em (mg/dl) em pacientes diabéticos e pacientes do grupo controle.....33

Figura 02 - Valores de capacidade quelante de íon ferroso (%) em pacientes diabéticos e pacientes do grupo controle.....33

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

DM	<i>Diabetes mellitus</i>
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
mm	Milímetro
min	Minutos
mg	Miligramas
dl	Decilitros
ml	Mililitros
mM	Milimolar
nm	Nanômetro
RNA	Ácido Ribonucleico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
OMS	Organização Mundial da Saúde
ADA	Associação Americana de Diabetes
NADH	Nicotinamida-Adenina-Dinucleotídio
NO	Óxido Nítrico
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
NAD ⁺	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
GPx	Glutathione Peroxidase
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
IgA	Imunoglobulina A
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DHBS	ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno sulfonato
FeCl ₂	Cloreto Ferroso

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca Registrada
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
3. ARTIGO	25
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	38
APÊNDICE B – FÓRMULÁRIO PARA ENTREVISTA E COLETA DE DADOS.....	40
ANEXO A – TERMO DE RESPONSABILIDADE DO ORIENTADOR	41
ANEXO B – PARECER DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	42
ANEXO C – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE	43

1. INTRODUÇÃO

A saliva é um fluido biológico produzido no interior das glândulas salivares. Em razão de sua complexa composição, é capaz de desempenhar funções importantes à manutenção da saúde, como por exemplo a lubrificação dos tecidos duros e moles da cavidade bucal, a ação antimicrobiana, a manutenção da integridade da mucosa, a remineralização dental, a digestão, a fonação, dentre outras (PUY, 2006).

A secreção salivar é um líquido aquoso que contém uma grande variedade de substâncias. Dentre estas, encontram-se as glicoproteínas, onde se destacam a mucina, molécula que confere à saliva uma propriedade viscosa, e a ptialina, que é responsável pelo início da digestão do amido na cavidade bucal. Quando a proporção de mucina é maior que a concentração de ptialina na saliva, fala-se de secreção mucosa; caso contrário, quando for maior a concentração de ptialina, fala-se de secreção serosa (DOUGLAS, 2006).

Além da ação digestiva, a saliva desempenha papel importante na manutenção hídrica dos tecidos orais. Esse fluido também previne alguns distúrbios de diversas maneiras, dentre elas, quando o fluxo salivar arrasta mecanicamente microorganismos patogênicos e detritos alimentares e também através da sua função bactericida, graças a alguns componentes, como a lisozima – uma enzima que ataca a membrana das bactérias –, a lactoferrina – que previne a multiplicação de microorganismos que necessitam de ferro para crescer-- e a glicoproteína, que se liga à imunoglobulina A, sendo esta imunologicamente ativa contra vírus e microorganismos orais, principalmente bactérias responsáveis por causar a cárie dentária (AIRES, 2008).

A saliva pode ser útil na avaliação do risco de cárie e também no diagnóstico de outras doenças, utilizando métodos sialométricos (fluxo salivar) e sialoquímicos, onde determinadas substâncias podem ser dosadas e assim contribuir para o diagnóstico de doenças a partir do exame de níveis de elementos inorgânicos e orgânicos, como dosagens hormonais, pesquisa de agentes biológicos virais, bacterianos e fúngicos, além de marcadores biológicos úteis no diagnóstico e prognóstico do câncer. Ao mesmo tempo em que a saliva pode auxiliar nesses diagnósticos, esta também pode ter sua função alterada por algumas doenças, como

por exemplo, o *diabetes mellitus* (DM). (GOTOH; WATANABE; FUJIBAYASHI, 2005).

O DM é uma doença que afeta o metabolismo dos carboidratos, dos lipídios e das proteínas, causada pela ausência de secreção de insulina ou por redução da sensibilidade dos tecidos à insulina. Um aspecto característico desta doença consiste na resposta secretora defeituosa ou deficiente de insulina, que se manifesta na utilização inadequada dos carboidratos (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1994).

O diabetes está associado ao aumento da mortalidade e ao alto risco de desenvolvimento de complicações micro e macro-vasculares, como também de neuropatias. Pode resultar em cegueira, insuficiência renal e amputações de membros, sendo responsável por gastos excessivos em saúde e substancial redução da capacidade de trabalho e da expectativa de vida (GROSS; NEHME, 1999).

A hiperglicemia, que significa um aumento da quantidade de glicose no sangue, é o mecanismo responsável pelo desenvolvimento do estresse oxidativo, elevando a produção de sorbitol. Esse aumento ocasiona um estresse celular que leva à diminuição das defesas antioxidantes intracelulares, além de poder ocasionar um aumento na concentração dos produtos da glicosilação avançada, alterando assim a função celular. A hiperglicemia pode ainda ativar fatores de transcrição nuclear desencadeando um aumento na expressão de mediadores inflamatórios. A combinação desses mecanismos irá alterar a produção de oxidantes, causando o estresse celular e o conseqüente dano estrutural (ESCANDON; CIPOLLA, 2001).

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, com a predominância dos oxidantes. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são agentes oxidantes capazes de causar vários danos em nível de membrana celular, proteínas e DNA. Todas as vezes que o estresse oxidativo é produzido, o organismo possui um mecanismo de defesa para combatê-lo, mais conhecido como sistema antioxidante, que são substâncias que, quando presentes em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regeneram o substrato ou previnem significativamente a oxidação do mesmo (HALLIWELL, 2000; PHAM-HUY, 2008).

Vários eventos que acontecem na cavidade bucal, como por exemplo a presença de doença periodontal, podem gerar um aumento do estresse oxidativo (BATTINO et al., 2002; MIRICESCU et al., 2011). Fatores como a própria mastigação podem provocar o aumento desse e promover uma peroxidação lipídica

(CAGLAYAN et al., 2008). Devido à presença de várias substâncias antioxidantes na saliva, este fluido tem um papel importante no controle e modulação dos danos oxidativos na cavidade bucal (GREABU et al.,2007).

2. REVISÃO DA LITERATURA

O DM é definido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma desordem metabólica de etiologia múltipla, caracterizada por uma hiperglicemia crônica que acarreta em distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas resultantes de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (OMS, 1999).

Essa doença constitui-se como um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Estima-se que cerca de 143 milhões de pessoas em todo o planeta sofram de diabetes e acredita-se que esse número possa dobrar até 2030. O Brasil está entre os países com maior número de pessoas com diabetes. (KING; AUBERT; GERMAN, 1988).

A classificação proposta pela OMS e pela Associação Americana de Diabetes (ADA) inclui quatro classes clínicas: DM tipo 1, DM tipo 2, outros tipos específicos de DM e DM gestacional. Há ainda duas categorias, referidas como pré-diabetes, que são a glicemia de jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída. Essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (ALBERTI; ZIMMET, 2015).

O DM tipo 2 é a forma verificada em 90 a 95% dos casos e caracteriza-se por defeitos na ação e secreção da insulina e na regulação da produção hepática de glicose. A resistência à insulina e o defeito na função das células beta estão presentes precocemente na fase pré-clínica da doença (DIRETRIZES SBD, 2015).

O diabetes pode provocar algumas alterações bucais como xerostomia, hipossalivação, síndrome de ardência bucal, glossodínia, distúrbios de gustação, infecções, ulcerações na mucosa bucal, hipocalcificação do esmalte, perda precoce de dentes, dificuldade de cicatrização, candidíase e hálito cetônico (VASCONCELOS et al., 2008).

Mecanismos bioquímicos têm sido estudados para explicar as anormalidades estruturais e funcionais associadas à exposição prolongada dos tecidos vasculares à hiperglicemia. Há indícios de que a capacidade antioxidante endógena esteja prejudicada nos indivíduos diabéticos, dificultando a remoção dos radicais livres (SANTINI et al., 1997).

Acredita-se que o estresse oxidativo tem papel central na patogênese das complicações do diabetes (BROWNLEE, 2001). Este, apresenta-se como um estado

de desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante endógena (YOSHIHIRO T; KATHY, 2003).

A hiperglicemia, com conseqüente aumento de EROs, reduz os níveis de óxido nítrico (NO) ativando a aldose redutase. O aumento do fluxo pela via dos polióis, induzido pelo aumento de EROs, determina maior conversão de glicose a sorbitol, reduzindo NADPH e glutatona (antioxidante intracelular) e aumentando o estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia. O sorbitol é convertido à frutose, resultando aumento da relação NADH: NAD⁺. (DARLEY-USMAR; WISEMAN; HALLIWELL, 1995).

Apesar dos efeitos prejudiciais, os radicais livres participam de reações que são importantes para a manutenção da homeostasia. No organismo, os radicais livres, encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. No entanto, seu excesso apresenta efeitos prejudiciais, tais como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas e carboidratos. Dessa forma, encontram-se relacionados com várias patologias, tais como o DM, artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, câncer e AIDS, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987).

O organismo possui um sistema de defesa antioxidante que inclui as moléculas degradadoras de EROs, ácido úrico, ácido ascórbico, α -tocoferol, moléculas que contêm sulfidril e enzimas antioxidantes, como catalase, glutatona peroxidase (GPx) e superóxido dismutases (FREI; STOCKER; AMES, 1988). Dentre os antioxidantes biológicos de baixo peso molecular, podem ser destacados os carotenóides, a bilirrubina, a ubiquinona e o ácido úrico (BABIOR; BRAZ, 1997).

Em condições patológicas, em que a produção excessiva de EROs ultrapassa a defesa antioxidante, o estresse oxidativo pode modificar irreversivelmente macromoléculas biológicas, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídeos (DU et al., 2000).

Tem sido afirmado que os desequilíbrios nos níveis de radicais livres e EROs podem desempenhar um papel importante no aparecimento e desenvolvimento de várias patologias bucais, como por exemplo, a doença periodontal (BATTINO et al., 1999).

Os antioxidantes têm um efeito protetor sobre o periodonto. Eles neutralizam os radicais livres e espécies reativas de nitrogênio que podem causar o estresse oxidativo, o que resulta em destruição periodontal e dano tecidual excessivo. Além disso, eles trabalham reduzindo a produção de citocinas, quimiocinas e proteínas pró-inflamatórias por leucócitos, os quais são responsáveis por causar a destruição das células e outras estruturas e também promovendo o processo de cicatrização de feridas (KAUR et al., 2016).

A saliva é um fluido com vários mecanismos de defesa, tais como a defesa imunológica e enzimática. Esta tem a capacidade de proteger a mucosa oral contra insultos mecânicos através da atividade do fator de crescimento epidérmico. Além disso, mesmo depois da ingestão de alimentos, a saliva tem capacidade protetora da mucosa do trato gastrointestinal. Algumas pesquisas têm sido dedicadas ao mecanismo de defesa imunológica salivar, principalmente com base em IgA secretora e o sistema de defesa de proteína enzimática. Este é composto por lisozima e outros componentes enzimáticos, tais como, histatina, lactoferrina, proteínas ricas em prolina, mucina, etc (RAO et al., 1997).

Quando se fala de saliva como método de diagnóstico, pode-se ressaltar uma grande vantagem desse fluido quando comparada ao sangue, que é sua forma de coleta simples, segura e minimamente invasiva. (KAMODYOVÁ; CELEC, 2011) Nos dias atuais, a maioria dos componentes que podem ser medidos no sangue, podem também ser dosados na saliva. Esta última pode ser utilizada para detectar o vírus HIV e a hepatite viral, além de ser usada para o monitoramento de drogas ilícitas como canabinóides e cocaína (LEE; GARON; WONG, 2009).

Esse fluido atua como a primeira linha de defesa contra o estresse oxidativo mediada por radicais livres, sendo o processo de mastigação o responsável por promover uma variedade de tais reações, dentre elas a peroxidação lipídica (TERAO; NAGAO, 1991).

O sistema antioxidante salivar inclui várias moléculas e enzimas, sendo a mais importante o ácido úrico, que contribui com cerca de 70% do total da capacidade antioxidante da saliva. O ácido ascórbico também tem essa capacidade, assumindo um papel secundário (KONDAKOVA; LISSI; PIZARRO, 1999).

Mesmo assumindo uma função coadjuvante no sistema antioxidante da saliva, a deficiência de vitamina C pode ocasionar uma doença periodontal severa, condição chamada de "gengivite escorbútica" ou "escorbuto". Também pode ser

observada uma gengivite ulcerativa e rápida formação de bolsa periodontal com perda de inserção (WILSON, 2005).

Nesse extenso universo, que é o sistema antioxidante salivar e seus componentes, pode-se destacar a técnica de análise da capacidade antioxidante total da saliva, que engloba todos os antioxidantes salivares e vem sendo muito utilizada atualmente, pois a análise isolada de cada antioxidante exige uma maior demanda de tempo e recursos financeiros. Também se deve destacar a importância do estudo dessa propriedade salivar, pois sua deficiência pode acarretar alguns danos aos indivíduos (GONZÁLES; MARQUINA; RONDÓN, 2008).

REFERÊNCIAS

- AIRES, M.M. **Fisiologia**. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- ALBERTI K.; ZIMMET P. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v.01, p.8-16, 2015.
- BABIOR, B. M.; BRAZ. J. Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.30, n.141, 1997.
- BATTINO, M.; BULLON, P.; WILSON, M. et al. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. **Critical Review**, v.10, n.04, 1999.
- BATTINO, M.; FERREIRO, M. S.; GALLARDO, I. et al. The antioxidant capacity of saliva. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, p. 189-194, 2002.
- CAGLAYAN, F.; MILOGLU, O.; ALTUN, O. et al. Oxidative stress and myeloperoxidase levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. **Oral Diseases**, v.14, n.8, p.700-4, 2008.
- COTRAN, S. R. ; KUMAR, V. ; ROBBINS, S. L. Pâncreas. In: _____ . **Patologia básica**. 5. ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, cap.17, 1994.
- DARLEY-USMAR V.; WISEMAN H.; HALLIWELL B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. **FEBS Letters**, v.2- 3, n.369 p.131-135,1995.
- DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Sociedade Brasileira de Diabetes**. São Paulo: A C Farmacêutica, 2015
- DU, X.; EDELSTEIN, D.; ROSSETTI, L. et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.97, n.22, p.12222-12226, 2000.
- ESCANDON, C. J.; CIPOLLA, M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. **Endocrine Reviews**, v.22, n.1, p.36-52, 2001.
- GONZÁLES, D.;MARQUINA, R.; RONDÓN, N. Effects of aerobic exercise on uric acid, total antioxidant activity, oxidative stress, and nitric oxide in human saliva. **Research in sports medicine**, v.16, n.2, p.128-137, 2008.

GOTOH, S.; WATANABE, Y.; FUJIBAYASHI, T. Validity of stimulated whole saliva collection as a sialometric evaluation for diagnosing Sjogren's syndrome. **Oral Surgery, Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology**, v. 99, n.3, p. 299-302, 2005.

GREABU, M. et al. Could constitute saliva the first line of defence against oxidative stress? **Romanian Journal of Internal Medicine**, v.45, n.2, p.209-13, 2007.

GROSS J. L.; NEHME M. Detecção e tratamento das complicações crônicas do diabetes melito: Consenso da Sociedade Brasileira de Diabetes e Conselho Brasileiro de Oftalmologia. **Revista de Associação Médica Brasileira**, v. 45, n.03, p.279-24, 1999.

HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. **Lancet**, v.355, p.1179-80, 2000.

HUSAIN S.; CILLARD J.; CILLARD P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v.26, p.2489–2497, 1987.

KAMODYOVÁ, N.; CELEC, P. Salivary markers of oxidative stress and Salivette collection systems. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.49, n. 11, p. 1887-1890, 2011.

KAUR, G.; KATHARIYA, R.; BANSAL, S. et al. Dietary antioxidants and their indispensable role in periodontal health. Science Direct. **Journal of food and drug analysis**, v.24, p.239-246, 2016.

KONDAKOVA, I.; LISSI, E. A.; PIZARRO, M. Total reactive antioxidant potential in human saliva of smokers and non-smokers. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v.47, p.911-920, 1999.

LEE J.M.; GARON E.; WONG D.T.; Salivary diagnostics. **Orthodontics & Craniofacial Research**, v.12, n.3, p.206-211, 2009.

MIRICESCU, D. The antioxidant potential of saliva: clinical significance in bucal diseases. **Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology**, v.15, n.2, p.139-143, 2011.

MOORE, S. et al. Antioxidant Activity of Saliva and Periodontal Disease. **Free Radical Research**, v. 21, n. 6, p. 417–425, 1994.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical Science**, v.4, n.2, p.89-96, 2008.

PUY, C.L. The rôle of saliva in maintaining bucal health and as an aid to diagnosis. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v.11, n.5, p. 449-55, 2006.

RAO, R. K.; THOMAS, D. W.; PEPPERL, S. et al. Salivary epidermal growth factor plays a role in protection of ileal mucosal integrity. **Digestive Diseases and Sciences**. v.42, p.2175–2181, 1997.

SANTINI S.; MARRA G.; GIARDINA B. et al. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. **Diabetes**, v.46, n.11, p.1853-1858, 1997.

TERAO, J.; NAGAO, A. Antioxidative effect of human saliva on lipid peroxidation. **Agricultural Biological Chemistry**, v.55, p.869–872, 1991.

VASCONCELOS B.; NOVAES M.; SANDRINI F. et al. Prevalência das alterações da mucosa bucal em pacientes diabéticos: estudo preliminar. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.74 n.03, p.423-428, 2008.

WILSON JX. Regulation of vitamin C transport. **Annual Review Nutrition**, v. 25, n.105, 2005.

YOSHIHIRO T.; KATHY K. Reactive Oxygen Species in the Vasculature: Molecular and Cellular Mechanisms. **Hypertension**, v.42, p.1075-1108, 2003.

ZHANG, Y. et al. Evaluation of antioxidant activity of ten compounds in different tea samples by means of an on-line HPLC-DPPH assay. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 847–856, 2013.

3. ARTIGO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA SALIVA EM PACIENTES COM DIABETES TIPO II

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SALIVA IN PATIENTS WITH TYPE II DIABETES

Marília Andrade Maia Barreto, Aluna do Curso de Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil (marilia_mb_@hotmail.com).

Ingrid Carneiro Cavalcante Souto, Cirurgiã-Dentista, mestranda da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP , Ribeirão Preto, Brasil (ingrid_ccsouto@hotmail.com).

Leidilane dos Santos Mendes, Aluna do Curso de Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil (leidy_mendes23@hotmail.com).

Maria Aparecida Rocha Sousa, Aluna do Curso de Odontologia, Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil (cidinha_rs@hotmail.com).

Abrahão Alves de Oliveira Filho, Professor Doutor do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil (abrahao.farm@gmail.com).

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves, Professora Doutora do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil (angelicasatyro@hotmail.com) (**Autor Correspondente**).

RESUMO

Objetivo: analisar a capacidade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II. **Material e métodos:** O estudo foi realizado com 98 pacientes, sendo 48 diabéticos e 50 não diabéticos. Todos tinham entre 18 e 80 anos, eram de ambos os sexos, não fumantes e os pacientes do grupo diabético tinham o diabetes tipo II confirmado em seu prontuário. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos do Hospital Universitário Alcides. Para a avaliação da atividade antioxidante, foram medidas a concentração de ácido úrico salivar e a capacidade quelante do íon ferroso. Os dados foram analisados por meio do teste “t” de *student* não pareado. Foi utilizado o programa Graph Pad Prism versão 6.0 para as análises estatísticas. **Resultados:** Na análise dos níveis de ácido úrico salivar, observou-se que não houve diferença estatística em relação a esse parâmetro entre os grupos controle e diabético. Quando avaliada a atividade antioxidante total por meio da capacidade de quelar o íon ferroso na saliva, observou-se que o grupo controle apresentou um percentual significativamente maior em relação ao grupo de pacientes diabéticos. **Conclusão:** os níveis de ácido úrico salivar apresentaram-se semelhantes nos dois grupos que foram analisados (diabéticos e não diabéticos) e a capacidade quelante do íon ferroso salivar apresentou-se maior nos pacientes não diabéticos, concluindo que a presença do diabetes pode influenciar na diminuição da defesa antioxidante salivar.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus*. Saliva. Antioxidantes.

ABSTRACT

Objective: analyze the antioxidant capacity of saliva in patients with type II diabetes. Material and methods: The study was conducted with 98 patients, 50 and 48 diabetics and non-diabetics. All were between 18 and 80 years old, were of both sexes, non-smokers and patients in the diabetic group had type II diabetes confirmed in their medical records. The research project was approved by the Human Research Ethics Committee of the Alcides Candéia University Hospital. For evaluation of the antioxidant activity were measured the concentration of salivary uric acid and ferrous ion chelating capacity. The data were analyzed by means of the unpaired student "t" test. Graph Pad Prism version 6.0 was used for statistical analyzes. Results: In the analysis of salivary uric acid levels, it was observed that there was no statistical difference in relation to this parameter between the control and diabetic groups. When evaluating the total antioxidant activity through the ability to chelate the ferrous ion in saliva, It was observed that the control group presented a significantly higher percentage in relation to the group of diabetic patients. Conclusion: salivary uric acid levels were similar in both groups (diabetics and non-diabetics) Concluding that the presence of diabetes may influence the reduction of salivary antioxidant defense.

Keywords: *Diabetes mellitus*. Saliva. Antioxidants.

INTRODUÇÃO

A saliva é um fluido biológico produzido no interior das glândulas salivares. Em razão de sua complexa composição, é capaz de desempenhar funções importantes à manutenção da saúde, como por exemplo a lubrificação dos tecidos duros e moles da cavidade bucal, a ação antimicrobiana, a manutenção da integridade da mucosa, a remineralização dental, a digestão, a fonação, dentre outras¹.

A secreção salivar é um líquido aquoso que contém uma grande variedade de substâncias. Dentre estas, encontram-se as glicoproteínas, onde se destacam a mucina, molécula que confere à saliva uma propriedade viscosa, e a ptialina, que é responsável pelo início da digestão do amido na cavidade bucal. Quando a proporção de mucina é maior que a concentração de ptialina na saliva, fala-se de secreção mucosa; caso contrário, quando for maior a concentração de ptialina, fala-se de secreção serosa².

Além da ação digestiva, a saliva desempenha papel importante na manutenção hídrica dos tecidos orais. Esse fluido também previne alguns distúrbios de diversas maneiras, dentre elas, quando o fluxo salivar arrasta mecanicamente microorganismos patogênicos e detritos alimentares e também através da sua função bactericida, graças a alguns componentes, como a lisozima – uma enzima que ataca a membrana das bactérias –, a lactoferrina – que previne a multiplicação de microorganismos que necessitam de ferro para crescer – e a glicoproteína, que se liga à imunoglobulina A, sendo esta imunologicamente ativa contra vírus e microorganismos orais, principalmente bactérias responsáveis por causar a cárie dentária³.

A saliva pode ser útil na avaliação do risco de cárie e também no diagnóstico de outras doenças, utilizando métodos sialométricos (fluxo salivar) e sialoquímicos, onde determinadas substâncias podem ser dosadas e assim contribuir para o diagnóstico de doenças a partir do exame de níveis de elementos inorgânicos e orgânicos, como dosagens hormonais, pesquisa de agentes biológicos virais, bacterianos e fúngicos, além de marcadores biológicos úteis no diagnóstico e prognóstico do câncer. Ao mesmo tempo em que a saliva pode auxiliar nesses diagnósticos, esta também pode ter sua função alterada por algumas doenças, como por exemplo, o *diabetes mellitus* (DM)⁴.

O DM é uma doença que afeta o metabolismo dos carboidratos, dos lipídios e das proteínas, causada pela ausência de secreção de insulina ou por redução da sensibilidade dos tecidos à insulina. Um aspecto característico desta doença consiste na resposta secretora defeituosa ou deficiente de insulina, que se manifesta na utilização inadequada dos carboidratos⁵.

A hiperglicemia, que significa um aumento da quantidade de glicose no sangue, é o

mecanismo responsável pelo desenvolvimento do estresse oxidativo, elevando a produção de sorbitol. Esse aumento ocasiona um estresse celular que leva à diminuição das defesas antioxidantes intracelulares, além de poder ocasionar um aumento na concentração dos produtos da glicosilação avançada, alterando assim a função celular. A combinação desses mecanismos irá alterar a produção de oxidantes, causando o estresse celular e o consequente dano estrutural ⁶.

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, com a predominância dos oxidantes. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são agentes oxidantes capazes de causar vários danos em nível de membrana celular, proteínas e DNA. Todas as vezes que o estresse oxidativo é produzido, o organismo possui um mecanismo de defesa para combatê-lo, mais conhecido como sistema antioxidante, que são substâncias que, quando presentes em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regeneram o substrato ou previnem significativamente a oxidação do mesmo ^{7,8}.

Vários eventos que acontecem na cavidade bucal, como por exemplo a presença de doença periodontal, podem gerar um aumento do estresse oxidativo ^{9,10}. Fatores como a própria mastigação podem provocar o aumento desse e promover uma peroxidação lipídica ¹¹. Devido à presença de várias substâncias antioxidantes na saliva, este fluido tem um papel importante no controle e modulação dos danos oxidativos na cavidade bucal ¹².

Com o presente estudo objetivou-se analisar a capacidade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II, examinar os níveis de ácido úrico na saliva dos pacientes diabéticos e comparar ao grupo controle (não diabéticos) e medir a atividade antioxidante total da saliva por meio da capacidade quelante do íon ferroso nos grupos diabético e controle.

METODOLOGIA

Este estudo é do tipo quantitativo, transversal e experimental. Para sua execução, foram obedecidos todos os critérios prescritos pela Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde (CNS). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos do Hospital Universitário Alcides Candéa (CAAE: 57114616.2.0000.5182).

A pesquisa foi realizada nos Municípios de Patos e São José de Espinharas, que possuem, respectivamente, 107.067 e 4.659 habitantes de acordo com os dados da última

contagem populacional, são localizados no Estado da Paraíba, na mesorregião do Sertão Paraibano. O trabalho foi desenvolvido no período de agosto a dezembro de 2016.

Os grupos estudados foram pacientes atendidos pelas Unidades Básicas de Saúde dos municípios citados acima. No total, foram realizados estudos com 98 pacientes sendo 50 deles não-diabéticos, constituindo o grupo controle, e 48 diabéticos. Todos tinham entre 18 e 80 anos, eram de ambos os sexos, não fumantes. Os indivíduos do grupo diabético tinham o diabetes tipo II confirmado em seu prontuário e não possuíam nenhuma outra patologia que pudesse alterar a secreção salivar. Os pacientes foram orientados a não consumirem álcool no dia que antecedeu o estudo. Pacientes desdentados totais que não faziam uso de prótese foram excluídos da esquisa, além de mulheres gestantes.

Medida da glicose sanguínea

Para os estudos, os pacientes foram orientados a permanecerem em jejum de 08 horas. Foi realizada inicialmente a medida da glicemia capilar, utilizando glicosímetro One Touch Ultra[®] Johnson & Johnson.

Coleta da saliva

A sialometria foi feita pelo método de Navazesh modificado (“spitting”) com salivação estimulada, utilizando anéis de látex medindo 5 mm, amarrados a um fio dental para garantir segurança ao paciente, estando estes materiais devidamente esterilizados. O paciente permaneceu sentado com a cabeça levemente inclinada para baixo, deixando acumular a saliva no assoalho bucal. O mesmo foi orientado a expelir a amostra em copos descartáveis a cada sessenta segundos, durante um período de 16 minutos, sendo a amostra excretada no primeiro minuto desprezada. Foi feita a medida do volume salivar utilizando seringas descartáveis estéreis, desprezando-se a espuma. O material coletado foi enviado ao laboratório em gelo, onde, posteriormente, foram realizadas as análises salivares ¹³.

Medida do ácido úrico salivar

O ácido úrico funciona como um agente antioxidante não enzimático ^{14,15}. Foi realizada a medida da concentração deste na saliva pelo método colorimétrico uricase/4-aminoantipirina. Neste protocolo, o ácido úrico é convertido pela enzima uricase, em

alantoína e peróxido de hidrogênio, o qual sob influência catalítica da peroxidase reage com DHBS (ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno sulfonato) e 4-aminoantipirina formando o cromógeno antipirilquinonimina, de coloração vermelha, que absorve a luz em 520 nm. Para o ensaio, foi utilizado o kit para ácido úrico liquiform (Labtest) e a concentração de ácido úrico em cada amostra foi expressa em mg/dl.

Avaliação da atividade antioxidante da saliva sobre o íon ferroso (Fe²⁺)

Com o intuito de avaliar o efeito quelante do íon ferroso pela saliva, esta foi misturada com 0,05 mL de FeCl₂ (2 mM) e 0,2 mL de ferrozina (5 mM). A seguir, esta mistura foi incubada durante 10 minutos à temperatura ambiente. Após o período de incubação, a absorbância foi medida por espectrofotometria a 512 nm. O controle negativo foi feito com a utilização de FeCl₂, ferrozina e veículo, já para o controle positivo foi utilizada a solução-padrão de ácido ascórbico. A porcentagem de inibição foi determinada a partir da seguinte fórmula: % inibição = 100 x (controle – experimental) / controle positivo ¹⁶.

Análise estatística

Para a análise estatística foram empregados os testes “t” de *Student*. Diferenças entre grupos em que p < 0,05 foram consideradas significantes.

Foi utilizado o programa Graph Pad Prism versão 6.0 para as análises estatísticas.

RESULTADOS

Com o presente estudo, observou-se que 68,6% dos participantes eram do gênero feminino e 31,4% do gênero masculino. No grupo de pacientes diabéticos tipo II, 65,3% pertenciam ao gênero feminino e 34,7% ao gênero masculino. O grupo controle era composto de 66% dos indivíduos do gênero feminino e 34% do gênero masculino.

A média de idade dos pacientes diabéticos tipo II foi de 63,60 ± 1,81 anos, enquanto no grupo controle a média de idade foi de 36,10 ± 1,91 anos.

Na análise dos níveis de ácido úrico salivar observou-se que o grupo controle (1,97 ± 0,15 mg/dl, n=48) e o grupo diabético (2,26 ± 0,28 mg/dl, n=47) não apresentaram diferença estatística significativa nesse parâmetro (figura 01).

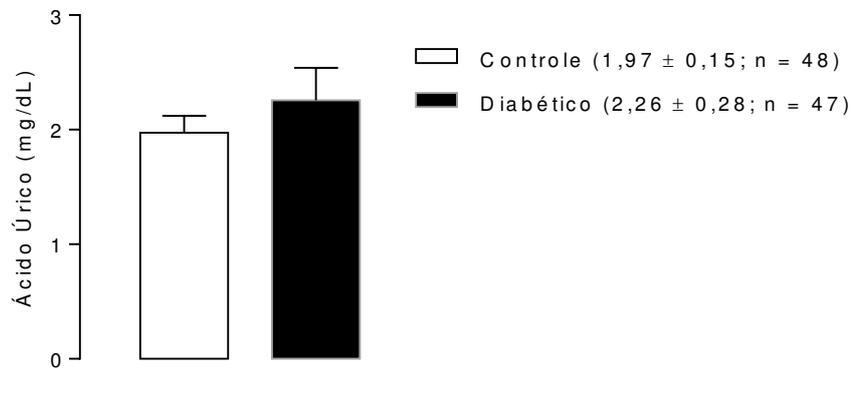


Figura 01 - Valores de ácido úrico salivar em (mg/dl) em pacientes diabéticos tipo II e pacientes do grupo controle. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Diabéticos n= 47 e controle n= 48. Foi realizado o teste “t” de *student* não pareado. (*p < 0,05 comparado ao controle).

Na análise da atividade antioxidante total da saliva, os resultados dos grupos estudados foram comparados aos do controle positivo – vitamina C (100 %). Observou-se que o grupo controle ($62,61 \pm 3,77$ %, n=38) apresentou um percentual significativamente maior de atividade antioxidante salivar em relação ao grupo diabético tipo II ($51,50 \pm 4,04$ %, n=38) (figura 02).

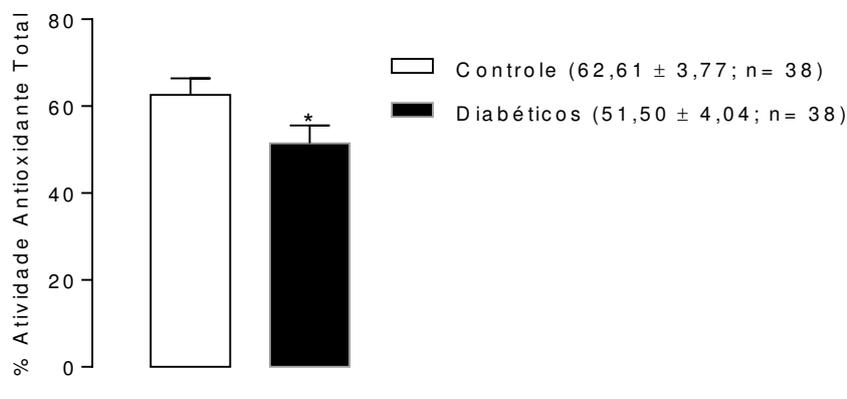


Figura 02 - Valores de atividade antioxidante total salivar frente ao íon ferroso (%) em pacientes diabéticos tipo II e pacientes do grupo controle. Os resultados foram expressos

como média \pm erro padrão da média. Diabéticos n= 38 e controle n= 38. Foi realizado o teste “t” de *student* não pareado. (*p < 0,05 comparado ao controle).

DISCUSSÃO

Os achados encontrados nesse trabalho foram que os níveis de ácido úrico salivar em pacientes diabéticos tipo II, não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao grupo controle (não diabético). Além disso, também foi avaliada a atividade antioxidante total da saliva frente ao íon ferroso, onde o grupo controle apresentou um maior valor em relação ao grupo de diabéticos tipo II. A média de idade, em anos, também foi analisada e foi observado que esta foi significativamente maior no grupo dos pacientes diabéticos tipo II.

A saliva, além de suas funções fisiológicas, pode ser considerada um fluido que pode ser mensurado, permitindo o diagnóstico de algumas patologias, ou até mesmo a extração de DNA, RNA, proteínas e a verificação de vários parâmetros do estresse oxidativo. Este fluido possui um sistema de defesa, que é o sistema de antioxidantes, composto por substâncias como ácido úrico, albumina, ácido ascórbico e enzimas antioxidantes, tornando a saliva a primeira linha de defesa na cavidade bucal contra o estresse oxidativo ¹⁷.

Dentre as várias moléculas e enzimas que constituem o sistema antioxidante da saliva, a mais importante destas é a molécula de ácido úrico, que compõe cerca de 70% deste sistema. Esta molécula é um produto final do metabolismo da purina e é produzido em sistemas de mamíferos. Além disso, exibe uma propriedade de eliminação de radicais livres e é considerada como o antioxidante mais disponível no plasma humano ^{9,18}.

O estresse oxidativo e os danos teciduais são marcas de doenças crônicas como o diabetes. A resistência ou a falta absoluta da insulina resulta no comprometimento do controle metabólico da glicemia, causando um quadro de hiperglicemia, que é considerado o fator de risco clássico para o desenvolvimento das complicações dessa doença ¹⁹.

O resultado encontrado de concentração ácido úrico salivar em pacientes diabéticos (2,26 \pm 0,28 mg/dl, n=47) não apresentou diferença estatística em relação ao grupo controle (1,97 \pm 0,15 mg/dl, n=48), o que diverge do estudo de outros autores ^{20,21} que encontraram como resultados um aumento na concentração de ácido úrico salivar de pacientes diabéticos tipo II em relação ao grupo controle, sendo justificado no estudo ²¹ pelo fato de não estar claro se o aumento da concentração de ácido úrico em doenças associadas ao estresse oxidativo, como diabetes mellitus, serem uma resposta protetora ou uma causa primária.

No diabetes, existem algumas evidências de que o dano oxidativo encontra-se aumentado, pois a elevada concentração de açúcar no organismo leva a um processo de formação de radicais livres que agirão por todo o corpo promovendo esse dano²². Na saliva, algumas alterações também podem ser observadas, como foi mostrado no presente estudo.

O diabetes tipo II pode ocorrer em crianças e adolescentes, mas, normalmente, ele inicia após os 30 anos e torna-se progressivamente mais comum com o avançar da idade. Aproximadamente 15% dos indivíduos com mais de 70 anos de idade apresentam o diabetes tipo II²³, isso explica o valor encontrado da média de idade, em anos, dos pacientes diabéticos tipo II, que foi de $63,60 \pm 1,81$ anos, enquanto no grupo controle a média de idade foi de $36,10 \pm 1,91$ anos.

A capacidade antioxidante total da saliva é a união de todos os antioxidantes presentes na cavidade oral, apresentando-se reduzida em pacientes com líquen plano, câncer bucal, diabéticos e fumantes¹².

Sobre os valores encontrados da atividade antioxidante total da saliva, houve diferença estatística entre o grupo de diabéticos tipo II ($51,50 \pm 4,04$ %, $n=38$) e o grupo controle ($62,61 \pm 3,77$ %, $n=38$), observando-se um maior número no grupo controle, o que corrobora com outros estudos^{24,25} encontrados na literatura. Um dos estudos faz uma comparação entre pacientes diabéticos e não diabéticos com e sem doença periodontal e os resultados mostram também que nos pacientes com diabetes tipo II a atividade antioxidante total é mais baixa quando comparada aos pacientes saudáveis²⁴.

A medição da capacidade antioxidante total da saliva é capaz, não apenas, de mensurar os antioxidantes totais presentes na saliva e refletir com precisão o estado dos antioxidantes totais no organismo, como também é utilizada para avaliar indiretamente a atividade dos radicais livres e do estresse oxidativo. Por isso, tamanha importância é dada ao presente estudo, pois o sistema de defesa salivar, quando modificado por doenças como o DM, perde algumas de suas capacidades, podendo oferecer prejuízos aos pacientes²⁶.

CONCLUSÃO

Os níveis de ácido úrico salivar apresentaram-se semelhantes nos dois grupos analisados (diabéticos e não diabéticos). Também foi observado que os valores da atividade antioxidante total da saliva pela capacidade de quelar o íon ferroso apresentaram um maior percentual nos pacientes não diabéticos. Mesmo que os valores de ácido úrico não tenham

demonstrado diferença estatística, os resultados referentes à atividade quelante do íon ferroso da saliva mostram que o diabetes pode influenciar na diminuição da defesa salivar.

REFERÊNCIAS

1. Puy CL. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11(5): E449-55.
2. Douglas CR. *Tratado de fisiologia: Aplicada às Ciências Médicas*. 6ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
3. Aires MM. *Fisiologia*. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
4. Gotoh S, Watanabe Y, Fujibayashi, T. Validity of stimulated whole saliva collection as a sialometric evaluation for diagnosing Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;99(3):299-302.
5. Cotran SR, Kumar V, Robbins SL. *Pâncreas*. In: _____. *Patologia básica*. 5ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
6. Escandon CJ, Cipolla M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev*. 2001;22(1):36-52.
7. Halliwell B, The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol*. 2013; 75(3): 637–644.
8. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 2008; 4(2): 89–96.
9. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):189-94.
10. Miricescu D, Greabu M, Totan A, Didilescu A, Rădulescu R. The antioxidant potential of saliva: clinical significance in bucal diseases. *Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology*. 2011; 15(2): 139-143.
11. Caglayan F, Miloglu O, Altun O, Erel O, Yılmaz AB. Oxidative stress and myeloperoxidase levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Diseases*. 2008; 14(8): 700–704.
12. Greabu M, Battino M, Mohora M, Totan A, Spinu T, Totan C, Didilescu A, Duța C. Could constitute saliva the first line of defence against oxidative stress? *Rom J Intern Med*. 2007;45(2):209-13.
13. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci*. 1993; 694: 72-77.

14. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant Activity of Saliva and Periodontal Disease. *Free Radic Res.* 1994;21(6):417-25.
15. Mussavira S, Dharmalingam M, Sukumaran BO. Salivary glucose and antioxidant defense markers in type II diabetes mellitus. *Turk J Med Sci.* 2015;45: 141-147.
16. Nehir ES, Karakaya S. Radical scavenging and iron-chelating activities of some greens used as traditional dishes in Mediterranean diet. *Int J Food Sci Nutr.* 2004;55(1):67-74
17. Yoshizawa JM, Schafer CA, Schafer JJ, Farrell JJ, Paster BJ, Wong DT. Salivary Biomarkers: Toward Future Clinical and Diagnostic Utilities. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(4): 781–791.
18. Gersch C, Palii SP, Kim KM, Angerhofer A, Johnson RJ, Henderson GN. Inactivation of nitric oxide by uric acid. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2008;27:967-78.
19. Tiwari AK, Rao JM. Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals: Present status and future prospects. *Current Science.* 2002 83(1): 30-38.
20. Al-Rawi NH. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics. *Diab Vasc Dis Res.* 2011; 8(1):22-8.
21. Zloczower M, Reznick AZ, Zouby RO, Nagler RM. Relationship of Flow Rate, Uric Acid, Peroxidase, and Superoxide Dismutase Activity Levels with Complications in Diabetic Patients: Can Saliva Be Used to Diagnose Diabetes? *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(6):765-73.
22. West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med.* 2000 ;17(3):171-80.
23. Azevedo MI, Gross JL. Aspectos especiais da dieta no tratamento do diabetes mellitus. *Rev. Assoc. Méd Bras.* 1990;34:181-186.
24. Pendyala G, Thomas B, Joshi RS. Evaluation of Total Antioxidant Capacity of Saliva in Type 2 Diabetic Patients with and without Periodontal Disease: A Case-Control Study. *N Am J Med Sci.* 2013; 5(1): 51–57.
25. Kashyap RR, Nair GR, Gogineni SB, Suchetha KN. Salivary total antioxidant capacity in type 2 diabetes mellitus patients - a clinical and biochemical study amongst tobacco smokers. *Int J Diabetes Dev Ctries.* 2011; 31(4):194-198.
26. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004 Feb;37(2):112-9.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados observados, pode-se considerar que mesmo que os dados de ácido úrico não tenham apresentado diferença estatística significativa, os resultados de atividade antioxidante total da saliva apresentaram-se maiores nos pacientes saudáveis.

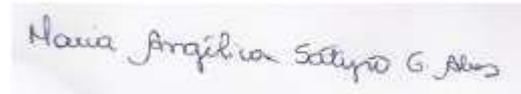
Com isso, pode-se afirmar que o diabetes pode provocar alterações na capacidade antioxidante salivar, implicando, assim, numa necessidade, cada vez maior, de atenção do cirurgião-dentista na saúde sistêmica do paciente, além da importância de repassar essa informação ao mesmo, para que a saúde bucal não seja, também, afetada.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Nome da Pesquisa: “ Avaliação da atividade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II.”

Pesquisador responsável: Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

Informações sobre a pesquisa: Esta pesquisa tem como objetivo analisar a capacidade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II. Espera-se que os resultados obtidos sirvam para levantar dados epidemiológicos e auxiliar na prevenção de doenças relacionadas ao diabetes. A pesquisa será realizada conforme preceitos éticos estabelecidos pela resolução 196/96, alterada pela resolução 466/12. Todo o material será previamente esterilizado. Em nenhuma fase do estudo o participante será identificado, não há previsão de risco físico, biológico, moral e ético.



Pesquisador responsável

Eu, _____,

portador de RG: _____, abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, concordo em participar da pesquisa, pois estou ciente de que terei de acordo com a Resolução 196/96 Cap. IV inciso IV.1 todos os meus direitos abaixo relacionados:

- A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre os procedimentos realizados antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-me em qualquer momento se assim o desejar, bem como está assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas.
- A segurança plena de que não serei identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo.

- A segurança de que não terei nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará nenhum tipo de risco, dano físico ou mesmo constrangimento moral e ético.

- A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado que poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita.

- **Riscos:** Há um risco mínimo de haver constrangimento por parte do participante da pesquisa. Poderá haver pequeno desconforto durante a realização do exame.

- **Benefícios:** Os resultados da pesquisa serão fontes de dados que proporcionarão um melhor conhecimento a respeito do diabetes e suas alterações. Assim como serão importantes para o planejamento de estratégias que visam evitar ou diminuir problemas relacionados à doença.

- A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficará sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento.

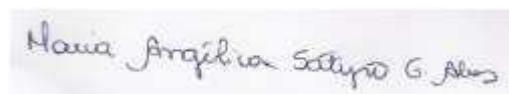
Tenho ciência do exposto acima e desejo participar da pesquisa.

Patos, _____ de _____ de _____

Assinatura do entrevistado (a)

CONTATO: Se houver qualquer dúvida sobre o estudo, você receberá maiores esclarecimentos com a coordenadora, Maria Angélica Sátyro Gomes Alves, telefone: (83) 8717-5915 ou pelo e-mail: angelicasatyro@hotmail.com.

Atenciosamente,



Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B – FÓRMULÁRIO PARA ENTREVISTA E COLETA DE DADOS

Nome: _____ Nº: _____

Idade: _____ Sexo: () M () F

Diabético: () S () N

Tipo de diabetes:

() Tipo I () Tipo II () Outro

Tempo decorrido da descoberta da doença: _____

Outras Patologias? () S () N

Qual(is)?

Faz uso de medicamentos? () S () N

Quais? _____

Tem acompanhamento médico? () S () N

Qual a frequência?

Tem acompanhamento odontológico? () S () N

Qual a frequência?

Tem alguma queixa odontológica relacionada ao diabetes? () S () N

Quais? _____

Dados da coleta Glicemia capilar: _____

ANEXO A – TERMO DE RESPONSABILIDADE DO ORIENTADOR



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

TERMO DE RESPONSABILIDADE DO ORIENTADOR

Por este termo de responsabilidade, assumo a orientação da aluna Marília Andrade Maia Barreto no desenvolvimento do projeto intitulado “Avaliação da atividade antioxidante da saliva em pacientes com diabetes tipo II” aprovado no edital PIVIC 5 /2016 PIVIC/CNPq-UFCG.

Patos, 06 de agosto de 2016

Prof^a Dr^a Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

Orientadora

ANEXO B – PARECER DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da atividade antioxidante na saliva de pacientes com diabetes tipo II

Pesquisador Responsável: Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 57114616,2,0000,5182

Submetido em: 17/06/2016

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Situação da Versão do Projeto: Aprovado

Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio



Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_721044

ANEXO C – NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

A RBCS não cobra taxas para publicação de nenhum tipo. A produção do periódico é apoiada integralmente pelo Centro de Ciências da Saúde da UFPB, sendo, portanto, sem custo para os autores.

A Revista Brasileira de Ciências da Saúde - RBCS é uma publicação científica dirigida à produção acadêmica, na área de Ciências da Saúde. Publica, preferencialmente, estudos científicos inseridos na realidade brasileira, em língua portuguesa, e divulga contribuições visando a melhoria da qualidade do Ensino, da Investigação Científica e da Assistência à Saúde no Brasil. Atualmente está indexada na Base Lilacs/BVS.

Poderão ser submetidos para avaliação, artigos para publicação nas seguintes seções:

- a) Pesquisa,
- b) Revisões, (submissões suspensas a partir de 25 de maio de 2015)
- c) Relato de Caso e Relato de Experiência (submissões suspensas a partir de 25 de maio de 2015)
- d) Ensino,
- e) Metodologia,
- f) Carta ao Editor.

Todo trabalho recebe no ato da submissão um número de identificação (ID) que deve ser usado nas consultas ao Editor, no assunto da mensagem e do título de cada documento enviado para a Revista.

Independente da secção é necessário anexar os seguintes documentos:

1. Carta de Transferência de Direitos Autorais assinada por todos os autores. (conforme modelo);
2. Cópia do Parecer do CEP (quando for o caso);
3. Lista de Autores e Afiliação (Nomes completos, sem abreviaturas. Deve estar na ordem a ser usada na publicação.

Afiliação: Indicar o vínculo profissional detalhando função/cargo, Programa, Departamento e Instituição com Cidade, Estado e País.

4. Endereço postal completo do autor a ser indicado como contato na publicação. (Rua, número, complemento, Bairro, Cidade, Estado, País e CEP, bem como endereço eletrônico (email).

5. Declaração de Conflitos de Interesse assinada por todos os autores (conforme modelo);

MODELO DE DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Ao Editor Científico da Revista Brasileira de Ciências da Saúde
Declaração de Conflitos de Interesse

Eu, Nós (nome (nomes) por extenso), autor (es) do manuscrito intitulado (título), declaro (amos) que possuo (imos) () ou não possuo (imos) () conflito de interesse de ordem:

- () financeiro,
- () comercial,
- () político,
- () acadêmico e,
- () pessoal,

Declaro (amos) também que o apoio financeiro e (ou) material recebido para o desenvolvimento deste trabalho estão claramente informados no texto. As relações de qualquer tipo que possam levar a conflito de interesse estão completamente manifestadas abaixo.

Local, data:

....., de de 201...

Autores: (nomes e assinaturas)

Aspectos Éticos:

Todo artigo que envolver indivíduos humanos deve vir acompanhado de Cópia de Parecer de Comitê de Ética em Pesquisa - CEP. Não deve ser usado nome do paciente, iniciais, números de registros, inclusive registro hospitalar, no texto e em nenhuma ilustração.

Artigos envolvendo experimentação animal devem explicitar que estão de acordo com a legislação internacional ou normas nacionais e da instituição para de uso de animais em pesquisa.

Seções

Pesquisa: Esta seção consta de artigos inéditos, contribuições originais resultante de observações experimentais, de estudos de natureza epidemiológica, ou outros, representando novos resultados ou o progresso nos diversos campos das Ciências da Saúde. Os artigos enviados para esta seção terão prioridade sobre os demais. Esta seção está formalmente dividida nos seguintes itens: Introdução, Metodologia, Resultados, Discussão, Conclusão, Referências, além de Resumo e Abstract.

Itens da seção Pesquisa

Introdução: Neste item são caracterizados, de modo sumário, o problema estudado, as hipóteses levantadas, a importância do estudo e os objetivos.

Metodologia: Descrição da amostra e processo de amostragem, especificando o número de observações, variáveis, métodos de averiguação e de análise estatística dos dados.

Resultados: A apresentação dos resultados deve ser de maneira sequencial e racional, usar tabelas, quadros e figuras (ilustrações/gráficos). As ilustrações devem ser inseridas no texto submetido.

Discussão: Os resultados mais importantes devem ser analisados criticamente, interpretados e quando for possível, comparados com dados semelhantes aos da literatura. Informações citadas nos itens anteriores só devem ser mencionadas quando absolutamente necessárias.

Conclusão: As conclusões devem responder de modo sucinto e direto aos objetivos propostos. Recomendações quando apropriadas podem ser incluídas no final deste item.

Dimensões

O texto completo (título, autores, resumo, abstract, corpo do trabalho com figuras e

referencias) deve estar contido em 15 páginas, digitadas em word com margens de 2,5, espaço 1,5 e fonte arial 11.

Julgamento

Todo artigo submetido à Revista será primeiramente apreciado pela Comissão Editorial nos seus aspectos gerais e normativos. Havendo alguma irregularidade será devolvido aos autores para correção, não havendo, será encaminhado aos consultores externos para apreciação especializada do conteúdo. Os pareceres dos consultores serão encaminhados aos respectivos autores para eventuais ajustes. Excepcionalmente quando se tratar de assunto muito especializado, os autores poderão sugerir, à Comissão Editorial da Revista, dois consultores com reconhecimento nacional ou internacional e que sejam externos às suas respectivas instituições.

Resumo e Abstract: O Resumo/Abstract deverá, obrigatoriamente, ser estruturado, isto é, ser subdividido nos seguintes itens descritos como necessários para cada seção, como por exemplo: Pesquisa: Objetivo, Metodologia, Resultados e Conclusão, descritos, de modo claro e objetivo. O Resumo/Abstract deve ser escrito em espaço simples, sem parágrafos, citações bibliográficas ou notas e ter entre 200 e 250 palavras.

Descritores e Descriptors: A base de escolha dos Descritores poderá ser a área e sub-área de trabalho originadas a partir do título, tipo de abordagem e tipo de resultado, os mais relevantes para indexação. A escolha dos Descritores deverá seguir, obrigatoriamente, o DeCS (Descritores de Ciências da Saúde) da BIREME, o qual poderá ser acessado na Internet, através do site www.bireme.org ou www.bireme.br O número mínimo obrigatório de Descritores será de três e o máximo de seis, podendo ou não colocar qualificadores de cada descritor.

Agradecimentos: Quando houver este item, deve ser reservado para citação de pessoas que prestaram ajuda técnica, mas que não foram caracterizadas como co-autoras, ou instituições financiadoras e de apoio material.

Figuras: São consideradas Figuras todas as ilustrações do tipo fotografias, gráficos,

mapas, desenhos profissionais etc. As Figuras e seus títulos devem ser inseridos no texto submetido, no local definido pelo autor. Devem ser numeradas em algarismos arábicos, de modo consecutivo na ordem em que aparecerem no texto. Fotografias do rosto ou do corpo inteiro de pacientes quando indispensáveis devem vir acompanhadas de permissão por escrito do paciente ou do seu responsável legal, além do Parecer da Comitê de ética em Pesquisa. Como norma do periódico, apenas fotos inéditas, não publicadas, serão aceitas como ilustrações. Quando forem usados números, letras e setas nas ilustrações, estas devem ser mencionadas devidamente no título das mesmas. Os títulos das Figuras devem ser, também, auto-explicativos. Os gráficos devem ser apresentados sempre referidos em função de eixos cartesianos.

Citação Bibliográfica: O sistema de citação adotado é o numérico, isto é, uma numeração única, consecutiva, em algarismos arábicos, sobrescrita em relação ao texto, e que remetendo à relação de referências ao final do trabalho.

Exemplos de citação numérica: Atenção: Números sobrescritos ao texto.
 Esta condição é influenciada pela idade¹¹ - (uma referência)
 Esta condição é influenciada pela idade^{11,12} - (duas referências consecutivas)
 Esta condição é influenciada pela idade^{11,13} - (duas referências não consecutivas)
 Esta condição é influenciada pela idade¹¹⁻¹³ - (mais de duas referências consecutivas)

Em casos específicos poderá ser usada a citação do autor.

Referências Bibliográficas: Usar entre 20 e 30 referências.

As referências devem ser normalizadas com base no estilo conhecido como Normas de "Vancouver", o Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication, ordenadas por ordem de entrada e numeradas.

Para publicações com até seis autores, todos devem ser citados; quando estiver acima de seis, somente citar os seis primeiros, acrescido da expressão "et al".