

Análise bioquímica do fluido salivar de indivíduos portadores de doença periodontal

Biochemical analysis of saliva of subjects with periodontal disease

Mônica Erthal SCHÜTZEMBERGER*

Regina Teixeira SOUZA*

Romina Eulálio PETRUCCI*

Mariângela NAVAL MACHADO**

Vula PAPALEXIOU***

João Armando BRANCHER****

Endereço para correspondência:

João Armando Brancher

Rua Professor Pedro Viriato P. de Souza, 2.664 – ap. 81B – Mossunguê

Curitiba – PR – CEP 81200-100

E-mail: brancher.a@pucpr.br

* Acadêmicas do curso de Odontologia da PUC-PR.

** Professora adjunta da disciplina de Periodontia da PUC-PR. Doutora em Periodontia.

*** Professora adjunta da disciplina de Periodontia da PUC-PR. Doutora em Periodontia.

**** Professor-assistente da disciplina de Bioquímica da PUC-PR. Mestre em Bioquímica.

Recebido em 27/2/07. Aceito em 2/4/07.

Palavras-chave:

fluxo salivar; uréia;
doença periodontal.

Resumo

A doença periodontal está associada ao acúmulo local de biofilme. É uma infecção de origem microbiana que, além da destruição de tecidos periodontais, formação de cálculo dentário e perda de dentes, provoca doenças sistêmicas. A saliva é um fluido de origem glandular que recobre as superfícies bucais e possui propriedades físico-químicas extremamente variadas. O objetivo deste estudo foi avaliar se a doença periodontal é capaz de induzir alterações na composição do fluido salivar. Participaram da pesquisa 40 indivíduos, divididos em dois grupos de 20 pessoas: grupo-controle (GC n = 20) e grupo-teste (GT n = 20); neste as pessoas eram portadoras de doença periodontal. Avaliaram-se os seguintes parâmetros salivares: capacidade de tamponamento salivar, velocidade do fluxo salivar, pH, concentrações de cálcio, uréia e proteínas totais. Os valores médios e o desvio-padrão obtidos foram: pH – GC 7,43 (\pm 0,62), GT 8,1 (\pm 0,49); fluxo salivar – GC 1,21 (\pm 0,23), GT 1,01 (\pm 0,75); cálcio – GC 4,7 (\pm 1,2), GT 5,4 (\pm 0,85); uréia – GC 30,7 (\pm 9,6), GT 38,6 (\pm 19,9); proteínas totais – GC 355,5 (\pm 256,7), GT 299,2 (\pm 132,4). Observou-se uma elevação significativa

na quantidade de uréia e cálcio na saliva dos indivíduos portadores de doença periodontal. No entanto a quantidade de proteínas totais na sua saliva diminuiu, sugerindo uma mudança na microbiota bucal. O pH salivar dos portadores de doença periodontal é ligeiramente maior do que o do GT. Fluxo salivar e capacidade de tamponamento salivar foram considerados normais em ambos os grupos.

Keywords:

salivary flow; urea; periodontal disease.

Abstract

The most common diseases of periodontal tissues are inflammatory processes of gum and insertion of teeth normality associated to the local accumulation of teeth biofilm. The objective of this search is evaluating if the periodontal diseases are able to induce qualitative and quantitative alteration in saliva of subjects with periodontal diseases. Forty subjects, divided in 2 groups of 20, being one the control group (CG) and the other the test group (TG), based on age and sex were evaluated. There were analyzed the following salivary parameters: capacity of buffer, salivary flow speed, pH, calcium, urea and total proteins concentrations. The medium values and standard directions were: pH: CG 7.43 (\pm 0.62), TG 8.1 (\pm 0.49); salivary flow CG 1.21 (\pm 0.23); TG 1.01 (\pm 0.75); calcium CG 4.7 (\pm 1.2), TG 5.4 (\pm 0.85); urea CG 30.7 (\pm 9.6), TG 38.6 (\pm 19.9); total proteins CG 355.5 (\pm 256.7), TG 299.2 (\pm 132.4). Significant rise in the amount of urea and calcium in the saliva of the periodontal disease individuals was observed whereas the amount of total proteins in the saliva of these individuals diminished, suggesting a change in microbiota. Salivary pH in the individuals of the TG is slightly higher of that of the CG. Salivary flow and capacity of buffer have been considered normal in both groups.

Introdução

As doenças mais comuns dos tecidos periodontais são processos inflamatórios da gengiva e do periodonto de sustentação do dente. Entre elas, destacam-se as infecções microbianas associadas ao acúmulo local de biofilme [11].

As condições patológicas que mais afetam o periodonto são a gengivite e a periodontite. A gengivite é um processo inflamatório da gengiva, no qual o epitélio juncional, ainda que alterado pela doença, está próximo à ou na junção cimento-esmalte, aderido ao dente. Na periodontite ocorre a destruição do ligamento periodontal, do cimento e do osso alveolar, os quais conferem sustentação ao dente. Isso está associado à migração apical do epitélio juncional em direção ao apice radicular. Portanto, por definição, a periodontite acontece quando o epitélio juncional migra apicalmente da junção cimento-esmalte para a raiz [11, 15].

Vários sistemas de classificação foram desenvolvidos para organizar e denominar as condições patológicas que afetam os tecidos periodontais. Atualmente, os sistemas de

classificação para doenças periodontais consideram a aparência clínica e radiográfica dos dentes, assim como a saúde sistêmica e as condições patológicas do paciente [11].

A Academia Americana de Periodontologia (AAP) [1] adotou, em 1999, a seguinte classificação para as doenças periodontais:

- I – Doenças gengivais;
- II – Periodontite crônica;
- III – Periodontite agressiva;
- IV – Periodontite como manifestação de doença sistêmica;
- V – Doenças periodontais necrosantes;
- VI – Abscessos do periodonto;
- VII – Periodontite associada a lesões endodônticas;
- VIII – Condições e deformidades de desenvolvimento ou adquiridas.

É importante destacar que as doenças periodontais são infecções de origem microbiana que, além da destruição de tecidos periodontais, formação de cálculo dentário e perda de dentes, produzem alterações significativas no ambiente bucal, como o aumento de bactérias anaeróbicas ou aeróbicas facultativas [16]. Pode haver

também o agravamento da situação, porque a infecção bacteriana, em alguns casos, não está limitada ao ambiente bucal, acarretando efeitos sistêmicos [5].

A saliva é um fluido de origem glandular que recobre as superfícies bucais e possui propriedades físico-químicas extremamente variadas. A secreção salivar é induzida por estímulos psíquicos, mecânicos, físicos, químicos e biológicos, e o fluxo salivar estimulado varia de 1,0 a 1,5 mL/min [14]. A composição salivar também é muito diferenciada e inclui íons como cálcio, fosfato, bicarbonato, fluoreto, sódio e potássio, substâncias orgânicas como glicoproteínas, enzimas digestivas, glicose e uréia, além de restos alimentares, microrganismos, produtos do metabolismo bacteriano, células que descamam do epitélio oral, muco da cavidade nasal e da faringe, fluido transudato da mucosa e exsudato dos sulcos gengivais [9, 27].

Entre as funções da saliva, destacam-se as de limpeza, proteção e manutenção do pH bucal. Essa última é denominada de capacidade de tamponamento salivar (CTS) e mantém o pH bucal em 6,8. Qualquer alteração nos níveis de pH para baixo ou para cima é prontamente neutralizada pelos sistemas de tamponamento salivares [8].

Os mais importantes elementos inorgânicos da saliva são: cloreto (geralmente tem uma taxa inferior à do plasma sanguíneo e varia em relação proporcional à taxa de fluxo salivar. Sua principal função é osmorreguladora), bicarbonato (varia segundo o fluxo salivar e, às vezes, pode exceder a taxa do plasma. Provém do metabolismo da glândula ou da transferência em troca com cloro, pelo menos nas porções mais distais do túbulo; além disso, atua como osmorregulador e, no sistema-tampão salivar, atinge uma concentração superior à do plasma e não depende da taxa do fluxo salivar), fosfato (participa do processo de remineralização no sistema-tampão e é um osmorregulador. Atinge uma concentração superior à do plasma sem depender da taxa de fluxo salivar), iodeto (alcança altas concentrações, de 100 a 200 vezes se comparado ao plasma), fluoreto (previne a cárie dentária), sódio (depende diretamente do fluxo salivar, é osmorregulador e participa no transporte ativo de componentes por meio da membrana celular), potássio (possui taxa

superior à do plasma e tem funções semelhantes às do sódio), cálcio (depende do fluxo salivar, é ativador de determinadas enzimas e atua na remineralização do esmalte) [7, 27].

O uso da saliva como método de diagnóstico avançou exponencialmente nos últimos 10 anos. A literatura contém mais de 2.000 artigos referentes a testes salivares realizados desde 1982, descrevendo o uso de saliva total a fim de monitorar doenças sistêmicas e bucais [25].

A vantagem principal da utilização do fluido salivar para o diagnóstico em substituição ao sangue é o acesso fácil à boca, com coleta não-invasiva.

Em 1984, Stuchell *et al.* [26] empregaram sialometria e sialoquímica em pacientes portadores da síndrome de Sjögren (SS) e concluíram que a sialoquímica é um método valioso de diagnóstico da doença, além de servir para o acompanhamento longitudinal dos pacientes. Os portadores da SS tinham maior concentração de sódio, cloro, proteínas totais, imunoglobulina G, imunoglobulina A, lactoferrina e albumina e menores taxas de fosfato e amilase. A velocidade do fluxo salivar apresentou-se diminuída nos portadores da SS.

Estudos demonstraram que existe correlação entre a concentração de cálcio salivar e doenças periodontais. Indivíduos com elevada concentração de cálcio salivar são afetados por periodontite [22], entretanto existe a relação inversa: apesar de haver a periodontite, pessoas que possuem alta taxa de cálcio salivar podem ter dentes intactos, ou seja, sem cáries [2].

Em 1922, Hensch e Aldrich [12] propuseram que a quantificação da uréia na saliva poderia ser utilizada como teste-diagnóstico de insuficiência renal, hipótese essa contestada por Stealy [24]. No entanto sabe-se que em pacientes acometidos de insuficiência renal o componente que aumenta na saliva é a uréia [6]. O nitrogênio uréico varia com a ingestão protéica, porque o nitrogênio liberado durante a degradação de proteína e aminoácidos é quase totalmente convertido em uréia. A uréia produzida tem dois destinos possíveis: ou é degradada por bactérias intestinais e excretada pelo rim ou é acumulada na água do organismo [20]. A uréia salivar é excretada especialmente pelo túbulo intralobular estriado das glândulas salivares [7] e contribui

para a elevação do pH bucal, o que causa a doença periodontal [16].

O objetivo deste estudo foi avaliar se a doença periodontal é capaz de induzir alterações na concentração de uréia, proteínas totais, pH, capacidade de tamponamento, cálcio e fluxo salivar na saliva dos indivíduos portadores da doença.

Materiais e métodos

Esta pesquisa foi iniciada após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR), sob o registro número 606. Neste estudo foram avaliados 40 indivíduos de ambos os sexos, na faixa etária de 20 a 35 anos, divididos em dois grupos. O primeiro, denominado grupo-teste (GT), foi composto de 20 pessoas atendidas na Clínica de Periodontia da PUC-PR, diagnosticadas como portadoras de doença periodontal crônica segundo os critérios da AAP [1].

O segundo grupo, chamado de controle (GC), foi constituído por 20 indivíduos voluntários, estudantes do curso de Odontologia, pareados em sexo e idade com o GT. Eles também foram submetidos à anamnese e ao exame clínico.

Após explicação completa e pormenorizada sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais de risco e o incômodo que a metodologia poderia acarretar, os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando a participação voluntária no experimento.

As amostras de saliva total foram obtidas pelo método de coleta *spitting*, segundo a técnica preconizada por Navazesh [19]. O voluntário mastigou continuamente, durante 6 min, um pedaço de látex estéril padronizado de 1 cm. O tempo foi controlado por meio de um cronômetro. Toda a saliva produzida durante o primeiro minuto de estimulação foi desprezada, e pediu-se para o indivíduo expeli-la ou degluti-la. Durante os 5 min subseqüentes, o participante continuou a mascar o látex e a expelir toda a saliva produzida num coletor universal estéril previamente numerado e pesado [10, 18].

As amostras de saliva foram acondicionadas em um recipiente de isopor contendo gelo no seu interior e encaminhadas imediatamente ao Laboratório de Bioquímica da PUC-PR, para análise volumétrica e bioquímica.

Mensurou-se o pH salivar com o auxílio de um potenciômetro. Esse aparelho possui um eletrodo de vidro com HCl 0,1 N, um eletrodo de calomelano e um sistema de medida de voltagem. O eletrodo de vidro foi imerso na solução salivar; o seu contato com a referida solução provoca uma diferença de potencial entre os eletrodos diretamente proporcional à concentração de íons hidrogênio na saliva. Tal valor é expresso como pH. No intervalo de cada medição, o bulbo de vidro do potenciômetro foi lavado com água destilada e secado com gaze a fim de evitar possíveis distorções na leitura.

Para a determinação da CTS, utilizou-se a técnica descrita por Aranha [2] e procedeu-se à titulometria, medindo-se o volume de ácido láctico 0,1 N necessário para baixar o pH salivar até 3,9.

Na avaliação sialoquímica da saliva foram empregados testes colorimétricos enzimáticos da Labtest Diagnóstica® e Wiener Lab®, seguindo-se as recomendações preconizadas pelo fabricante para preparo bioquímico das amostras. Os testes sialoquímicos foram realizados em triplicata para cada amostra de saliva.

Resultados

Examinaram-se 40 indivíduos (20 homens e 20 mulheres), pareados em idade e sexo. Os valores obtidos para cada variável estão sumarizados na tabela I. A taxa de secreção salivar entre os grupos é similar, sendo, respectivamente, 1,01 (\pm 0,75) e 1,21 (\pm 0,23) para o grupo-teste e o controle. Os valores médios e o desvio-padrão de cálcio e uréia das amostras de saliva foram, respectivamente, 4,7 mg/dL (\pm 1,2) e 5,4 mg/dL (\pm 0,85) para o GC e 30,7 mg/dL (\pm 9,6) e 38,6 mg/dL (\pm 19,9) para o GT, conforme ilustra a figura 1. Esses resultados revelam que a concentração de cálcio e uréia na saliva dos portadores de doença periodontal é mais alta do que nos indivíduos saudáveis. Contrapondo-se a tais dados, a taxa de proteínas totais na saliva dos indivíduos do GC foi maior do que no GT (figura 2).

Em ambos os grupos o volume de ácido láctico utilizado foi maior do que 1 mL, indicando que a CTS é normal tanto nas pessoas saudáveis quanto nas que possuem a doença.

Tabela I - Estatística descritiva do estudo

Variável	Grupo	Quantidade	Valor mínimo (mL/min)	Valor máximo (mL/min)	Média (mL/min)	Mediana (mL/min)	Desvio-padrão
pH	Teste	20	7,4	9,1	8,1	7,4	0,49
	Controle	20	6,3	8,4	7,4	8,1	0,62
Fluxo salivar	Teste	20	0,07	3,2	1,01	1,01	0,75
	Controle	20	0,76	1,5	1,21	1,21	0,23
Uréia	Teste	20	14,8	96,0	38,6	33,24	19,98
	Controle	20	16,1	54,2	30,75	28,97	9,63
Proteínas totais	Teste	20	130	660	299,25	325	132,41
	Controle	20	20	860	355,5	325	256,79
Cálcio	Teste	20	4	6,8	5,49	5,55	0,85
	Controle	20	2,1	7,36	4,77	4,79	1,29

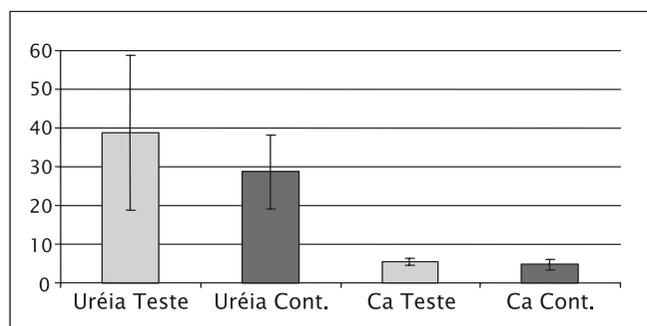


Figura 1 - Distribuição dos valores da concentração do cálcio e uréia salivar segundo os grupos

Obs.: Os valores são dados em mg/dL

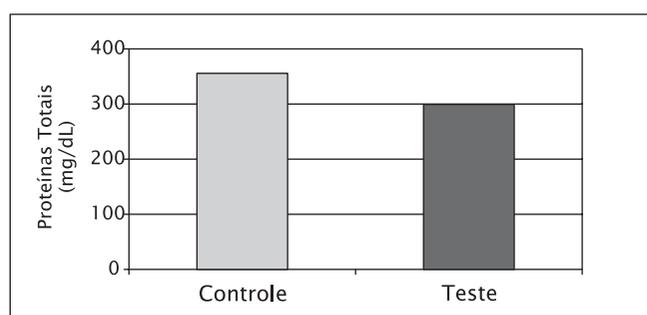


Figura 2 - Distribuição dos valores da concentração de proteínas salivares totais segundo os grupos

Discussão

A CTS é considerada um fator endógeno importante contra a cárie dental e a doença periodontal. De acordo com Aranha [2], o indivíduo é resistente à cárie dentária quando o volume de ácido láctico gasto para diminuir o pH salivar para 3,9 é maior do que 1 mL. Neste estudo, todas as amostras de saliva receberam mais do que 1 mL de ácido láctico 0,1 N, demonstrando uma boa capacidade de tamponamento. Não houve diferença estatística

significativa na capacidade de tamponamento e no fluxo salivar de ambos os grupos, porém o pH salivar do GT foi maior do que o do GC.

Na prática clínica a sialometria é indicada como parte do exame inicial de um paciente, durante a avaliação de um tratamento profilático terapêutico e como parte dos procedimentos de diagnóstico de hipossalivação. O fluxo salivar estimulado varia de 1,0 a 1,5 mL [14], e nesta pesquisa os resultados obtidos são considerados normais. Não há correlação entre fluxo salivar e pH da saliva, uma vez que no GT o pH salivar se apresentou com um índice mais alto mesmo com uma secreção salivar menor.

As proteínas salivares são importantes para a proteção das estruturas bucais e fornecem superfícies receptoras para adesão de bactérias [21]. A uréia, um produto do metabolismo de substâncias nitrogenadas, especialmente as proteínas, é secretada na saliva em concentrações que vão de 12 a 24 mg/dL [4]. Em pacientes com doenças renais o índice de uréia é mais elevado [23]. Quando o biofilme bacteriano é exposto a carboidratos fermentáveis, as bactérias o convertem em vários ácidos, causando uma queda no pH bucal [6]. Neste trabalho o pH salivar dos indivíduos do GT é consideravelmente mais alto do que o do GC, sugerindo uma mudança na microbiota bucal com predomínio de bactérias que utilizam proteínas e uréia como fonte de nitrogênio, uma vez que houve um decréscimo acentuado na concentração de proteínas totais da saliva dos portadores de doença periodontal: 299,25 mg/dL contra 355,5 mg/dL na saliva dos indivíduos saudáveis.

A uréia presente na cavidade bucal é degradada pelas ureases produzidas pela microbiota, o que resulta na produção de amônia, contribuindo para a elevação do pH bucal - fator essencial na formação do cálculo dentário [6]. Nesta pesquisa a

concentração de uréia salivar foi mais elevada no GT (38,6 mg/dL) do que no GC (30,7 mg/dL), o que pode justificar a elevação do pH bucal nos indivíduos com a doença periodontal para 8,15.

Altos níveis de uréia estão também associados à diminuição da percepção do paladar, à dor, à formação de petéquias e equimoses [13]. Larato [17] observou irritação na mucosa bucal que resultou em estomatite e glossite.

O cálculo dentário é resultado da calcificação do biofilme. Para que exista efetivamente a mineralização do biofilme bacteriano, é necessária a precipitação de cristais de cálcio e fosfato sobre a superfície amolecida do biofilme, o que é favorecido pelo aumento do pH bucal. Neste trabalho notou-se um aumento do cálcio salivar nos indivíduos com doença periodontal, possibilitando a formação do cristal sobre o esmalte, resultado que confirmou os dados de Sewon *et al.* [22]. Segundo esses autores, a análise do cálcio salivar pode ser utilizada para o diagnóstico de doença periodontal.

Conclusão

Observou-se uma elevação significativa na quantidade de uréia e cálcio na saliva dos indivíduos portadores de doença periodontal, enquanto a taxa de proteínas totais na saliva deles diminuiu, sugerindo uma mudança na microbiota bucal. O pH salivar dos portadores de doença periodontal é ligeiramente maior do que nos indivíduos do grupo-teste. O fluxo salivar e a capacidade de tamponamento salivar foram considerados normais em ambos os grupos.

Referências

1. American Academy of Periodontology (AAP). International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 1999 Dec;4(1).
2. Aranha FL. Bioquímica odontológica. São Paulo: Sarvier; 1996. p. 102.
3. Ashley FP. Calcium and phosphorous concentrations of dental plaque related to dental caries in 11 to 114 year old male subjects. *Caries Res.* 1975;9:351-62.
4. Banderas-Tarabay JA. Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. *Salud Publica Mex.* 1997;39(5):433-41.

5. Craig RG, Spittle MA, Levin NW. Importance of periodontal disease in the kidney patient. *Blood Purification.* 2002;20:113-9.
6. Dibdin GH, Dawes C. A mathematical model of the influence of salivary urea on the pH of fasted dental plaque and on the changes occurring during a cariogenic challenge. *Caries Res.* 1998;32:70-4.
7. Douglas CR. Patofisiologia oral: Fisiologia normal e patológica aplicada a odontologia e fonoaudiologia. São Paulo: Pancast; 1998. p. 17-38.
8. Epstein JB, Scully C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J Can Dental Association.* 1992;58(3):217-21.
9. Ericson T, Makinen KK. Saliva – Formação, composição e possível função. In: Thysltrup A, Fejerskov O. Tratado de cariologia. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1988. p. 16-9.
10. Franco F. A relação entre transplantados renais comparados a insuficientes renais crônicos e indivíduos saudáveis verificando condições de saliva, dentes e mucosas bucais. [Tese – Doutorado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul; 2004.
11. Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW. Periodontia contemporânea. 3. ed. São Paulo: Santos; 1999. p. 63-80.
12. Hench PS, Aldrich M. A salivary index to renal function. *J American Association.* 1922 Jul;81:1.977-2.003.
13. Jin Y, Yip HK. Supragingival calculus: Formation and control. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(5):426-41.
14. Khocht A. Periodontitis associated with chronic renal failure: A case report. *J Periodontology.* 1996;67:1.206-9.
15. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology.* 2001;25:8-20.
16. Kinane DF, Lindhe J. Pathogenesis of periodontal diseases. In: Lindhe J. Textbook of periodontology. Copenhagen; 1997.

17. Larato DC. Uremic stomatitis: Report of a case. *J Peridontol.* 1975;46:731-3.
18. Lima AAS. Avaliação sialométrica e sialoquímica de indivíduos submetidos à radioterapia da região de cabeça e pescoço. [Tese - Doutorado]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 1999.
19. Navazesh M. Comparison of whole saliva flow rates and mucin concentrations in healthy Caucasian young and aged adults. *J Dental Res.* 1992;71(6):1.275-8.
20. Riella MC, Pecoits Filho R. Insuficiência renal crônica: Fisiopatologia da uremia. In: Riella MC. Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988. 559 p.
21. Ruhl SA, Rayment G, Schmalz KA, Troxler RF. Proteins in whole saliva during the first year of infancy. *J Dent Res.* 2005;84(1):29-34.
22. Sewon LA, Karjalainn SM, Soderling E, Lapinleimu H, Simell O. Associations between salivary calcium and oral health. *J Clinical Periodontology.* 1998;25:915-9.
23. Shannon IL et al. Human parotid saliva urea in renal failure and during dialysis. *Arch Oral Biol.* 1977 Apr;22:83-6.
24. Stealy CL. The clinical value of the salivary urea index. *J Lab Clin Med.* 1928;14:162-5.
25. Streckfus CF, Bigler LR. Salivary glands and saliva: Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Diseases.* 2002;8(3):69-76.
26. Stuchell RN, Mandel ID, Baurmash H. Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. *Journal Oral Pathology.* 1984;13:303-9.
27. Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia clínica.* 3. ed. São Paulo: Livraria Santos; 2001.



LOJA: CENTRO

fores: (41) 232.1022 / 222.8324 - fax: 222.4158
Al. Dr. Muricy, 336 - Centro - Curitiba-PR - CEP 80010-120
e-mail: perboni@matrix.com.br

Loja: Água Verde

fone/fax: 41 343.8374
Av. República Argentina, 995 - sl. 01 - Galeria Usina do Corpo
Água Verde - Curitiba-PR - 80.620-010