

ALINE LAURIA PIRES

**ESTUDO DO PERFIL SALIVAR E SÉRICO EM
GESTANTES E NÃO-GESTANTES**

Brasília

2008

ALINE LAURIA PIRES

**ESTUDO DO PERFIL SALIVAR E SÉRICO EM
GESTANTES E NÃO-GESTANTES**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obter o título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Área de Concentração: Saliva

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Soraya Coelho Leal

Brasília

2008

Aos meus pais, José Augusto e Liana,
alicerces de minha vida, pelo carinho e
confiança que sempre em mim
depositaram.

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Soraya Coelho Leal, amiga e orientadora, que despertou em mim o interesse pela pesquisa. Agradeço a dedicação e o apoio durante todo o processo de realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo, profissional exemplar. Reconheço seus ensinamentos e incentivos em realizar a pós-graduação. Minha gratidão e admiração.

À Profª Drª Ana Cristina Barreto Bezerra com quem muito aprendi. Agradeço a atenção e o estímulo muitas vezes demonstrados.

À Profª Drª Simone Auxiliadora Moraes Otero pela amizade, confiança e acolhida na Clínica de Odontologia e no Projeto de Extensão em Gestantes.

Ao Prof. Dr. José Nicolau, autêntico pesquisador, pela solicitude e decisivas sugestões no decorrer desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Jaime Santana pela disponibilidade na discussão metodológica.

Ao Prof. Dr. Antônio Teixeira, coordenador do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas, em cuja infra-estrutura nos permitiu realizar a determinação das proteínas na saliva.

À Drª Ana de Cássia C. Rosa pela dedicação e paciência no acompanhamento das análises das proteínas. À Drª Isabela Dourado pelo apoio técnico.

À Profª Vânia Ferreira, do Centro de Patologia Clínica do Hospital Universitário de Brasília, pelas facilidades oferecidas no Laboratório de Bioquímica e Imunologia onde realizamos análises laboratoriais.

Aos farmacêuticos: Franco Batista Leite, Edna Yoshiko Yamada Nakanishi e Robério Antonio Araújo, pela colaboração na realização dos exames imunológicos e bioquímicos.

Ao Prof. Dr. Jorge Faber pelas sugestões nas análises estatísticas.

Ao Dr. Juan Cortez pelas discussões e esclarecimentos na análise dos resultados.

Às colegas da Clínica de Odontologia pela amizade compartilhada.

À Fátima e Isabel pelo carinho, união e amizade que sempre fizeram parte de nossas vidas.

A Carlos Renato pelo companheirismo, carinho e compreensão constantes.

À Sra. Zelita Maria de Araujo pela dedicação na coleta de sangue e aos funcionários da Clínica Odontológica que de alguma forma colaboraram.

Um agradecimento especial às mulheres que voluntariamente aceitaram participar deste estudo.

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte

Lauria-Pires, Aline

Estudo do Perfil Salivar e Sérico em Gestantes e Não-gestantes / Aline Lauria Pires. Brasília. A. Lauria-Pires, 2008.

87f.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília. Faculdade de Ciências da Saúde. Departamento de Odontologia, 2008.

Orientadora: Profª Drª Soraya Coelho Leal

1. Saliva. 2. Gestação. 3. Alfa-amilase. 4. Proteína total. 5. Fluxo salivar. 6. IgA. 7. Progesterona. 8. Estradiol. 9. Cortisol.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

ALINE LAURIA PIRES

ESTUDO DO PERFIL SALIVAR E SÉRICO EM GESTANTES E NÃO-GESTANTES

Dissertação apresentada ao final do curso, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Brasília.

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Assinatura _____

RESUMO

Objetivo: avaliar o perfil salivar e sérico ao longo dos trimestres gestacionais e nas fases folicular e lútea em não-gestantes. *Metodologia:* o grupo de estudo incluiu 50 mulheres: 30 gestantes e 20 não-gestantes que procuraram o Hospital Universitário de Brasília para tratamento odontológico. As participantes responderam a uma ficha de anamnese e foram avaliadas clinicamente para coleta de dados de saúde geral e bucal. A coleta de sangue e saliva aconteceu sempre no período da manhã, obedecendo a critérios padronizados. Saliva não-estimulada foi utilizada para análise do fluxo salivar, concentração de proteína total e atividade da alfa-amilase. Amostras pareadas de soro/saliva foram usadas para avaliar e correlacionar os níveis de imunoglobulina A (IgA), estradiol, progesterona e cortisol. Cortisol sérico e salivar também foram correlacionados com a atividade da alfa-amilase. Os dados foram avaliados através do teste estatístico de Kruskal-Wallis e correlação de Spearman. *Resultados:* a taxa de fluxo salivar e concentrações de proteína total, durante os 3 trimestres gestacionais e nas fases folicular e lútea, não demonstraram diferenças. A atividade da alfa-amilase salivar foi superior em gestantes ($p= 0,02$) expressando maiores valores no segundo trimestre. Concentrações de progesterona e cortisol no soro e na saliva se correlacionaram, mostrando elevações progressivas ao longo dos trimestres gestacionais (progesterona $p< 0,001$; cortisol $p= 0,02$). Em não-gestantes os níveis de progesterona aumentaram e do cortisol tenderam a reduzir-se da fase folicular para a lútea. Com a metodologia empregada, não foi possível analisar a concentração salivar e a correlação soro/saliva de estradiol. Não houve correlação das concentrações de IgA obtidas no soro e na saliva. Não houve correlação na análise do cortisol sérico e alfa-amilase salivar, contudo, ocorreu correlação inversa entre os níveis de cortisol salivar e a atividade da alfa-amilase nos grupos gestante ($p= 0,02$) e não-gestante ($p= 0,03$). *Conclusão:* O fluxo salivar e as concentrações de proteína total não diferiram inter e intra grupos estudados. Outros parâmetros analisados (cortisol, progesterona e alfa-amilase) indicam que podem ocorrer modificações na composição da saliva integral durante a gestação.

ABSTRACT

Aim: assess saliva and serum profile along pregnancy trimesters and follicular and luteal phases in non-pregnant. *Methodology:* the studied group included 50 women: 30 pregnant and 20 non-pregnant who visited the University Hospital of Brasília for treatment. The participants filled a questionnaire and underwent a dental examination in order to obtain data concerning general and oral health status. Serum and saliva collection occurred always in the morning, following standardized criteria. Resting saliva was used to assess saliva flow rate, total protein concentration and α -amylase activity. Serum/saliva paired samples were used to investigate and correlate immunoglobulin A (IgA) level, estradiol, progesterone and cortisol. Serum and salivary cortisol was also correlated to alpha-amylase activity. Kruskal-Wallis and Spearman correlation statistical tests were used to analyze the data. *Results:* saliva flow rate and total protein concentration, along the 3 pregnancy trimesters and during the follicular and luteal phases, did not show statistical differences. Salivary alpha-amylase activity values were superior in pregnant ($p= 0,02$) expressing higher values in the second trimester. Progesterone and cortisol concentrations in the serum and saliva showed correlation, increasing along the pregnancy trimesters progesterone $p< 0,001$; cortisol $p= 0,02$). In non-pregnant, the levels of progesterone increased and the cortisol level showed a tendency to decrease from the follicular phase to the luteal one. The methodology used in the present study did not allow the investigation of correlation between serum/saliva estradiol. No correlation between serum and saliva IgA concentration was observed. No correlation was observed when the serum cortisol and salivary α -amylase were compared; however, an inverse correlation was detected in the levels of salivary cortisol and alpha-amylase between pregnant ($p= 0,02$) and non-pregnant groups ($p= 0,03$). *Conclusion:* No differences were found inter and intra the studied groups regarding saliva flow rate and total protein concentration. Other features (cortisol, progesterone and alpha-amylase) indicate that alterations on whole saliva composition might occur during pregnancy.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	4
1. APLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS DA SALIVA	4
2. FLUXO SALIVAR	5
3. PROTEÍNAS SALIVARES	6
4. IMUNOGLOBULINA A	6
5. ESTERÓIDES	8
5.1- ESTRADIOL E PROGESTERONA	10
5.1.1- ESTRADIOL	10
5.1.2- PROGESTERONA	11
5.2- CORTISOL	12
6- ALFA-AMILASE	14
OBJETIVOS	17
METODOLOGIA	18
1- CASUÍSTICA	18
2- ANÁLISE DA SAÚDE BUCAL	21
3- COLETA DE SANGUE	21
4- COLETA DE SALIVA	22
5- FLUXO SALIVAR	22
6- CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL	22
7- ATIVIDADE DA ALFA-AMILASE	23
8- CONCENTRAÇÃO DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E CORTISOL	23
9- IMUNOGLOBULINA A	24
10- ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
RESULTADOS	25
ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARATIVA	25

ANÁLISE GERAL DOS GRUPOS	25
ANÁLISE DA SAÚDE BUCAL	25
FLUXO SALIVAR	27
CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA TOTAL	29
ATIVIDADE DA ALFA-AMILASE.....	30
ESTERÓIDES	31
IMUNOGLOBULINA A	36
ANÁLISES DE CORRELAÇÃO	37
SORO vs SALIVA	37
ALFA-AMILASE vs CORTISOL.....	41
FLUXO SALIVAR vs ALFA-AMILASE E CORTISOL SALIVAR	41
DISCUSSÃO	42
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXO 1	65
ANEXO 2	66
ANEXO 3	67
ANEXO 4	72

INTRODUÇÃO

O fluido presente na boca em contato com os dentes e a mucosa bucal, referido como saliva integral, é derivado predominantemente de três pares de glândulas salivares maiores: parótidas, submandibulares e sublinguais. No entanto, o fluido salivar também se deriva de outras glândulas consideradas anatomicamente menores localizadas em várias regiões da mucosa bucal, como nos lábios, língua, bochechas, palato e faringe (Lawrence, 2002; Nauntofte *et al*, 2005). A saliva é composta por cerca de 99% de água e 1% de sólidos, que são principalmente proteínas e eletrólitos. Normalmente, sua produção diária varia de 0,5 a 1,5 litro, num ritmo de aproximadamente 0,5 ml/minuto (Chiappin, 2007; Humphrey *et al*, 2001).

As glândulas salivares maiores contribuem com o maior volume da secreção e com o conteúdo de eletrólitos da saliva. Paradoxalmente, as glândulas salivares menores embora participem com a produção de pequeno volume da secreção, são responsáveis por grande parte do total das substâncias provenientes do sangue (Humphrey *et al*, 2001).

Cada tipo de glândula secreta um tipo de saliva com características específicas (Chiappin, 2007). A parótida é a mais volumosa das glândulas salivares, sendo puramente serosa. Quando estimulada produz saliva fina, aquosa e rica em alfa-amilase. As glândulas submandibulares são mistas, pois são constituídas por células acinares serosas e mucosas, embora sejam glândulas predominantemente mucosas elas secretam uma saliva rica em mucina. As sublinguais, as de menor volume entre as glândulas principais, constituem-se especialmente de células acinares mucosas, portanto produzem secreção viscosa.

As glândulas salivares menores apresentam secreção mucosa, em sua maioria (Nauntofte *et al*, 2005). Assim, a composição da saliva varia de acordo com os componentes serosos ou mucosos das glândulas. Basicamente, elas contêm minerais, eletrólitos, enzimas, fatores de crescimento e cistatinas, imunoglobulinas, mucinas e outras glicoproteínas (Lawrence, 2002). A saliva é estéril quando sai das glândulas salivares, mas perde esta característica quando se mistura, na cavidade bucal, com o fluido crevicular gengival, células sangüíneas, microrganismos, produtos microbianos, células do epitélio bucal, restos alimentares e secreções originadas nas vias aéreas superiores (Puy, 2006). Todos esses componentes formam a chamada saliva total ou integral (Nauntofte *et al*, 2005).

As múltiplas funções da saliva estão relacionadas às características do fluido e aos seus componentes específicos. Entre os exemplos de funções salivares relacionadas às características do fluido podem ser citados: (a) efeito de lavagem, (b) solubilização de substâncias que dão sabor aos alimentos, (c) formação do bolo alimentar, (d) função digestiva através da alfa-amilase, (e) diluição de detritos, (f) lubrificação dos dentes e tecidos moles bucais, e (g) facilitação da mastigação, deglutição e fonação. As funções relacionadas aos componentes específicos são: (a) proteção do dente pela neutralização de ácidos através de sua capacidade-tampão, (b) manutenção de concentrações supersaturadas de cálcio e fosfato em relação à hidroxiapatita, e (c) participação na formação da película adquirida do esmalte, participando ativamente no processo de desmineralização e remineralização das superfícies dentárias. Assim, a saliva desempenha um papel primordial na saúde bucal e, alterações que afetem as funções salivares podem comprometer os tecidos bucais moles e duros e suas funções (Nauntofte *et al*, 2005; Amerogen *et al*, 2004; Nicolau, 2003; Humphrey *et al.*, 2001; Edgar, 1992).

No que se refere à passagem de compostos do plasma para a saliva, três mecanismos se destacam:

1. Ultra filtração através das junções entre as células acinares em que apenas moléculas com peso molecular menor do que 1900 Da fazem esse tipo de transporte. Como exemplo: água, alguns íons, catecolaminas e hormônios esteróides. A concentração desses compostos é de 300 a 3000 vezes menor na saliva do que no plasma (IBL Imuno-Biological Laboratories, Alemanha 2006; Chiappin, 2007).
2. Filtração através dos poros das membranas celulares dos ácinos. Este tipo de transporte só é possível para substâncias com peso molecular menor que 400 Da, como por exemplo, água e eletrólitos (IBL Imuno-Biological Laboratories, Alemanha 2006).
3. Transporte seletivo através da membrana celular decorrente de três mecanismos fisiológicos: a) Difusão passiva de moléculas lipofílicas (exemplo: hormônios esteróides); b) Transporte ativo através dos canais de proteína (exemplo: peptídeos); c) Pinocitose- ocorre para transportar proteínas maiores, tais como as enzimas. (Chiappin, 2007; IBL Imuno-Biological Laboratories, Alemanha 2006; Nauntofte, 2005).

Alterações hormonais em mulheres podem afetar a fisiologia de todo o corpo incluindo a cavidade bucal. Situações como: gravidez, período menstrual e terapia de reposição hormonal têm efeito direto no metabolismo dos tecidos periodontais (Otomo-Corgel & Steinberg, 2002).

É unanimidade entre os pesquisadores que as mudanças apresentadas na composição salivar estão relacionadas às variações hormonais durante o período gestacional. Além disso, pesquisas demonstram alterações também no fluxo salivar e na composição bioquímica da saliva durante este período (Rockenbach *et al*, 2006; Kivela *et al*, 2003; Otomo-Corgel & Steinberg, 2002; Laine, 2002; Salvolini *et al*, 1998).

Mudanças na composição da saliva principalmente as ocorridas no final da gestação e durante o período de lactação podem predispor o surgimento de cárie, erosão dental e doenças periodontais (Laine *et al* 2002; Otomo-Corgel & Steinberg, 2002). Embora seja amplamente sabido que a gravidez torna a mulher mais suscetível a apresentar doenças bucais, o efeito da gestação na iniciação ou progressão da cárie e doença periodontal ainda não está esclarecido (Laine *et al*,2002).

Estudos indicam que a doença periodontal é bastante prevalente durante o período gestacional. De forma geral isso acontece devido a uma higiene bucal deficiente e a mudanças de hábitos dietéticos (Stevens *et al*, 2007). Porém, alterações hormonais que ocorrem neste período podem levar a um aumento da resposta inflamatória (Otomo-Corgel & Steinberg, 2002). Vários pesquisadores têm demonstrado a associação entre a doença periodontal e o nascimento de bebês prematuro e de baixo peso (Goldenberg 2005; Offenbacher, 2004; Jeffcoat *et al.*, 2003). Vergnes *et al.* (2007) fizeram uma revisão de meta-análise sobre este tema e concluíram que há associação entre os eventos; porém devem ser feitos mais estudos para investigar os prováveis mecanismos.

Encontramos poucos e discordantes estudos sobre saliva e sua composição durante a gestação.

Por isso são necessárias mais pesquisas para se estabelecer qual a relação entre o estado gestacional e a saliva e, também, como as possíveis modificações salivares interferem no processo de saúde/ doença bucal nesses indivíduos.

REVISÃO DE LITERATURA

1. APLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS DA SALIVA

Os múltiplos componentes salivares não apenas protegem a integridade dos tecidos bucais, mas, igualmente, funcionam como biomarcadores de doenças e condições sistêmicas do indivíduo (Lawrence, 2002; Wong, 2006). Tais biomarcadores salivares têm sido utilizados na clínica diária para monitorar a saúde geral e também para diagnóstico precoce de algumas patologias (Chappin, 2007). Laboratórios que utilizam saliva como ferramenta de diagnóstico têm realizado grandes avanços nas áreas clínicas e da pesquisa, incluindo a virologia, imunologia, microbiologia, endocrinologia, epidemiologia e forense (Lawrence, 2002). Como consequência dos avanços tecnológicos e laboratoriais na análise dos seus componentes, a saliva deixou de ter aplicação apenas restrita a detectar características relacionadas à saúde bucal passando a ser usada como marcador da saúde geral do indivíduo (Streckfus, 2002).

A utilização da saliva em substituição ao método tradicional de análise laboratorial que utiliza o sangue tem como principais vantagens o fato de oferecer uma coleta por mecanismo não-invasivo e sem estresse. Além disso, com treinamento correto, a coleta pode ser feita pelo próprio indivíduo, sem necessidade de equipamentos especiais o que, certamente, reduz os custos (Lewis, 2006). Crianças, idosos e pacientes com necessidades especiais que necessitam fazer exames periodicamente têm se beneficiado com esta nova metodologia (Kaufman & Lamster, 2002).

Contudo, existem limitações na utilização da saliva como substituta do sangue. Há dificuldade em detectar algumas proteínas na saliva devido a sua baixa concentração nesse fluido em relação ao encontrado no sangue; além disso, a metodologia de coleta deve ser bem padronizada, pois vários fatores externos e ambientais podem interferir no fluxo e na composição salivar (Chiappin, 2007; Lewis, 2006).

Atualmente, existem várias linhas de pesquisa que estudam os componentes e as funções da saliva para o diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças sistêmicas. Amostras de saliva têm sido utilizadas para analisar: concentração de esteróides, polipeptídios, anticorpos, álcool e drogas de uso ilícito; doenças imunológicas; influências nutricionais e metabólicas e, inclusive para avaliar algumas condições neuropsíquicas tais

como níveis de ansiedade e estresse através da concentração de algumas proteínas salivares (Puy, 2006; Streckfus, 2002; Huphrey, 2001).

Análises de componentes salivares são utilizadas para auxiliar no diagnóstico de doenças sistêmicas, tais como: doenças auto-imunes- síndrome de Sjögren (Streckfus *et al*, 2001); doenças infecciosas virais- Vírus da Imunodeficiência Humana HIV (Martinez *et al*, 1999), citomegalovírus, vírus *Herpes* tipos 6, 7 e 8, vírus *Epstein-Barr* (LaDuca *et al*, 1998; Lucht *et al*, 1998) ; doenças infecciosas bacterianas como a úlcera péptica causada pelo *H. pylori* (Reilly *et al*, 1997); monitoramento de consumo de drogas (Kaufman & Lamster 2002); doenças renais (Lloyd *et al*, 1996), além de disfunções endócrinas ou monitoramento de hormônios (Lipson & Ellison 1996; Goldenberg 2005).

Os estudos mais recentes investigam a determinação do proteoma salivar como forma de identificar proteínas que sirvam como marcadores biológicos de doenças sistêmicas (Wong *et al.*, 2006; Xie *et al.*, 2006; Hardt *et al.*, 2005; Huang, 2004).

2. FLUXO SALIVAR

As análises da função salivar em relação ao fluxo e capacidade tampão são de extrema importância pois, com frequência apresentam correlação com atividade de cárie (Benedetto, 2002). A composição da saliva varia de acordo com o fluxo, natureza da estimulação, duração, composição do plasma e período do dia no qual foi feito a coleta- ritmo circadiano (Chiappin, 2007).

O fluxo salivar é importante, pois promove a limpeza da cavidade bucal, regula a capacidade tampão, além de gerar atividades antimicrobianas (Seow, 1998). O fluxo salivar é denominado não-estimulado quando nenhum estímulo externo ou farmacológico é utilizado; já o fluxo estimulado necessita de estímulos mecânicos, gustatórios ou agentes farmacológicos (Nauntofte *et al*, 2005).

Para a análise dos componentes bioquímicos da saliva o ideal é utilizar saliva integral não-estimulada (Lewis, 2006).

Existe uma grande variabilidade individual nas taxas do fluxo salivar. Os valores aceitos como normais para a taxa de fluxo de saliva não-estimulada deve ser acima de 0,1 ml/min (Humphrey *et al.*, 2001).

O fluxo salivar e a composição da saliva podem ser alterados em função da idade e variações hormonais decorrentes de condições clínico/fisiológicas como gestação e

climatério. Alteração do fluxo salivar durante a gestação é um tema controverso. Há autores que sugerem uma hiperestimulação das glândulas salivares neste período (Puy, 2006), por outro lado existem pesquisas que demonstram diminuição na taxa do fluxo (Hugoson, 1972; Kullander & Sonesson, 1965); e, ainda existem trabalhos que não observaram diferenças no fluxo salivar durante a gestação (Rockenbach *et al*, 2006, Kivela *et al*, 2003; Laine *et al*, 2000).

3. PROTEÍNAS SALIVARES

As proteínas são os principais componentes orgânicos da saliva, elas participam como primeira linha de defesa contra microrganismos patogênicos. Muitos componentes protéicos da saliva têm sido estudados tais como: proteínas ricas em prolina, amilase, albumina (um grupo abundante de proteínas); imunoglobulinas, lisozimas, lactoferrina, lactoperoxidase, histatinas (grupo de proteínas que exercem atividade antimicrobiana); estaterina para homeostase de cálcio; mucinas responsáveis pela lubrificação e cistatinas-antivirótica e antibacteriana (Tenovuo, 1998; Huang 2004; Xie *et al*, 2006). O desequilíbrio na quantidade e na constituição dessas proteínas na saliva pode gerar afecções bucais tais como cárie e doenças periodontais, mas também pode ser um indicativo de alguma alteração sistêmica importante (Nauntofte *et al*, 2005).

Porém, não há estudos conclusivos sobre a interferência do estado gestacional na composição protéica e na função da saliva em humanos. Alguns estudos relatam aumento da concentração de proteínas totais na saliva durante todo o período gestacional (Hugoson, 1972). Em oposição, outras pesquisas demonstram uma diminuição nas concentrações de proteína total e nos níveis de ácido siálico durante a gestação (D'Alessandro *et al*, 1989; Laine *et al*, 1988; Laine *et al*, 2000).

4. IMUNOGLOBULINA A

As imunoglobulinas pertencem à classe das gamaglobulinas, são proteínas plasmáticas que exibem propriedades imunológicas. Embora outras proteínas do soro possam participar dos fenômenos imunológicos, elas não apresentam o mesmo grau de importância das gamaglobulinas. As imunoglobulinas são classificadas, de acordo com

suas características físico-químicas e biológicas, em cinco sub-grupos representados pelas letras A, D, E, G e M (Souza *et al.*, 2003).

A imunoglobulina A secretora (IgAs) constitui o isotipo de imunoglobulina predominante nas secreções externas como lágrima, suco gástrico e saliva. É considerada a primeira linha de defesa do hospedeiro contra patógenos que colonizam ou invadem superfícies banhadas por secreções externas ou mesmo mucosas.

A IgA representa a segunda imunoglobulina mais abundante do soro e predomina na saliva sob a forma dimérica (IgAs) que resiste melhor à proteólise de ambientes como a boca (Martinez *et al.*, 2007). O isotipo IgAs é responsável por mais de 85% do total das imunoglobulinas na saliva e é produzido diretamente pelos linfócitos B presentes nas glândulas salivares. As IgAs são secretadas no fluido intersticial, entram nas células acinares e ductais das glândulas salivares e subsequentemente são conduzidas para a saliva. O restante 5-15% das imunoglobulinas salivares pertencem principalmente aos isotipos IgG e IgM derivadas do fluido crevicular gengival ou do plasma (Chiappin *et al.*, 2007).

A imunoglobulina A secretora é um importante parâmetro para se avaliar o status imune da mucosa com a vantagem de ser mensurável por métodos não-invasivos e sem desconforto para o paciente. Ela é a principal classe de imunoglobulina encontrada nas secreções mucosas e é responsável por impedir a entrada de uma infinidade de agentes infecciosos, alérgenos ambientais e substâncias carcinogênicas, além de cooperar com vários mecanismos de proteção inatos (Martinez *et al.*, 2007). A principal função do anticorpo IgAs, na boca, parece ser limitar a aderência microbiana e a penetração de antígenos estranhos dentro da mucosa, além de aglutinar bactérias e neutralizar toxinas, enzimas e vírus (Marcotte, 1998). Há relatos da inexistência de correlação direta entre nível de IgA do soro e quantidade de IgA nas secreções externas, indicando que os indivíduos podem apresentar alterações isoladas em qualquer destes compartimentos (Souza *et al.*, 2003; Tomasi, 1972).

A nefelometria tem sido utilizada em laboratórios de análises clínicas para mensuração de IgA. Este método minimiza problemas metodológicos por ser padronizado e automatizado (Souza *et al.*, 2003).

Pesquisas realizadas em saliva de gestantes demonstraram aumento da IgAs durante toda a gestação e, em especial, no terceiro trimestre gestacional e no pós-parto (Rockenbach *et al.*, 2006; Annie *et al.*, 1991; Widerstrom *et al.*, 1984).

5. ESTERÓIDES

A dosagem de esteróides no soro sangüíneo já é feita como rotina na maioria dos laboratórios pela técnica de quimioluminescência. Esta técnica tem sido considerada como sendo aproximadamente dez vezes mais sensíveis que outros enzima-imunoensaios (ELISA, radioimunoensaio, etc). Por ser mais sensível, na detecção de proteínas, foi escolhida como metodologia de trabalho no presente estudo para avaliação da concentração de esteróides (progesterona, estradiol, cortisol) no soro e na saliva (Mallmann, 2003; IBL Imuno-Biological Laboratories, Alemanha 2006).

Colesterol é o precursor de cinco classes de hormônios esteróides (glicocorticóides- cortisol; mineralocorticóides- aldosterona e hormônios sexuais- androgénos, estrógenos e progestágenos.

Os hormônios são geralmente secretados no sangue e então circulam pelo corpo para produzir efeitos exclusivamente nas células-alvo. Eles agem da mesma maneira que a chave e a fechadura com receptores específicos encontrados somente nos tecidos-alvos.

Os hormônios esteróides são transportados pelo sangue de seus sítios de síntese até seus órgãos alvo. Devido a sua hidrofobicidade, eles devem ser complexados com uma proteína plasmática. Esta fração ligada representa a parte dos hormônios esteróides presente no plasma ou no soro sangüíneo e é biologicamente inativa. O hormônio biologicamente ativo corresponde à pequena fração de esteróide livre encontrada no soro sangüíneo. Conseqüentemente, qualquer medida das concentrações de esteróides no soro ou no plasma será principalmente um reflexo do “hormônio inativo”. Apenas uma pequena e indeterminada porcentagem do resultado obtido na mensuração será de hormônio biologicamente ativo. Contudo, as concentrações de esteróides no sangue e na saliva não são completamente equivalentes. Enquanto a quantificação sérica representa os níveis totais de esteróides ligados e livres, os valores salivares refletem apenas os esteróides livres que são biologicamente ativos no plasma (Lu *et al*, 1999; Lipson & Ellison 1996).

Os esteróides na urina também estão presentes na forma livre, fração não-ligada, porém os metabólitos dos esteróides urinários podem reagir de forma cruzada com os anticorpos usados nas análises laboratoriais de imunoensaio. Além disso, os esteróides urinários livres são usualmente mensurados em urina de até 24 horas e a técnica de coleta não é fácil (Chiappin *et al.*, 2007).

Os níveis de hormônios esteróides salivares podem refletir a concentração de esteróides livres na circulação sanguínea em vez de medir os níveis totais de hormônio na circulação, os quais são confundidos pela presença de esteróides ligados a proteína (Lewis, 2006). Adicionalmente, as concentrações de esteróides na saliva não dependem do fluxo salivar (Boever *et al.*, 1990).

Há uma diversidade de estudos que analisaram a saliva em diferentes condições: durante as fases do ciclo menstrual (Bao, 2003; Gandara, 2007; Yu-cai *et al.*, 1999; Lipson & Ellison 1996; Groschl *et al.*, 2001), no monitoramento dos níveis de esteróides durante a reposição hormonal na menopausa (Chatterton, 2005), na dosagem hormonal durante a gestação (McGregor, 1999), nos programas de fertilização in-vitro e até mesmo para prever a ocorrência de parto prematuro através de dosagens hormonais (Goldenberg, 2005; McGregor, 1995).

Contudo, existem algumas limitações na dosagem de esteróides salivares. Primeiro, o período da coleta de saliva deve ser bem definido porque os esteróides salivares sofrem variações com o ritmo circadiano sanguíneo. Segundo, a estabilidade dos esteróides na saliva é restrita porque a matriz salivar contém várias enzimas em altas dosagens que podem decompor os esteróides. Além disso, microrganismos como *Streptococcus sp* são capazes de destruir alguns componentes salivares (Grösch *et al.*, 2001).

Adicionalmente, devem ser tomadas algumas precauções durante a coleta e a armazenagem das amostras de saliva para que não haja erro na dosagem de esteróides. Grösch *et al.* (2001) estudaram o nível de estabilidade da progesterona e do cortisol em 15 indivíduos adultos e saudáveis. Foram avaliadas a influência da higiene dental, da ingestão de alimentos (fatia de limão, copo de leite e fatia de pão) e da armazenagem das amostras de saliva. Não observaram influências negativas da higiene dental ou da ingestão de alimentos na estabilidade destes hormônios, exceto para a progesterona após o consumo da fatia de limão. Concluiu-se, também, que repetidos congelamentos e descongelamentos das amostras levaram a uma pequena redução (cerca de 5%) nos níveis de cortisol devido à adesão das moléculas na superfície do tubo continente.

5.1- ESTRADIOL E PROGESTERONA

Os dois tipos de hormônios sexuais ovarianos são os estrogênios e as progestinas. O mais importante dos estrogênios é o hormônio estradiol, enquanto a progestina mais importante é a progesterona. Os estrógenos promovem, principalmente, a proliferação e o crescimento de células específicas no corpo, que são responsáveis pelo desenvolvimento da maioria das características sexuais secundárias femininas. As progestinas estão relacionadas, quase inteiramente, com a preparação final do útero para a gravidez e das mamas para a lactação (Guyton & Hall, 2002).

Os anos reprodutivos normais da mulher caracterizam-se por alterações mensais nos índices de secreção nos hormônios femininos. Este padrão rítmico é denominado ciclo sexual feminino, ciclo ovariano ou ciclo menstrual. A duração média é de 28 dias e aproximadamente neste período, os hormônios gonadotróficos da hipófise anterior fazem com que novos folículos comecem a crescer nos ovários- fase folicular ou estrogênica. Um dos folículos ovula, comumente, no 14º dia do ciclo. Durante o crescimento dos folículos, o estrogênio é secretado. Após a ovulação, as células secretoras do folículo transformam-se num corpo lúteo. As células luteínicas começam a secretar grande quantidade de hormônios femininos progesterona e estrogênio- fase lútea ou luteínica. Após duas semanas, o corpo lúteo degenera, em consequência os hormônios ovarianos (estrógeno e progesterona) diminuem apreciavelmente, iniciando-se a menstruação. Segue-se, então novo ciclo ovariano (Guyton & Hall, 2002).

Análises pareadas, na saliva, de progesterona e estradiol podem ser úteis para monitorar a fertilidade (Lewis, 2006).

5.1.1- ESTRADIOL

Em não-gestantes saudáveis, os estrogênios são secretados em quantidades significativas apenas pelos ovários, embora sejam também, secretadas diminutas quantidades pelo córtex adrenal. Durante a gravidez, a placenta também secreta elevada quantidade de estrógeno (Guyton & Hall, 2002).

Estrona, β -estradiol e estriol são os três mais importantes estrógenos produzidos no corpo humano. Por causa das suas respectivas posições na seqüência da biossíntese, a estrona é citada como E1, o estradiol como E2 e o estriol como E3. No estado de não-

gravidez, a estrona e o β -estradiol são produzidos pelos ovários em quantidades de apenas 100 a 200 microgramas por dia, e o estriol é apenas um escasso subproduto do metabolismo da estrona. O principal estrógeno secretado pelos ovários é o β -estradiol, sua potência estrogênica é 12 vezes a da estrona e 80 vezes a do estriol (Guyton & Hall, 2002).

Durante a gravidez, no entanto, a placenta é a principal fonte de estrógenos, e o estriol é produzido em miligramas, ao passo que a estrona e o estradiol são produzidos em microgramas, sendo o estradiol excretado em menor quantidade.

O estriol produzido pela placenta é sintetizado a partir de um hormônio chamado DHEA - (desidroepiandrosterona), suprido pela mãe ou pelo córtex adrenal do feto. Por causa da participação do feto na formação do estriol, a medição desse hormônio pode ser um sensível indicador do bem-estar da placenta e/ou do feto.

A placenta torna-se também a principal fonte de progesterona, produzindo entre 300 e 400 miligramas por dia, durante o terceiro trimestre. O estriol e a progesterona são, portanto, os principais esteróides sexuais presentes durante a gravidez. Estudos em gestantes sugerem que mudanças na proporção de estriol salivar para progesterona salivar no final da gestação podem prever a iniciação do trabalho de parto espontâneo (McGarrigle, 1984).

5.1.2- PROGESTERONA

A progesterona é produzida no córtex das glândulas adrenais em ambos os gêneros como precursora de outros hormônios esteroidais sintetizados nesse local. Em mulheres não-gestantes a maior parte de progesterona é produzida pelo corpo lúteo no ovário, durante a segunda metade do ciclo menstrual (fase lútea).

Durante a gravidez, a placenta também secreta grande quantidade de progesterona, especialmente depois do quarto mês de gestação (Guyton & Hall, 2002).

A concentração de progesterona varia significativamente durante a gravidez. Após o parto os níveis reduzem rapidamente atingindo valores semelhantes aos encontrados durante o ciclo menstrual (IBL Imuno-Biological Laboratories Alemanha, 2006).

Pode ser medida no soro - concentração total- e na saliva-fração livre (IBL Imuno-Biological Laboratories Alemanha 2006). A progesterona é metabolicamente estável na saliva e tem sido utilizada em aplicações variadas (Lewis, 2006).

5.2- CORTISOL

O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) é um dos sistemas primários de resposta ao estresse em mamíferos. Ele é um sistema neural e endócrino integrado que desempenha um papel importante regulando a liberação de glicocorticóides, dos quais o mais predominante é o cortisol. O cortisol é o produto final de uma “cascata neuroendócrina” que se inicia com a estimulação de células no hipotálamo. Essas células liberam hormônio liberador de corticotrofina (CRH) que, por sua vez, estimula a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) proveniente da glândula pituitária. O ACTH é secretado no sangue circulante de onde é captado por receptores no córtex das glândulas adrenais, estimulando a síntese e a secreção de cortisol (Johnson *et al.*, 1992).

Independentemente e em consonância com outros sistemas psicológicos, o cortisol desempenha papel importante nos processos de liberação de energia, imunidade, crescimento, funções reprodutoras e processos cognitivos e afetivos. Além disso, o cortisol desempenha um papel vital na regulação da resposta ao estresse. Juntamente com outros sistemas de sensibilidade ao estresse, como o sistema medular simpatoadrenal (SAM), o cortisol prepara o corpo para a sobrevivência, através da estocagem de energia, suprimindo sistemas fisiológicos não-essenciais e orquestrando respostas comportamentais a situações ou eventos estressantes (Egliston *et al.*, 2007).

Cerca de 90 a 95% do cortisol no plasma ligam-se a proteínas plasmáticas, particularmente à globulina denominada globulina de ligação do cortisol (CBG), e, em menor grau à albumina (Guyton & Hall, 2002). Apenas 5 a 10% do total de cortisol no sangue encontram-se na forma livre, fração biologicamente ativa do hormônio (IBL Imuno-Biological Laboratories Alemanha, 2006).

A ligação dos esteróides adrenais às proteínas plasmáticas pode servir de reservatório para diminuir as rápidas flutuações nas concentrações de hormônio livre, como poderia ocorrer, por exemplo, com o cortisol durante breves períodos de estresse e de secreção episódica de ACTH. Essa função de reservatório também pode ajudar a garantir a distribuição relativamente uniforme dos hormônios adrenais nos tecidos (Guyton & Hall, 2002).

O cortisol livre circulante difunde-se para a saliva passivamente e quase que instantaneamente, sendo que as concentrações do cortisol livre no plasma e na saliva estão fortemente correlacionadas (Bakke *et al.*, 2004).

A maioria dos métodos de imunoenaios utilizados na determinação do cortisol no soro detecta o cortisol total (ligado e livre), ao passo que a dosagem do cortisol na urina e na saliva quantifica apenas o cortisol livre. Os níveis de cortisol livre, tanto urinário como salivar, aumentam rapidamente quando as concentrações séricas do cortisol total atingem 25µg/dl (700nmol/l), excedendo a capacidade de ligação da CBG (Castro, 2003).

Situações que elevam as globulinas transportadoras dos esteróides, tais como gravidez e uso de estrógenos, apresentam maiores aumentos dos valores do esteróide total que do esteróide livre. Similarmente, em condições de baixos níveis de CBG, como ocorre na insuficiência hepática e hipotireoidismo, as concentrações de cortisol livre são mantidas normais apesar da redução dos níveis do cortisol plasmático. Esse fato deve ser levado em consideração quando se analisa a correlação entre o cortisol no sangue e na saliva (Castro & Moreira, 2003).

A dosagem do cortisol salivar, que avalia a fração livre do hormônio, tem se tornado cada vez mais aceita. Vários estudos demonstram que níveis detectáveis de cortisol na saliva refletem os níveis de cortisol sanguíneo (Nierop, 2006b; Gozansky, 2005). A utilização da saliva como biomarcador vem se mostrando útil para o estudo do ritmo circadiano do cortisol e para a avaliação de insuficiência adrenal, nos primeiros dias de vida de recém-nascidos a termo e pré-termo. Adicionalmente, admite-se que a determinação do cortisol salivar possa ser utilizada para avaliar o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em alterações da função cognitiva, em situações de estresse, ansiedade, depressão, síndrome do pânico, na avaliação da privação de sono em pacientes trabalhadores noturnos e naqueles com fadiga crônica (Castro & Moreira, 2003).

Uma vez que o córtex adrenal é muito sensível ao estresse, não é surpresa que a venopunção, para a coleta de sangue, pode levar a um aumento, transitório, nos níveis de cortisol. Essa consideração é importante principalmente quando se quer coletar amostras em crianças. A técnica de dosagem de cortisol na saliva revela-se útil e importante para analisar amostras deste esteróide em crianças (Gröschl *et al*, 2001).

A medida do cortisol salivar independe da taxa de fluxo de saliva (Chiappin *et al*, 2007). As amostras de saliva são obtidas por procedimento simples, não invasivo, livre de estresse, podendo ser realizadas por pessoas não treinadas em ambulatório ou na própria residência do paciente. Estas amostras podem ser coletadas várias vezes ao dia, permitindo a avaliação dinâmica da secreção de cortisol livre. Além disso, as amostras do cortisol salivar são estáveis em temperatura ambiente por uma semana e podem ser transportadas

ao laboratório pelo correio ou pelo portador, sem nenhuma perda da atividade do cortisol (Castro & Moreira, 2003).

Os ensaios para cortisol salivar devem ser padronizados e interpretados com base em valores de corte, obtidos em cada laboratório, utilizando amostras de controles normais da população e comparando com o grupo de pessoas a serem estudadas. Os laboratórios de pesquisa ou laboratórios comerciais devem, desta forma, realizar a validação de seus ensaios para dosagem de cortisol salivar, tornando-os mais disponíveis à prática clínica (Castro & Moreira, 2003).

Durante uma gestação saudável, os níveis de cortisol salivar começam a aumentar após a 25^a e a 28^a semanas gestacionais, alcançando, ao final da gestação, concentrações que podem chegar ao dobro das encontradas em mulheres não-gestantes (Allolio *et al*, 1990). Cerca de uma semana após o parto, os níveis de cortisol voltam ao normal. Fisiologicamente, as concentrações do cortisol total como do cortisol livre estão elevadas principalmente de manhã e à noite. Este ritmo circadiano é preservado durante a gestação (Allolio *et al*, 1990, Kirschbaum & Hellhammer, 1994). Os altos níveis de cortisol encontrados em gestantes não atravessam livremente a placenta (Gitau *et al*, 2001).

A fisiologia do cortisol pode ser estudada em condições basais e como reação a estressores específicos (De Weerth & Buitelaar, 2005). A determinação das alterações nos níveis de cortisol basal e da reatividade do cortisol ao estresse durante a gestação é importante uma vez que esses níveis hormonais poderão, possivelmente, afetar o desenvolvimento fetal (Van den Bergh *et al*, 2005).

6- ALFA-AMILASE

A enzima alfa-amilase é produzida por células serosas das glândulas parótidas e submandibulares. Ela é uma das principais proteínas da saliva e é responsável por 10- 20% do total de proteínas produzidas pela glândula parótida (Nater *et al*., 2005). A alfa-amilase não é apenas responsável pela iniciação da digestão na cavidade bucal, mas também interage com certas espécies de bactérias, e desempenha papel, ainda não completamente esclarecido, na modulação da adesão bacteriana às superfícies bucais (Nauntofte *et al*, 2005).

Estudos em animais e humanos concluíram que elevações nas concentrações de alfa-amilase são indicativas de ativação autonômica. Há evidências de que os níveis de

alfa-amilase aumentam em resposta a estresses físicos, tais como esforço físico, exposição a câmara de alta pressão ou exposição ao frio. Adicionalmente, estudos mais recentes têm demonstrado um aumento nos níveis de alfa-amilase em resposta a estresse psicológico e psicossocial (Nater *et al.*, 2005; Nater *et al.*, 2006).

A respeito da secreção de alfa-amilase, as duas vias do sistema nervoso autônomo não agem independentemente. Resultados de estudos com animais sugerem que ambas as ativações- simpática e parassimpática- levam a um aumento nos níveis de alfa-amilase (Nater *et al.*, 2005). Contudo, estudos que investigam separadamente as duas vias não se aproximam de uma situação real *in vivo*. Em pesquisas que combinam estimulação simpática e parassimpática, há elevações bem marcadas nos níveis de alfa-amilase (Kyriacou *et al.*, 1988).

Estudos em animais provaram que fontes de estresse, durante a gestação, provocam liberação hormonal alterada no eixo HPA e no eixo medular simpatoadrenal alterando, assim, os níveis de cortisol e de alfa-amilase respectivamente. Há evidências que, no final da gravidez, as catecolaminas (norepinefrina e epinefrina) do plasma mostram aumento moderado após estresse e o eixo HPA torna-se hiperativo após experiências de alto estresse com liberação atenuada de ACTH- principalmente cortisol (Neuman, 2001). Porém os mecanismos biológicos do estresse relacionados ao estado gestacional em humanos necessitam serem mais bem elucidados.

Apesar da mensuração de cortisol livre na saliva ter provado ser útil para avaliar a função e a reação do eixo HPA, não foi encontrado ainda um biomarcador apropriado da atividade medular simpatoadrenal (SAM). A alfa-amilase salivar surge como uma substância potencial na determinação da atividade autonômica visto que a secreção produzida pelas glândulas salivares humanas ocorre em resposta à estimulação de neurotransmissores e as glândulas salivares são inervadas tanto por inervação simpática como parassimpática. Geralmente, uma estimulação simpática (via norepinefrina) leva a um baixo fluxo salivar e a um aumento na concentração de proteínas salivares, tais como a alfa-amilase; enquanto que na estimulação parassimpática (via acetilcolina) há um aumento no fluxo salivar e a uma baixa concentração de proteínas (Castle *et al.*, 1998). A estimulação de um receptor freqüentemente complementa o outro receptor (Humphrey *et al.*, 2001).

Nierop *et al.* (2006a) mediram os níveis de cortisol livre na saliva, alfa-amilase salivar, batimentos cardíacos e parâmetros psicológicos em 30 gestantes no início do

segundo trimestre gestacional, 30 gestantes no início do terceiro trimestre gestacional e 30 mulheres não-gestantes na fase folicular do ciclo menstrual. Os resultados demonstraram que houve uma cobertura de cortisol mais prolongada durante o segundo trimestre gestacional. Os menores níveis de alfa-amilase foram encontrados em gestantes no terceiro trimestre e os maiores níveis, nas mulheres não-gestantes.

Poucos estudos analisaram parâmetros séricos e salivares nos trimestres gestacionais comparando com os de não-gestantes nos 2 tempos fisiológicos do ciclo ovariano (fases folicular e lútea). Apesar de alguns autores demonstrarem existir alterações em diversos parâmetros salivares durante a gestação, não há um consenso na literatura sobre as alterações na saliva, e na saúde bucal durante a gestação. Da mesma maneira há discordância nas correlações entre parâmetros salivares e sanguíneos. Assim, são necessários mais estudos para auxiliar a sensibilidade e especificidade da utilização da saliva como marcador diagnóstico e o entendimento de alterações salivares em mulheres.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar parâmetros salivares e séricos ao longo dos 3 trimestres gestacionais e compará-los com os de não-gestantes nas duas fases do ciclo menstrual- folicular e lútea.

Objetivos específicos

- Verificar a dinâmica dos parâmetros salivares - fluxo salivar, concentração de proteína total, atividade da alfa-amilase, IgA, níveis de estradiol, progesterona e cortisol- nos 3 trimestres gestacionais.e nas fases folicular e lútea do ciclo menstrual.
- Correlacionar os níveis de IgA, estradiol, progesterona e cortisol na saliva e no soro nos trimestres gestacionais e nas duas fases do ciclo menstrual.
- Correlacionar a atividade da alfa-amilase com os níveis de cortisol salivar e sérico em gestantes e não-gestantes.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo longitudinal realizado de março de 2007 a março de 2008. Foi conduzido no Hospital Universitário da Universidade de Brasília (HUB/UnB) onde se desenvolve um Projeto de Extensão de ação contínua denominado: “Impacto da atenção odontológica às gestantes e a experiência de cárie no bebê”. Através deste projeto multidisciplinar estão integrados os serviços de Odontologia e Ginecologia e Obstetrícia do referido hospital.

O trabalho de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília sob o protocolo nº 040/2007. Todas as participantes que aderiram, voluntariamente, ao programa leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos 1 e 2).

1- CASUÍSTICA

O grupo de estudo constou de 50 mulheres: 30 gestantes (10 incluídas no primeiro trimestre e 20 incluídas no segundo trimestre gestacional) e 20 não-gestantes, todas provenientes do Distrito Federal e que procuraram o Hospital Universitário de Brasília para tratamento odontológico.

As participantes responderam um questionário estruturado utilizado no projeto de extensão multidisciplinar acima referido (Anexos 3 e 4). Após esse procedimento foi realizado exame clínico-odontológico e agendada a coleta de sangue e saliva. A dinâmica da pesquisa seguiu o fluxograma apresentado na Figura 1.

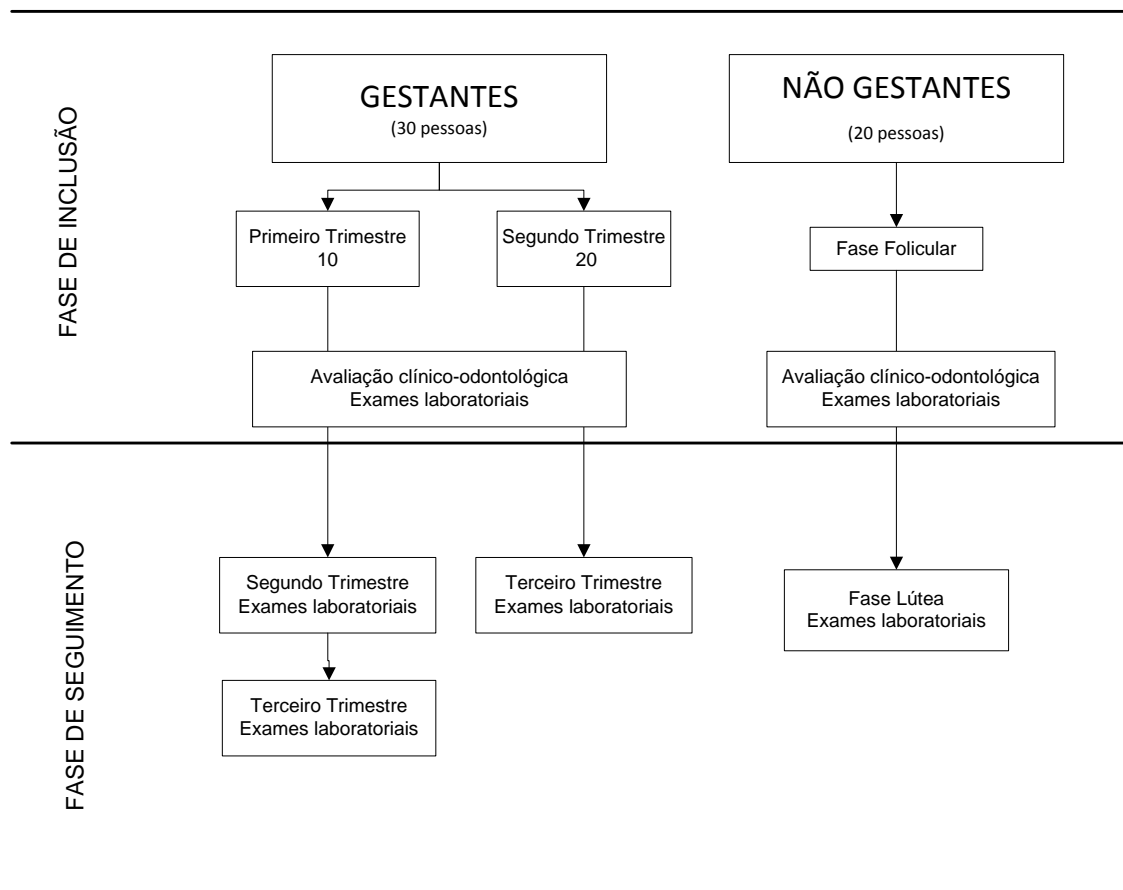


Figura 1- Diagrama de fluxo da pesquisa

1.1- GRUPO GESTANTE:

Foram selecionadas 30 gestantes: 10 encontravam-se no primeiro trimestre gestacional (entre 11 e 16 semanas de gestação) e 20 cursavam o segundo trimestre (entre 18 e 28 semanas).

Para a seleção das gestantes foram considerados os seguintes critérios de inclusão:

- Bom estado de saúde geral (não podiam ser classificadas como gravidez de alto risco)
- Acompanhamento pré-natal e o parto previstos para ocorrer no HUB/UnB
- Idade: entre 20 e 39 anos
- Não fazer uso de medicamentos sistêmicos
- Não fumantes

Foram realizadas coletas de sangue e saliva em cada trimestre gestacional de modo que o material estudado foi composto por 10 amostras de sangue e 10 de saliva do primeiro trimestre; 30 amostras de sangue e de saliva coletadas no segundo trimestre e 30 amostras de cada material correspondentes ao terceiro trimestre gestacional (entre 31 a 37 semanas) perfazendo um total de 70 amostras de sangue e 70 de saliva. Na Figura 2 está demonstrado o esquema metodológico de obtenção das amostras de soro e saliva.

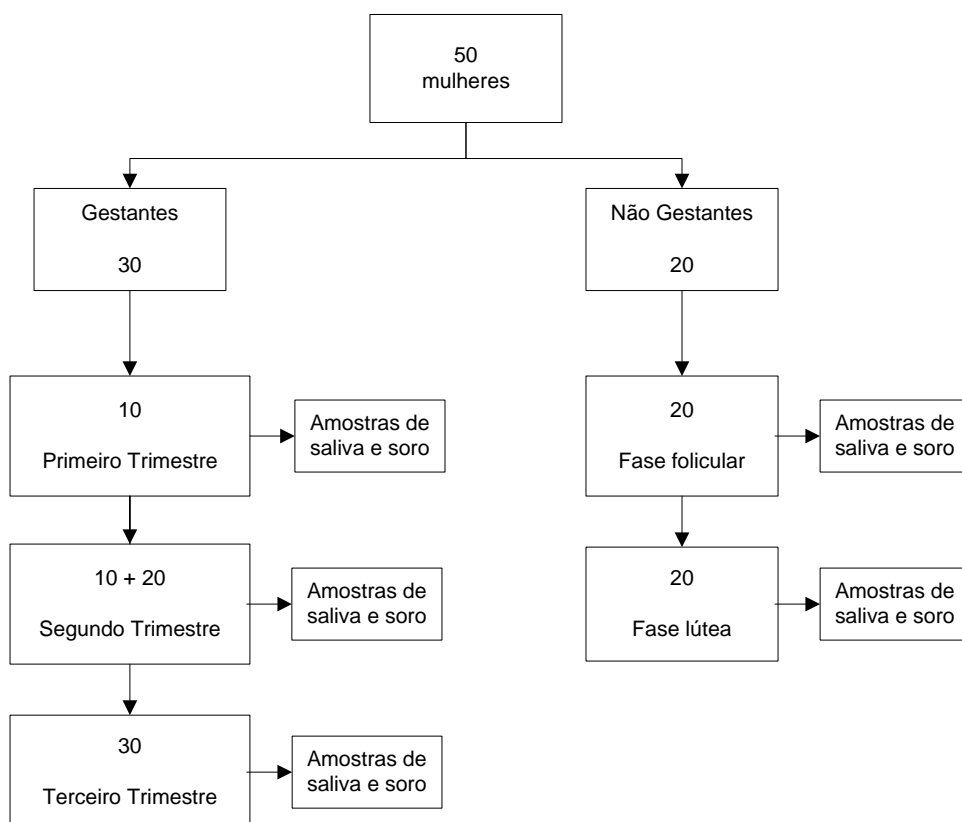


Figura 2- Esquema metodológico de obtenção das amostras de soro e de saliva

1.2- GRUPO NÃO-GESTANTE:

Foi formado por 20 mulheres não-gestantes que procuraram o Serviço de Odontologia do HUB/UnB. Este grupo funcionou como controle. Estavam em idade fértil e preenchiam os seguintes critérios de inclusão:

- Bom estado de saúde geral
- Idade: entre 20 e 39 anos

- Ciclo menstrual regular
- Não tiveram aborto recente
- Não usuárias de medicamentos sistêmicos
- Não usuárias de contraceptivos
- Não fumantes

As coletas de sangue e de saliva destas mulheres foram realizadas em dois momentos fisiológicos específicos do ciclo menstrual, nas fases folicular e lútea. A primeira coleta correspondeu sempre à fase folicular (7 a 10 dias após o primeiro dia de sangramento menstrual) e a segunda à fase lútea (14 a 16 dias após a primeira coleta). Desta maneira, as coletas corresponderam ao mesmo ciclo ovariano. Foram obtidas 20 amostras de sangue e de saliva na fase folicular e 20 amostras de sangue e de saliva coletadas na fase lútea, perfazendo um total de 40 amostras de sangue e 40 de saliva (Figura 2).

2- ANÁLISE DA SAÚDE BUCAL

O exame clínico-odontológico das pacientes foi realizado pela pesquisadora, de forma detalhada, com o auxílio de: espelho clínico, sonda exploradora, pinça clínica e rolinho de algodão anotando-se os achados no odontograma (Anexos 3 e 4).

Foram realizadas radiografias panorâmicas das pacientes para avaliar o estado de saúde bucal. Para obtenção das radiografias foram tomados cuidados previstos pelo Ministério da Saúde na portaria nº 453 de 1998.

3- COLETA DE SANGUE

A coleta de sangue teve como objetivo analisar as concentrações séricas de estradiol, progesterona, cortisol e IgA. Era realizada pela manhã, entre 7 e 8 horas, antes da coleta da saliva que foi obtida no mesmo dia.

Para a coleta, estando a paciente em jejum, obtinha-se 10 ml de sangue em tubo vacutainer, por punção de veia periférica. As amostras foram imediatamente processadas para obtenção do soro e analisadas nos Setores de Bioquímica e de Imunologia do Centro de Patologia Clínica do HUB/UnB.

4- COLETA DE SALIVA

Saliva não-estimulada foi coletada sempre no período matutino entre 07h30min e 08h30min (para minimizar o ritmo circadiano) e com a paciente em jejum por um período mínimo de 8 horas. As pacientes foram instruídas a ficarem sentadas nas cadeiras odontológicas por 2 minutos, para relaxar. As participantes foram esclarecidas que, durante a coleta de saliva, evitassem fazer movimentos com a língua, bochechas ou lábios. Decorridos os dois minutos, as participantes eliminavam a saliva na cuspeira a fim de desprezar os resíduos iniciais.

A partir desse momento a coleta foi iniciada no ponto zero. Foram feitos ciclos de 3 minutos, nos quais as pacientes mantinham a saliva na cavidade bucal. Ao final deste período, elas deveriam expelir a saliva residual em tubo Falcon[®] de polipropileno de 50 ml. A ação era repetida mais 2 vezes; o tempo total de coleta foi de 9 minutos.

Amostras que apresentavam cor avermelhada (indicativo de contaminação por sangue) ou muito turvas eram descartadas para evitar erro no resultado.

As amostras de saliva foram aliqüotadas, com micropipeta manual (Marca Gibson[®]), em tubos tipo Eppendorf graduado com capacidade para 1,5 ml. Parte das amostras foi levada imediatamente ao Centro de Patologia Clínica do HUB/UnB para a determinação dos esteróides (estradiol, progesterona, e cortisol), IgA e alfa-amilase. A outra parte foi armazenada em freezer a -80°C, para posterior análise das concentrações de proteína total.

5- FLUXO SALIVAR:

A medida da taxa de fluxo da saliva integral não-estimulada foi realizada imediatamente após a coleta medindo-se o volume, em mililitros, de saliva presente no recipiente e dividindo-se pelo tempo de coleta em minutos.

6- CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL

A determinação da concentração de proteína total foi realizada pela pesquisadora no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas, na Faculdade de Medicina da UnB. Utilizou-se para esta análise o protocolo de ensaio de acordo com o método de Bradford (Bradford, 1976) tendo a albumina bovina como padrão para plotagem

dos resultados obtidos com análise das amostras. Amostras de saliva foram diluídas, em água destilada, na proporção de 1:100. Após a diluição foram tomados 100 µl de cada amostra, utilizando pipeta multicanal e adicionados em poços de placa de microtitulação com 96 poços. Em seguida, em cada poço com as amostras foi adicionado o reagente de Bradford. As análises de cada amostra foram realizadas em triplicata. Nas determinações foram incluídas amostras contendo apenas água e reagente que funcionaram como controle negativo (branco). As placas foram incubadas por 10 minutos, em temperatura ambiente e levadas para leitura no espectrofotômetro (Synergy HT, Biotek, USA) com programa acoplado a um computador.

A leitura foi realizada com absorvância de 560 nm e os resultados expressos em µg/ml.

7- ATIVIDADE DA ALFA-AMILASE

Para a determinação da alfa-amilase, as amostras de saliva foram centrifugadas e o sobrenadante foi separado, diluído em água destilada na proporção de 1:100 (1%). As amostras foram analisadas em um espectrofotômetro para bioquímica modelo Architect C 8000 (Abbott Clinical Chemistry, Wiesbaden, Alemanha) a 404 nm com reagentes e calibradores fornecidos pelo próprio fabricante. Utilizou-se o cloronitrofenil- α -maltotriose (CNP3) como substrato.

Os resultados foram expressos em U/l.

8- CONCENTRAÇÃO DE ESTRADIOL, PROGESTERONA E CORTISOL

Para a determinação das concentrações de estradiol, progesterona e cortisol as amostras de saliva foram centrifugadas e o sobrenadante separado para análise dos referidos esteróides.

Os níveis de estradiol, progesterona e cortisol no soro e na saliva foram determinados por quimioluminescência (Immunolite 2000, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA) com reagentes e calibradores fornecidos pelo próprio fabricante. Utilizou-se 10µl de soro /saliva e a curva de calibração variou de 20 a 2000 pg/ml para estradiol; 0,2 a 40 ng/ml para a progesterona e 1 a 50 µg/dl para o cortisol.

9- IMUNOGLOBULINA A

Para a quantificação de IgA utilizou-se o método de Nefelometria com o equipamento Behring Nephelometer II (Dade Behring - USA) e com reagentes e calibradores fornecidos pelo próprio fabricante.

As amostras de saliva foram centrifugadas e o sobrenadante separado para análise da imunoglobulina. Os resultados foram expressos em mg/dl.

10- ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de chi-quadrado e o teste exato de Fisher foram empregados para se avaliar duas variáveis qualitativas.

Quando as distribuições das variáveis quantitativas não apresentavam distribuição normal foram realizados testes não paramétricos. O teste de Kruskal-Wallis comparou uma variável qualitativa, composta por mais de duas categorias, com uma variável quantitativa, ou seja, este teste compara 2 ou mais amostras independentes em relação a uma variável de interesse. O teste de correlação de Spearman foi utilizado quando foram comparadas duas variáveis quantitativas.

Regressão logística foi realizada com a percepção de xerostomia como variável dependente e as variáveis parageusia e fluxo salivar como independentes. A variável significativa teve a razão de chance (odds ratio) com seu respectivo intervalo de confiança de 95% registrado.

A hipótese nula (H_0) foi rejeitada quando o valor de p foi $<0,05$. Para os cálculos estatísticos foi empregado o software SPSS (versão 15; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

RESULTADOS

ANÁLISE DESCRITIVA E COMPARATIVA

ANÁLISE GERAL DOS GRUPOS

O grupo gestante constou de 30 mulheres acompanhadas durante os trimestres gestacionais. Considerando os 3 períodos gestacionais obtiveram-se 70 amostras de saliva e 70 de soro. O grupo não-gestante, composto de 20 mulheres, avaliado nas fases folicular e lútea forneceu 40 amostras de saliva e 40 de soro (Figuras 1 e 2).

As gestantes encontravam-se na faixa etária compreendida entre 20-39 anos e as não-gestantes entre 23-39 anos (Tabela 1). Houve prevalência da terceira década (21-30 anos), não existindo diferenças entre as idades em ambos os grupos ($p=0,59$).

Tabela 1- Faixa etária de gestantes e não-gestantes

Idade (anos)	Gestantes		Não-gestantes	
	n	%	n	%
20-30	23	76,6	14	70,0
31-40	7	23,3	6	30,0
Total	30	100,0	20	100,0

Teste de chi-quadrado (X^2) = 0,28; valor de p = 0,59

ANÁLISE DA SAÚDE BUCAL

O exame clínico-odontológico das participantes foi baseado numa ficha clínica padronizada (Anexos 3 e 4). Foram realizadas radiografias panorâmicas para identificar perda óssea alveolar, presença de raízes residuais e dentes inclusos.

A análise comparativa e descritiva de dados obtidos da anamnese odontológica contida no questionário estruturado estão referidos na Tabela 2.

Tabela 2- Análise comparativa de dados do questionário estrutural aplicado em gestantes e não-gestantes

Variável	Gestantes n=30		Não-gestantes n= 20		Teste Chi-quadrado Valor de p
	n	%	n	%	
Escovações ao dia					
1 vez	0	0	6	30,0	<0,001
2 vezes	13	43,3	13	65,0	
3 vezes	17	56,6	1	5,0	
Uso de fio dental					
Todos os dias	5	16,6	2	10,0	0,247
Pouco freqüente	22	73,3	18	90,0	
Não usa	3	10,0	0	0	
Sangramento gengival	24	80,0	5	25,0	<0,001
Odontalgia	9	30,0	0	0	< 0,01*
Xerostomia	15	50,0	0	0	<0,001*
Parageusia	19	63,3	0	0	<0,0001*

* Teste exato de Fisher.

Sangramento gengival foi relatado por 24 (80%) das gestantes e por apenas 5 (25%) das não-gestantes. Quanto à queixa de odontalgia, xerostomia e parageusia, observou-se que nenhuma das não-gestantes apresentavam estes sintomas, o que não se repetiu no grupo das gestantes, em que 9 (30%) queixaram-se de odontoalgia; 15 (50%) de xerostomia e 19 (63,3%) de parageusia (Tabela 2). A parageusia caracterizou-se por uma sensação de paladar desagradável na boca; 17 (89,5%) das gestantes percebiam um gosto amargo e 2 (10,5%) não souberam identificar o gosto. A variável parageusia foi significativa para predizer a percepção de xerostomia (Regressão logística $p < 0,0001$).

Os dados do exame clínico-odontológico e radiográfico estão expressos na Tabela 3. Verificou-se que 10 (33,3%) gestantes e 13 (65%) não-gestantes não apresentavam dentes cariados enquanto que 14 (46,6%) das gestantes e 5 (25%) das não-gestantes apresentava 1 a 3 dentes com lesão de cárie. Lesões periapicais não foram observadas em 17 (56,6%) gestantes e em 14 (70%) não-gestantes. Notou-se, contudo que 10 (33,3%) das gestantes e 3 (15%) das não-gestantes apresentavam pelo menos uma lesão periapical. Cálculo supra-gengival estava presente em 17 (56,6%) das gestantes e em 5 (25%) das

não-gestantes. Perda óssea alveolar foi notada em 9 (30%) das gestantes e em 4 (20%) das não-gestantes. Raízes residuais estavam presentes em 8 (26,6%) de gestantes e em 2 (10%) de não-gestantes. Outras variáveis analisadas e comparadas de dados do exame clínico-odontológico e radiográfico estão expressas na Tabela 3.

Tabela 3- Análise comparativa de dados do exame clínico-odontológico e radiográfico em gestantes e não-gestantes

Variável	Gestantes N=30		Não-gestantes N= 20		Valor de p
	n	%	n	%	
nº de dentes cariados					
0	10	33,3	13	65,0	0,16
1-3	14	46,6	5	25,0	
4-7	5	16,6	2	10,0	
8-10	1	3,3	0	0	
Lesões periapicais					
0	17	56,6	14	70,0	0,15
1	10	33,3	3	15,0	
2	1	3,3	3	15,0	
3	2	6,6	0	0	
Cálculo supra-gengival	17	56,6	5	25,0	0,03
Perda óssea alveolar	9	30,0	4	20,0	0,43
Raízes residuais	8	26,6	2	10,0	0,28*
Extrações indicadas	11	36,6	2	10,0	0,04
Dentes inclusos	6	20,0	4	20,0	1,0*

* Teste exato de Fisher.

FLUXO SALIVAR

Na Tabela 4 está expressa a análise descritiva do fluxo salivar em gestantes e não-gestantes.

A avaliação do fluxo da saliva integral não-estimulada realizada no grupo gestante em cada um dos 3 trimestres gestacionais não demonstrou diferenças significativas. Da

mesma maneira não se observaram diferenças quando estes resultados foram comparados com o fluxo salivar do grupo não-gestante obtidos na fase folicular e lútea (Figura 3).

Tabela 4- Análise descritiva das variáveis fluxo salivar, concentração de proteína total e atividade da alfa-amilase em amostras de saliva de gestantes e não-gestantes

Variável	Grupos	n	Mediana	Média	DP
Fluxo salivar (ml/min)	T1*	10	0,26	0,26	0,13
	T2	30	0,20	0,22	0,09
	T3	30	0,20	0,24	0,13
	C1**	20	0,22	0,336	0,24
	C2	16	0,26	0,27	0,11
	Proteína total (µg/ml)	T1	10	1436,41	1426,80
T2		28	1566,40	1583,83	261,56
T3		28	1558,87	1579,62	252,16
C1		18	1656,40	1663,96	137,02
C2		18	1835,74	1847,12	476,37
Alfa-amilase (U/l)		T1	10	33731,80	45753,00
	T2	28	78831,35	76469,84	48377,91
	T3	30	36151,05	47570,16	31925,01
	C1	18	33287,00	37281,50	24373,94
	C2	16	30446,00	32134,84	17833,11

*T1, T2, T3- 1º, 2º e 3º trimestres gestacionais respectivamente

**C1; C2 fase folicular e fase lútea de não-gestantes respectivamente

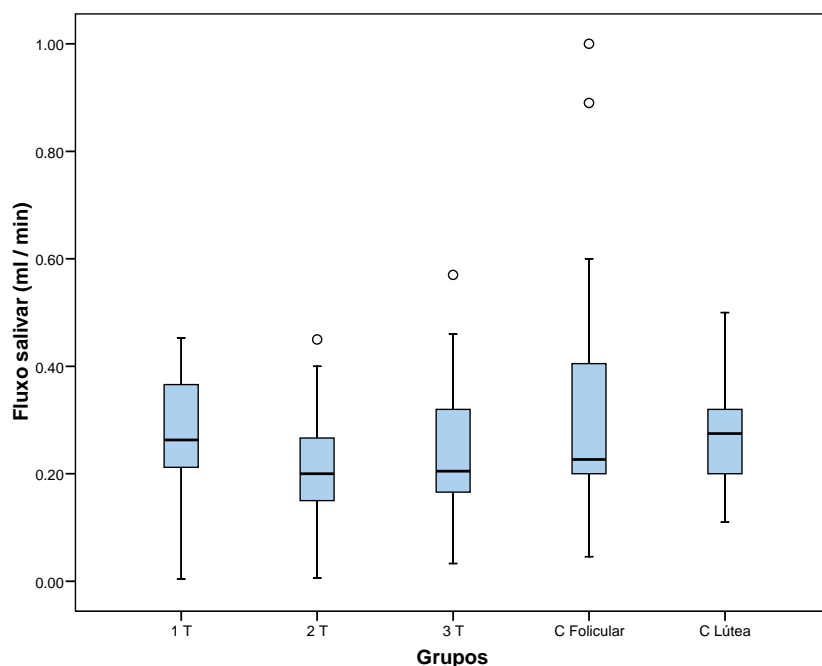


Figura 3- Análise comparativa do fluxo salivar entre os trimestres gestacionais (T) e nas fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis, $p= 0,29$)

CONCENTRAÇÕES DE PROTEÍNA TOTAL

Análise descritiva das concentrações de proteína total salivar em gestantes e não-gestantes está na Tabela 4.

As análises realizadas em cada trimestre gestacional e nas fases folicular e lútea de não-gestantes demonstraram que não houve diferenças significantes na concentração das mesmas entre os trimestres e fases do ciclo menstrual ($p= 0,115$), Figura 4.

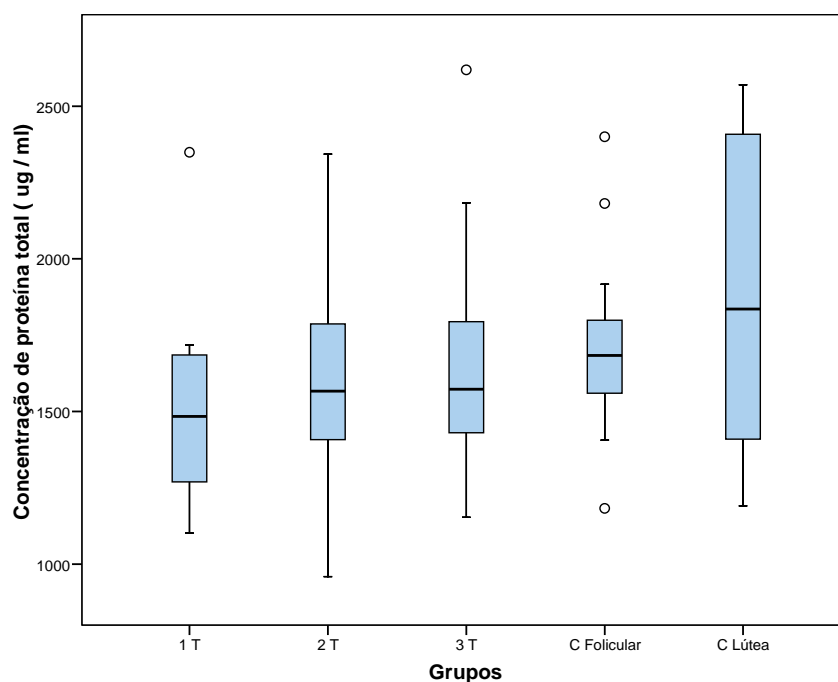


Figura 4- Análise comparativa da concentração de proteína total entre os trimestres gestacionais (T) e nas fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis $p=0,115$)

ATIVIDADE DA ALFA-AMILASE

A análise descritiva das concentrações de alfa-amilase obtidas em amostras de saliva de gestantes e não-gestantes pode ser observada na Tabela 4.

Comparações realizadas entre os períodos gestacionais e o ciclo menstrual mostraram diferenças estatísticas significantes ($p=0,025$) em que, maiores concentrações ocorreram durante os trimestres gestacionais cujos valores foram diferentes entre si e superiores àqueles obtidos nas fases folicular e lútea. Adicionalmente, na análise dos trimestres gestacionais observou-se que a atividade da enzima foi mais evidente no segundo trimestre. Em não-gestantes os momentos avaliados, fase folicular e lútea, expressaram resultados semelhantes (Figura 5).

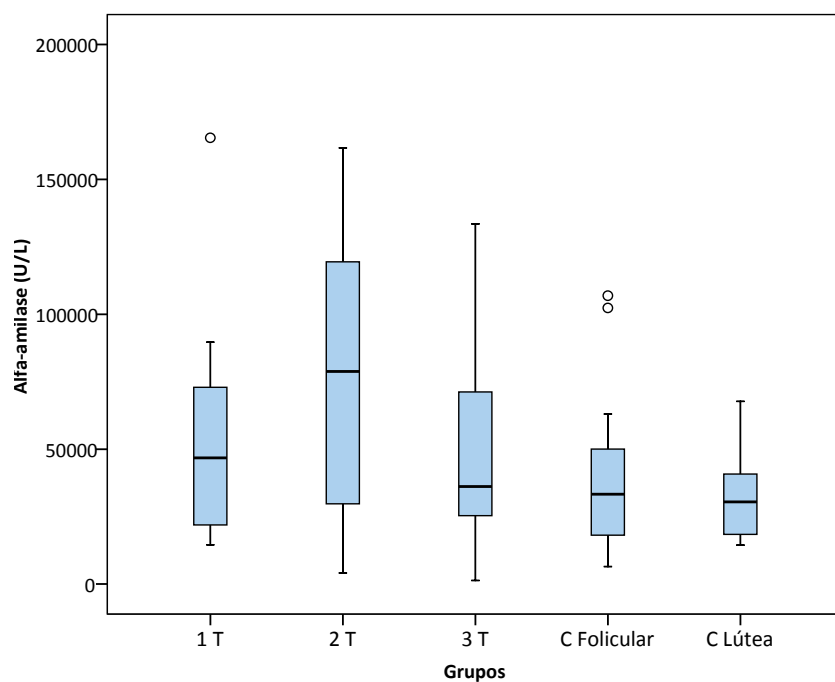


Figura 5- Análise comparativa da atividade de alfa-amilase entre os trimestres gestacionais (T) e nas fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis $p=0,025$)

ESTERÓIDES

Na Tabela 5 estão expressas as análises descritivas e comparativas de progesterona e cortisol obtidas em soro e saliva de gestantes e não-gestantes.

Tabela 5- Análise descritiva e comparativa das medianas das variáveis estradiol, progesterona, cortisol e IgA salivares e séricas em gestantes e não-gestantes

Variável	Gestantes						Não-gestantes			
	Trimestres						Fases			
	1° n=10		2° n=30		3° n=30		Folicular n=20		Lútea n=20	
	soro	saliva	soro	saliva	soro	saliva	soro	saliva	soro	saliva
Progesterona (ng/ml)	23,15	0,355	39,65	0,487	>40	1,065	0,351	<0,2	7,46	0,218
Cortisol (µg/dl)	21	< 1	24	1,015	27,8	1,205	16,35	1,11	13,4	< 1
IgA (mg/dl)	255	11,3	146,5	14,4	161	17,2	244	16,2	254	18,0

Em nosso material, a análise estatística do estradiol não foi realizada devido à limitação do método de quimioluminescência para leitura deste esteróide na saliva.

As concentrações de progesterona no soro e na saliva mostraram elevações progressivas ao longo dos trimestres gestacionais. O mesmo se observou em não-gestantes, ou seja, houve aumento deste hormônio da fase folicular para a lútea tanto no soro como na saliva (Figura 6).

As elevações nos níveis de progesterona salivar ao longo dos momentos analisados, em ambos os grupos de estudo, tiveram resultados estatisticamente significantes ($p < 0,0001$), Figura 7.

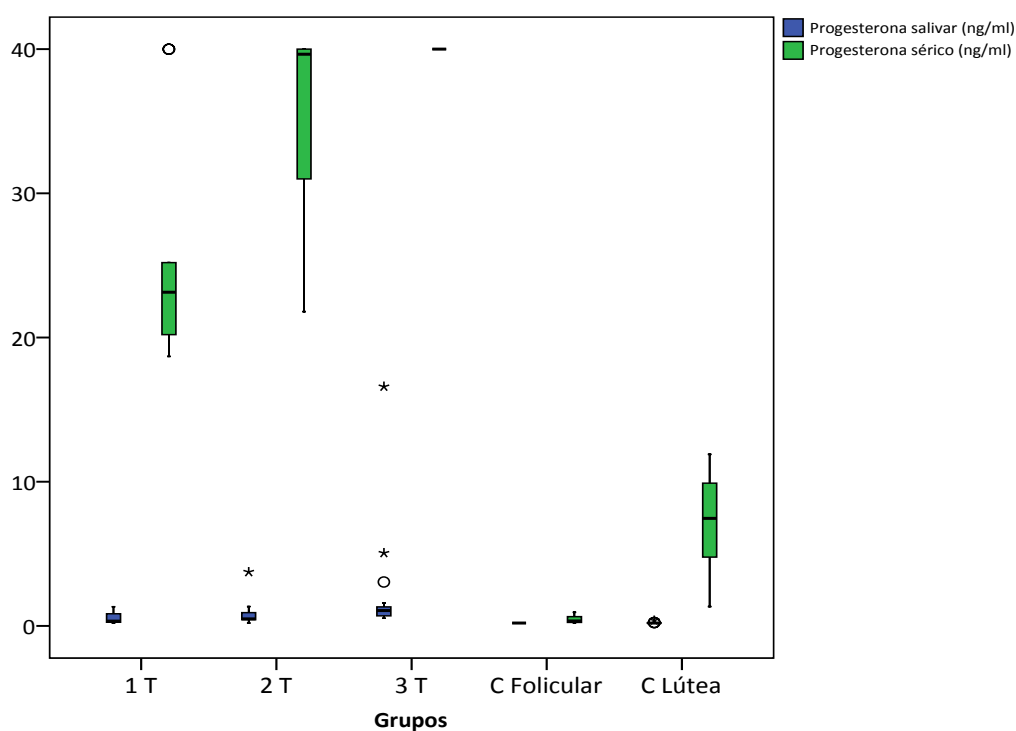


Figura 6- Análise descritiva e comparativa dos níveis de progesterona salivar e sérico entre os trimestres gestacionais (T) e as fases folicular e lútea (C) em não-gestantes

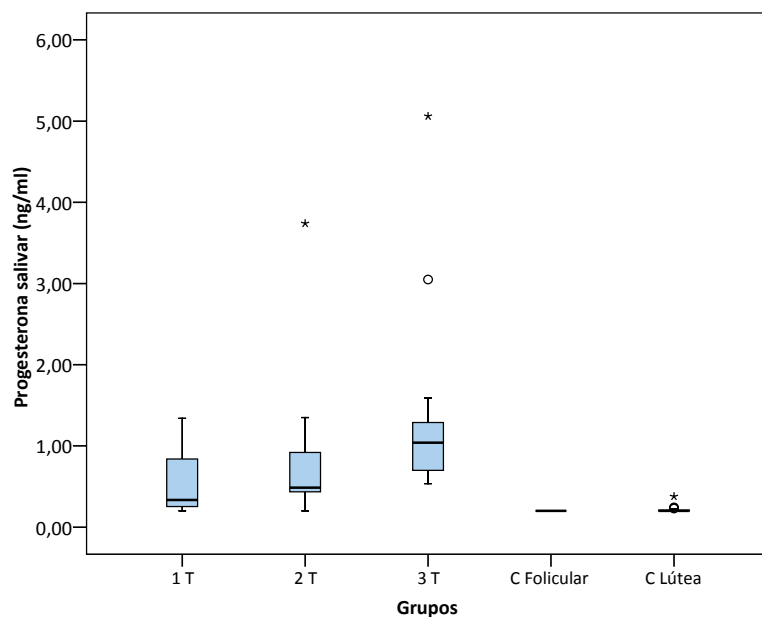


Figura 7- Análise descritiva e comparativa de progesterona salivar entre os trimestres gestacionais (T) e as fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis $p < 0,0001$)

A análise do cortisol indicou elevação dos níveis séricos e salivares em gestantes quando comparados ao grupo não-gestante. A análise estatística demonstrou diferença na dinâmica dos valores do cortisol sérico e salivar em todos os momentos analisados (Tabela 5 e Figura 8).

No soro, ao longo dos trimestres gestacionais, observou-se elevação progressiva, estatisticamente significativa dos níveis de cortisol ($p < 0,0001$). Igualmente, os valores encontrados na saliva acompanharam a elevação sérica ($p = 0,021$).

A Figura 9 demonstra as alterações ocorridas com valores salivares do cortisol.

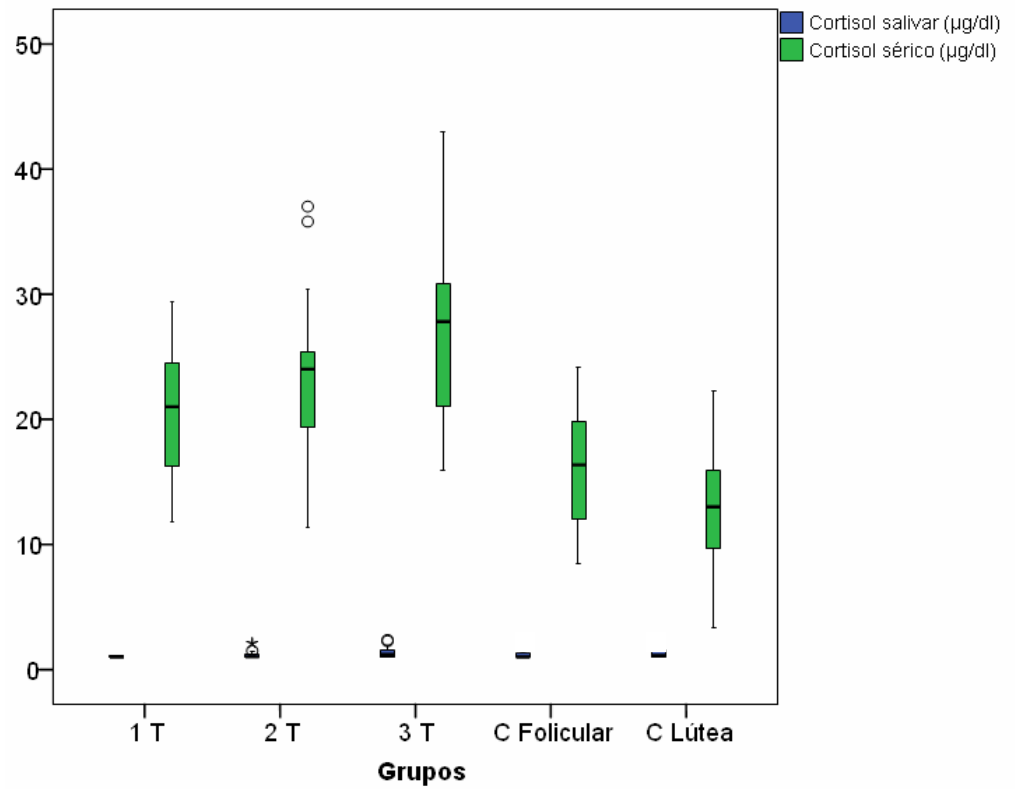


Figura 8- Análise descritiva e comparativa dos níveis de cortisol salivar e sérico entre os trimestres gestacionais (T) e as fases folicular e lútea (C) em não-gestantes

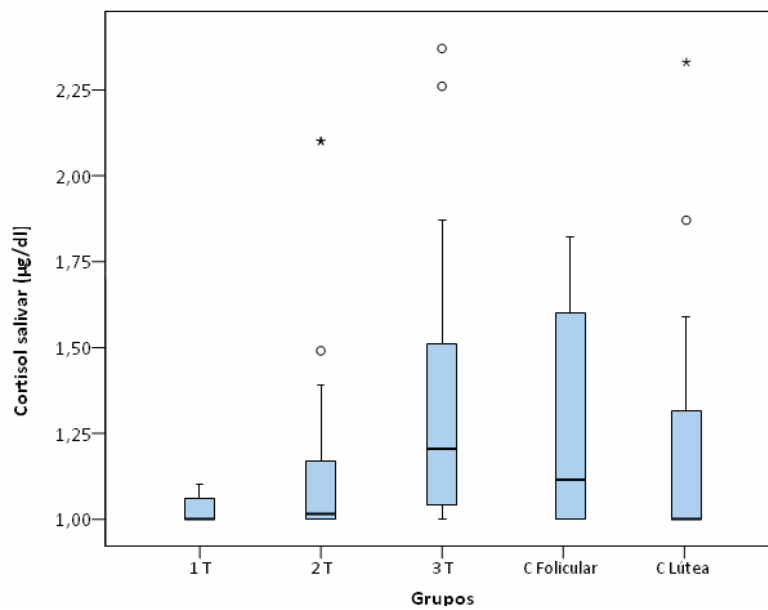


Figura 9- Análise descritiva e comparativa de cortisol salivar entre os trimestres gestacionais (T) e as fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis $p=0,021$)

IMUNOGLOBULINA A

As análises descritivas e comparativas dos resultados obtidos na determinação da IgA no soro e na saliva, nos 3 períodos gestacionais e nas fases do ciclo menstrual, estão expressas na Tabela 5 e Figura 10.

Embora a análise dos níveis salivares de IgA estivessem dentro do padrão de referência, houve tendência à elevação ao longo dos trimestres gestacionais. Porém, não se notou diferença estatística nas variações ocorridas nos períodos estudados ($p= 0,145$). Igualmente, em não-gestantes a IgA salivar mostrou tendência à elevação da fase folicular para a lútea, mas sem significância estatística (Figura 11).

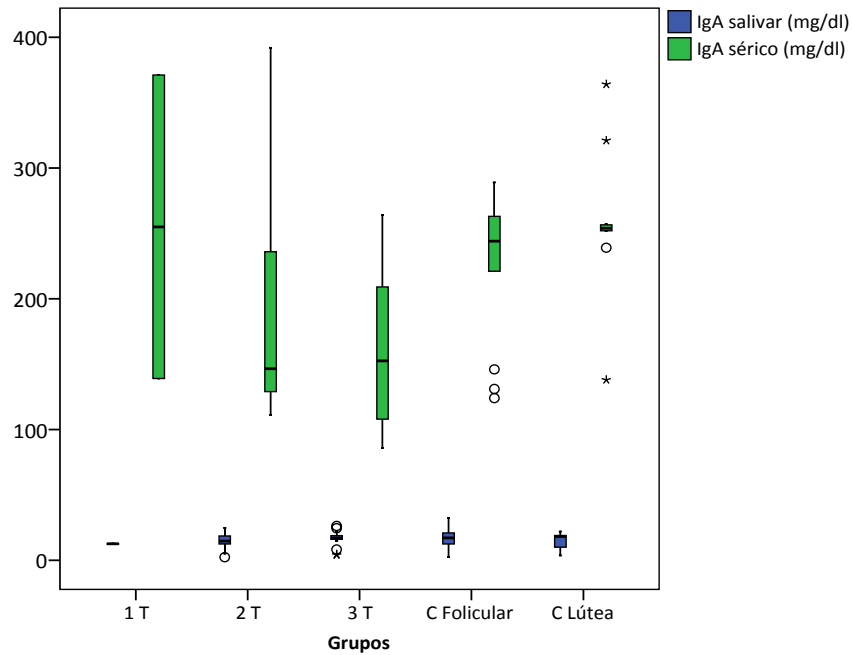


Figura 10- Análise descritiva e comparativa dos níveis de IgA salivar e sérico entre os trimestres gestacionais (T) e fases folicular e lútea (C) em não-gestantes

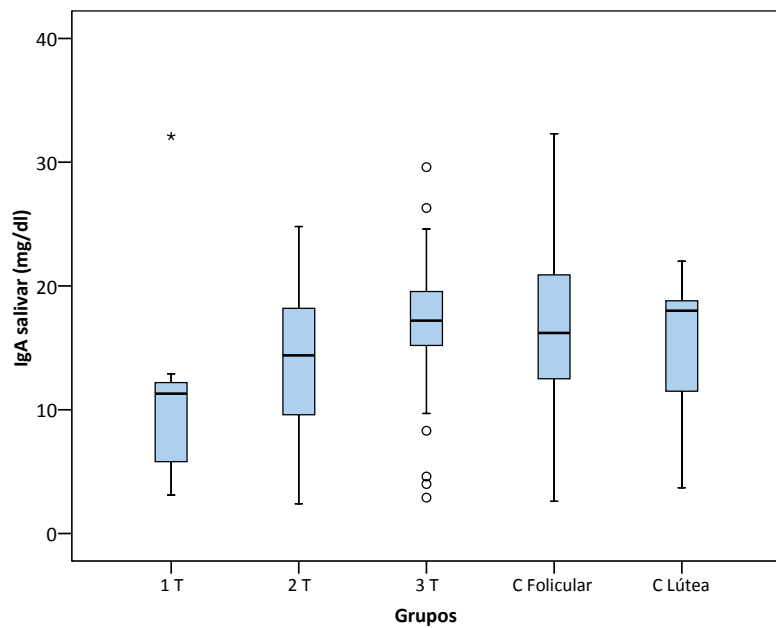


Figura 11- Análise descritiva e comparativa de IgA salivar entre os trimestres gestacionais (T) e as fases folicular e lútea (C) em não-gestantes (teste Kruskal-Wallis $p=0,145$)

ANÁLISES DE CORRELAÇÃO

SORO vs SALIVA

A Tabela 6 mostra os dados de correlação do cortisol e da progesterona no soro e na saliva.

Tabela 6- Análise não paramétrica de correlação das concentrações de cortisol e progesterona em amostras de soro e saliva

Grupo avaliado	Momento da avaliação	Análise de correlação de Spearman					
		Progesterona		Cortisol		IgA	
		n	Valor de <i>p</i>	n	Valor de <i>p</i>	n	Valor de <i>p</i>
Gestante	Primeiro Trimestre	10	0,026	10	0,679	8	0,485
	Segundo Trimestre	30	<0,001	30	0,047	26	0,777
	Terceiro Trimestre	30	- *	30	<0,0001	26	0,790
Não-gestante	Fase Folicular	20	- *	20	0,006	18	0,076
	Fase Lútea	15	0,020	15	0,036	15	0,388

* Ao menos uma das variáveis é constante.

Foram correlacionadas as concentrações de progesterona do soro e da saliva. Correlações nos níveis da progesterona no soro e na saliva foram observadas no primeiro trimestre (Figura 12) e no segundo trimestre gestacionais ($p=0,02$ e $p < 0,001$ respectivamente). No terceiro trimestre gestacional não foi possível analisar a correlação soro/saliva uma vez que os resultados obtidos no soro eram registrados como valores iguais ou maiores que o limite máximo da curva de calibração. Portanto foram expressos valores agrupados/constantes (> 40 ng/ml).

Em relação ao grupo não-gestante, houve correlação soro/saliva na fase lútea ($p=0,02$). Na fase folicular a correlação não foi possível uma vez que os valores obtidos na saliva eram expressos como valores iguais ou inferiores ao menor valor da curva de calibração ($< 0,2$ ng/ml)- Tabela 6.

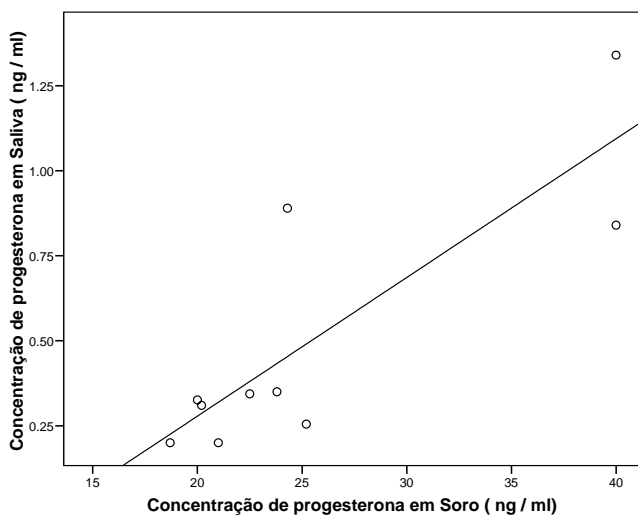


Figura 12- Correlação das concentrações de progesterona em saliva e soro em gestantes do primeiro trimestre (Teste de correlação $p < 0,02$)

Foram correlacionadas as concentrações de cortisol encontradas no soro e na saliva.

Observou-se correlação no segundo e no terceiro trimestres gestacionais. A correlação soro/saliva foi mais evidente no terceiro trimestre ($p < 0,0001$), Tabela 6 e Figura 13. Correlação também foi obtida na análise do cortisol salivar e sérico do grupo não-gestante tanto na fase folicular ($p=0,006$) quanto na fase lútea ($p=0,036$), Tabela 6.

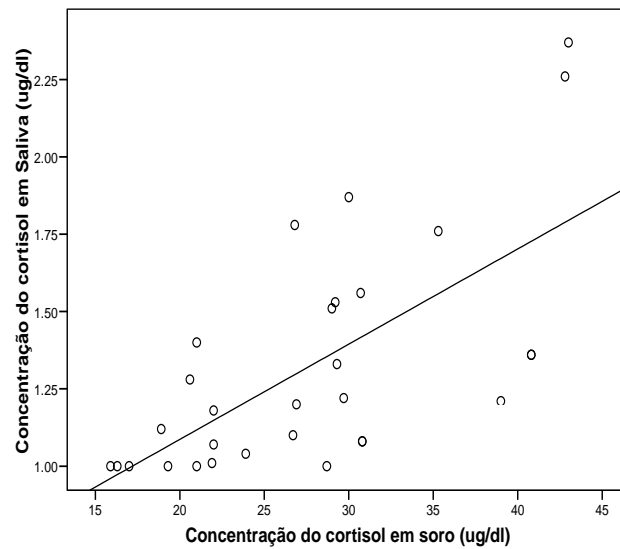


Figura 13- Comparação das concentrações de cortisol em saliva e soro em gestantes do terceiro trimestre. (Teste de correlação $p < 0,0001$)

Em relação à IgA, correlação soro/saliva não foi obtida em nenhum dos momentos avaliados, tanto em gestantes como em não-gestantes. A Figura 14 ilustra a análise na fase folicular de não-gestantes.

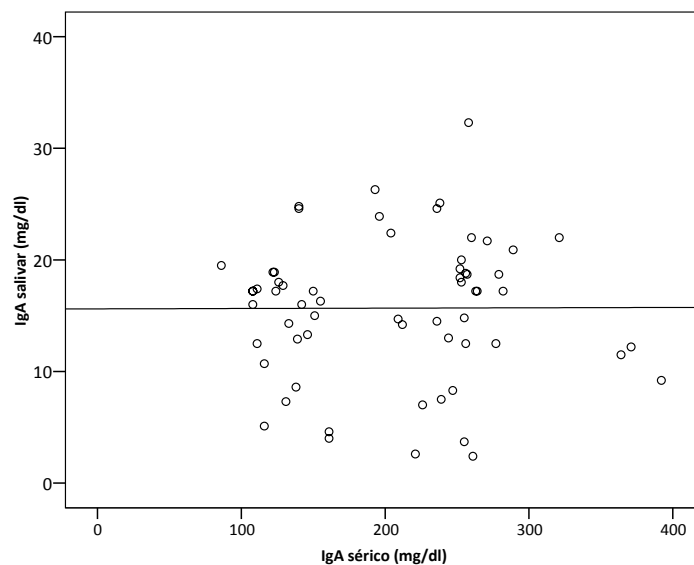


Figura 14- Correlação das concentrações de IgA na fase folicular (Teste de correlação $p = 0,076$)

ALFA-AMILASE vs CORTISOL

Foram realizadas correlações da alfa-amilase com cortisol no soro e na saliva.

A correlação não foi significativa quando se analisou o cortisol sérico e a amilase salivar Tabela 7.

Correlações inversas foram observadas nos resultados do cortisol e alfa-amilase salivares. A análise dessas correlações mostrou-se significativa tanto no grupo gestante ($p=0,02$) como no grupo não-gestante ($p=0,03$), Tabela 7.

Tabela 7- Análise não paramétrica de correlações entre cortisol e amilase salivar

Amostras avaliadas	n	Análise de correlação de Spearman			
		Cortisol salivar vs Amilase salivar		Cortisol sérico vs Amilase salivar	
		Valor de p	r	Valor de p	r
Gestantes	70	0,02*	- 0,26	0,14	-0,18
Não-gestantes	40	0,03*	- 0,39	0,15	-0,28

* Resultados que obtiveram correlação inversa estatisticamente significante

FLUXO SALIVAR vs ALFA-AMILASE E CORTISOL SALIVAR

A análise das correlações entre fluxo salivar e atividade da alfa-amilase não foi significativa tanto no grupo gestante como não-gestante. Da mesma maneira, fluxo e cortisol salivares não exibiram correlação (Tabela 8).

Tabela 8- Análise não paramétrica de correlação entre fluxo salivar e alfa-amilase e fluxo salivar e cortisol salivar

Amostras avaliadas	n	Análise de correlação de Spearman	
		Fluxo salivar vs Amilase salivar	Fluxo salivar vs Cortisol salivar
		Valor de p	Valor de p
Gestantes	70	0,652	0,540
Não gestantes	40	0,619	0,634

DISCUSSÃO

Apesar de suas múltiplas funções, mediadas por componentes orgânicos e inorgânicos, a saliva ainda necessita de maiores estudos que venham esclarecer seu verdadeiro papel na manutenção da saúde bucal e como indicador do estado de saúde/doença (Leone & Oppenheim, 2001; Choe *et al*, 1983).

Alterações hormonais em mulheres podem afetar sua fisiologia sistêmica incluindo a da cavidade bucal. Além de efeitos no metabolismo do tecido periodontal, a gestação, o ciclo menstrual e a terapia de reposição hormonal podem, em curto prazo, induzir alterações no fluxo salivar e nos componentes bioquímicos da saliva (Laine, 2002; Salvolini *et al*, 1998). Estudos prévios têm demonstrado resultados conflitantes quando se avaliam os componentes salivares no período gestacional e/ou durante o ciclo ovariano da mulher (Laine *et al*, 2000; D'Alessandro *et al*, 1989; Hugoson, 1972). Um dos fatores que podem interferir na análise desses resultados é que a composição da saliva difere quando produzida espontaneamente, após estímulo ou quando se avalia saliva integral e saliva de diferentes glândulas. Da mesma maneira, características da população estudada em cada trabalho como: fatores genéticos, demografia, hábitos alimentares, entre outros, dificultam a comparação dos resultados.

Apesar da mensuração da saliva estimulada ser importante para avaliar a capacidade funcional da glândula, a saliva total não-estimulada predomina durante a maior parte do dia e durante o sono, além de ser importante na manutenção da saúde bucal (Rockenbach *et al*, 2006; Salvolini *et al*, 1998). Por isso, neste estudo, optou-se por utilizar a saliva total não-estimulada, obtida de gestantes e não-gestantes, para avaliar o fluxo salivar, concentração de proteína total, atividade da alfa-amilase, níveis de esteróides (estradiol, progesterona e cortisol) e de IgA. Esses parâmetros salivares foram descritos e comparados em cada um dos 3 trimestres gestacionais e nas fases folicular e lútea de não-gestantes. Após esta comparação, os resultados dos esteróides e da IgA salivares foram correlacionados com aqueles obtidos em amostras de soro nos mesmos períodos.

A análise desses perfis permitiu demonstrar diferenças na composição salivar de mulheres gestantes e não-gestantes e correlacionar valores de parâmetros salivares e séricos.

A faixa etária dos grupos estudados foi similar. Desta maneira, a variável idade não deve ter participado nas diferenças observadas nos estudos dos parâmetros salivares e séricos avaliados.

A análise descritiva dos achados clínicos nos 2 grupos, obtidos através do questionário estruturado, mostrou que estes eram diferentes em algumas características. Embora o número de escovações diárias fosse maior no grupo das gestantes e que o uso de fio dental fosse semelhante nos 2 grupos, as gestantes relataram maior índice de sangramento gengival e apresentaram maior frequência de cálculo supra-gengival e odontalgia. Quanto ao número de lesões de cárie, não houve diferença estatística entre os grupos analisados, apesar de ambos apresentarem altos índices, necessitando de tratamentos restauradores. Não é possível inferir os resultados obtidos como consequência do estado gestacional uma vez que tais alterações bucais são conhecidamente multifatoriais (Lenander-Lumukari & Loimaranta, 2000).

A coleta de saliva integral não-estimulada é um método prático e mais representativo das condições fisiológicas das secreções bucais, sem a interferência de fatores externos (Chiappin *et al*, 2007). A coleta da verdadeira saliva não-estimulada é de difícil obtenção, sofrendo influência de estímulos ambientais os quais podem determinar uma ampla variedade de padrões do fluxo salivar (Rockenbach *et al*, 2006).

Em média, o fluxo de saliva não-estimulada é de 0,3 ml/min (Humphrey *et al*, 2001). Considerara-se como valores normais de referência o fluxo salivar não-estimulado de 0,1- 0,5 ml/min (Rockenbach *et al*, 2006; Edgar 1992). Esse dado concorda com nossos resultados uma vez que as médias do fluxo salivar obtidas tanto em gestantes como em não-gestantes variaram de 0,22 a 0,33 ml/minuto.

A modificação do fluxo salivar durante a gestação é um tema controverso. Puy (2006) sugeriu que há uma hiperestimulação das glândulas salivares durante a primeira metade da gravidez e durante a menstruação. Esses resultados diferem dos de outros

autores que observaram diminuição na taxa do fluxo de saliva estimulada e não-estimulada no final da gestação (Hugson, 1972; Kullander & Sonesson, 1965) e redução do fluxo salivar em gestantes quando comparados com mulheres não-gestantes (Widerstron & Bratthall, 1984). Contudo, em nenhum dos trabalhos apresentados, os níveis do fluxo salivar ficaram abaixo daqueles aceitáveis, ou seja, menor que 0,1 ml/min. Portanto, nos trabalhos revisados não se caracterizou hipossalivação durante o período gestacional.

No nosso estudo não foram observadas diferença estatisticamente significativa entre o fluxo salivar de mulheres gestantes durante os 3 períodos gestacionais e não-gestantes nas fases folicular e lútea do ciclo menstrual. Os resultados estão de acordo com estudos prévios que utilizaram saliva total estimulada (Kivela *et al.* 2003; D'Alessandro *et al.*, 1989; Marder *et al.*, 1972) e não-estimulada e não demonstraram alteração significativa no fluxo salivar durante a gestação e no período pós-parto (Rockenbach *et al.*, 2006; Laine *et al.*, 2000, Laine *et al.*, 1988).

Apesar dos limites do fluxo salivar não estarem alterados durante a gestação, 50% das gestantes analisadas relataram sentir sensação de boca seca- xerostomia- depois que engravidaram. Offenbacher *et al.* (1996) afirmam que mulheres grávidas podem apresentar ressecamento persistente da mucosa, caracterizando dessa forma um quadro de xerostomia durante o período gestacional.

Adicionalmente, 63,3% das gestantes relataram parageusia, referida como sensação de sabor desagradável, principalmente sensação de gosto amargo. Encontrou-se um trabalho na literatura que demonstrou associação significativa entre diminuição do fluxo salivar durante a gestação e presença de sabor desagradável (González *et al.*, 2001). Diferentemente desse estudo, a parageusia na presente investigação estava associada à sensação de boca seca e não com diminuição do fluxo salivar.

Na saliva as proteínas se apresentam em diversas formas como: imunoglobulinas, lisozimas, enzimas, mucinas, outras glicoproteínas e oligopeptídeos (Edgar, 1992). A concentração de proteína pode estar relacionada com a idade, dieta, fluxo salivar, tipo, duração do estímulo populações específicas e condições fisiopatológicas (Siqueira, 2005; Nauntofte *et al.*, 2005; Nicolau *et al.*, 2003; Humphrey *et al.*, 2001). A alfa-amilase é a mais abundante enzima salivar, contribuindo com cerca de 40- 50% do total das proteínas salivares (Nauntofte *et al.*, 2005).

Na presente investigação, as determinações das concentrações de proteína total salivar não demonstraram diferenças quando os trimestres gestacionais e as duas fases do ciclo menstrual foram comparados, estando dentro dos valores de referência (IBL Imuno-Biological Laboratories Alemanha, 2006).

A atividade da alfa-amilase apresentou diferenças significantes entre gestantes e não-gestantes em que os valores se incluíram entre aqueles de referência: 11.900 – 305.000 U/l (IBL Imuno-Biological Laboratories Alemanha, 2006).

Salvolini *et al* (1998) compararam saliva não-estimulada de gestantes e não-gestantes e demonstraram aumento na concentração de proteína total e alfa-amilase no primeiro e no segundo trimestre gestacional quando comparados com gestantes de 40 semanas (final da gestação) e mulheres não gestantes. Concordando com os achados de Salvolini *et al* (1998), observamos maior atividade da enzima no segundo trimestre; a atividade enzimática da alfa-amilase foi menor no terceiro trimestre e em não-gestantes.

Hugoson (1972) observou aumento na concentração de proteína total em saliva estimulada de parótida durante a gestação. O autor sugeriu que tal fato poderia corresponder a alterações no conteúdo da alfa-amilase a qual representa o maior componente da parótida. Esses resultados diferiram daqueles descritos por Laine *et al* (1988) que estudaram as alterações da saliva humana integral estimulada em mulheres durante os trimestres gestacionais, no período de lactação e após a lactação. Não observaram alterações significantes na concentração de proteína total, nem na atividade de alfa-amilase salivar durante os referidos períodos.

D'Alessandro *et al* (1989) estudaram 107 gestantes dividindo-as em trimestres gestacionais e compararam com mulheres no puerpério e não-gestantes; observaram que as variações na atividade da alfa-amilase, nesses grupos não foi significante, porém houve uma diminuição nas concentrações de proteína total em gestantes e mulheres no puerpério, quando comparadas com não-gestantes.

A imunoglobulina A é a forma isotípica dominante de gamaglobulina em todas as superfícies mucosas e atua como um sistema de defesa, de primeira linha, contra a invasão microbiana. Este componente imunológico inibe a aderência dos microrganismos à superfície das células da mucosa e impede a penetração nos tecidos orgânicos (Souza *et al*, 2003).

Durante a gravidez, não se tem constatado aumento dos níveis séricos de imunoglobulinas IgA, IgG ou IgM. Rocklin *et al* (1979) realizaram revisão da imunologia materno-fetal e concluíram que os vários componentes da imunidade permanecem basicamente intactos durante o período gestacional. As opiniões divergem visto que, Laine (2002) sugere que as alterações hormonais relacionadas à produção de estrógeno e progesterona poderiam alterar os níveis de IgA salivares devido à modulação do sistema imune neste período fisiológico.

Rockenbach *et al* (2006) relataram aumento dos níveis de IgA na saliva quando compararam grupos de gestantes e não-gestantes. Widerstrom & Bratthall (1984), em estudo longitudinal, observaram, utilizando saliva total estimulada, maior concentração de IgA salivar em gestantes que em não-gestantes. Os autores não notaram diferença estatisticamente significativa quando compararam os níveis de IgA nas fases menstrual, folicular e lútea.

Em oposição a essas observações, Donat *et al* (1977) não demonstraram diferenças nos níveis de IgA em gestantes.

Na presente pesquisa, os níveis séricos, em todos os momentos avaliados, mostraram valores dentro dos limites normais de referência: 60 a 400 mg/dl (Dade Behring®). Da mesma maneira, os índices de IgA salivar estavam incluídos entre os valores ditos de referência: 6 a 30 mg/dl (Dade Behring®) de acordo com informações de Rockenbach *et al* (2006).

Não houve diferença estatística nas variações obtidas nos períodos. Porém, observou-se tendência à elevação gradual ao longo dos trimestres gestacionais. Em não-gestantes, a IgA salivar mostrou tendência a elevar-se da fase folicular para a lútea.

Na revisão da literatura, não encontramos valores salivares consensuais de referência. A implantação de uma padronização internacional para a faixa da IgA salivar poderia contribuir para reduzir as variações encontradas nos trabalhos.

O intervalo dos valores considerados como de referência é amplo, refletindo a larga variação da faixa de normalidade. Desta maneira, é difícil usar este parâmetro salivar como marcador para diagnóstico de doença sistêmica e monitorar a saúde geral (Lawrence, 2002).

Nenhuma correlação nas concentrações de IgA obtidas no soro e na saliva durante os trimestres gestacionais e em não-gestantes foi detectada. Diversos autores já relataram

inexistência de correlação direta entre nível de IgA no soro e quantidade de IgA nas secreções externas, indicando que os indivíduos podem apresentar alterações isoladas em qualquer destes compartimentos (Souza et al, 2003; Donat, 1977; Tomasi, 1972).

Durante a gestação, as concentrações de esteróides livres e conjugados/ligados a proteínas no sangue são rapidamente alteradas, isso faz com que mulheres gestantes se constituam num grupo conveniente para o estudo da correlação de esteróides em saliva e soro (Meulenberg & Hofman, 1989).

Adicionalmente, gestantes formam um grupo ideal para se estudar os efeitos hormonais na saliva porque a gestação representa uma condição fisiológica com várias alterações e adições hormonais. Informações bem documentadas mostram que alterações hormonais fisiológicas e mesmo patológicas, ocorridas durante a gestação podem se refletir na secreção salivar (Marder *et al*, 1972).

Os componentes da saliva têm sido analisados por vários métodos laboratoriais: calorimétrico/ espectrofotométrico, extração em fase sólida e imunoenaios como a técnica de quimioluminescência. Esta técnica tem se mostrado conveniente para análise de alterações hormonais salivares e séricas (IBL, Imuno-Biological Laboratories, Alemanha 2006).

As análises salivares, na maioria das vezes, são feitas com o objetivo de estudar um grupo de moléculas, tais como as proteínas, hormônios ou para detectar e mensurar um componente isolado. Muitos estudos não utilizam o procedimento sugerido com reagentes comercialmente disponíveis, mas freqüentemente adaptam kits comerciais desenvolvidos para ensaios no soro ou no plasma modificando a técnica para obter um método apropriado para a saliva. Nesses casos, os resultados das análises são possíveis de serem obtidos, mas os valores de referência devem ser bem definidos (Chiappin *et al*, 2007). Ainda não há nos laboratórios de análises clínicas e nos artigos revisados níveis de referência padronizados para expressar os valores normais de esteróides na saliva durante as fases do ciclo menstrual e principalmente durante a gestação.

Um dos objetivos deste trabalho, ao avaliar os esteróides, foi determinar a correlação dos hormônios- estradiol, progesterona e cortisol- estudados na saliva com aqueles presentes no soro. O método de quimioluminescência já é utilizado como rotina nas análises séricas hormonais no Laboratório de Imunologia do Centro de Patologia

Clínica do HUB/UnB, desta maneira ele foi adaptado para o estudo dos esteróides na saliva.

Foi determinado um curto período de tempo (no máximo 30 minutos) entre as coletas de sangue e saliva para que não houvesse influência do ritmo circadiano na mensuração dos parâmetros referidos.

A baixa concentração de estradiol na saliva tem tornado a mensuração deste esteróide particularmente difícil apesar de técnicas recentes mostrarem tendência na redução de interferências para obtenção de valores mais exatos. Adicionalmente, há referências de reação cruzada com partículas protéicas de hormônios sexuais e corticosteróides, levando a inadequada precisão nos resultados (Yu-cai *et al*, 1999). Reações cruzadas de metabólitos de esteróides urinários já foram descritas em análise de imunoensaio na urina (Chiappin *et al*, 2007).

Embora a quimioluminescência seja considerada boa técnica para mensurar esteróides, não foi possível nesta pesquisa avaliar, com eficácia, os níveis de estradiol na saliva uma vez que alguns valores mostravam-se conflitantes com aqueles obtidos na avaliação sérica. Possivelmente, partículas na saliva mimetizaram o epítipo antigênico interferindo na especificidade da reação.

Progesterona é metabolicamente estável na saliva (Lewis, 2006). Na gestação o grande aumento de progesterona no sangue reflete-se nas concentrações salivares. Da mesma maneira, durante o ciclo menstrual, quando as concentrações deste hormônio são menores, ainda podem refletir os níveis séricos (Meulenberg & Hofman, 1989; McGarrigle *et al*, 1984).

Nossos resultados demonstraram aumento progressivo dos níveis de progesterona salivares acompanhando a elevação sérica fisiológica durante os trimestres gestacionais e, em não-gestantes, da fase folicular para a lútea. Desta maneira, a progesterona salivar mostrou tratar-se de um biomarcador capaz de refletir as alterações séricas.

Tem-se sugerido que elevação nos níveis de estrógenos e progesterona no sangue durante a gestação se relaciona com alterações periodontais uma vez que há aumento na concentração desses hormônios sexuais no tecido gengival, saliva, soro e fluido crevicular

gingival. Isso poderia explicar a exacerbação da resposta inflamatória no tecido gengival (Otomo-Corgel & Steinberg, 2002). Vittek *et al* (1982) demonstraram a presença de receptores específicos para estrógeno e progesterona no tecido gengival. Esta é uma evidência bioquímica direta de que hormônios sexuais podem atuar nesse tecido. Muramatsu & Takaesu (1994) encontraram aumento da concentração dos hormônios sexuais na saliva, no primeiro mês de gestação, alcançando seu pico aos nove meses, junto com o aumento na contagem de *Prevotella intermedia*. Com isso, o número de áreas gengivais com sangramento e vermelhidão aumentou até um mês após o parto. Existe também evidência de concentração dos hormônios sexuais no fluido crevicular gengival, promovendo um meio de cultura adequado para os patógenos periodontais (Otomo-Corgel & Steinberg, 2002). No nosso estudo, o grupo de gestante relatou maior ocorrência de sangramento gengival (80%) em relação ao grupo não-gestante (25%). Porém, não é possível concluir que o aumento dos níveis de progesterona na saliva esteja diretamente associado a esta manifestação clínica.

Estima-se que a proporção dos níveis de progesterona salivar corresponderia entre 0,82% e 2,1% do total da concentração sérica (Yu-cai *et al*, 1999). Os resultados referentes à progesterona salivar, obtidos neste estudo, corresponderam ao intervalo percentual referido, quando se comparou com os níveis séricos. Contudo, há estudos que discordam sobre a verdadeira concentração de progesterona na saliva e sobre a correlação entre os níveis salivares e séricos (Evans, 1986; Choe *et al*, 1983).

Correlação soro/saliva foi notada na análise das amostras obtidas nos 2 grupos analisados. Limitações na análise da correlação soro/saliva para a progesterona ocorreram no terceiro trimestre gestacional e na fase folicular em não-gestantes em virtude de alguns resultados obtidos, nestes momentos, estarem acima (terceiro trimestre gestacional) ou abaixo (fase folicular) do limite de leitura fornecido pelo aparelho.

A mensuração do cortisol salivar tem sido amplamente considerada como alternativa na determinação dos níveis deste hormônio no plasma ou no soro. Amostras de saliva são facilmente obtidas, podendo ser coletadas várias vezes ao dia, permitindo, assim, a avaliação dinâmica da secreção de cortisol livre (Castro & Moreira, 2003).

Diversos autores têm sugerido que as concentrações de cortisol livre na saliva independem do fluxo salivar (Chiappin *et al.*, 2007; Castro & Moreira, 2003). Igualmente, em nosso estudo o fluxo salivar e cortisol salivar não se correlacionaram.

Tem sido estabelecido que níveis detectáveis de cortisol na saliva refletem, com precisão, as concentrações de cortisol sanguíneo (Nierop, 2006a; Gozansky, 2005). Isto se deve ao fato de que o cortisol livre circulante difunde-se passiva e rapidamente para a saliva de maneira que os valores do cortisol livre no plasma e na saliva estão fortemente correlacionados (Bakke *et al.*, 2004; Meulemberg & Hofman, 1990).

Nesta pesquisa, também foi possível correlacionar os níveis de cortisol salivares e séricos tanto no grupo gestante quanto não-gestante. Em gestantes esta correlação foi mais evidente no terceiro trimestre.

A determinação dos níveis de cortisol salivar durante a gestação tem ganhado atenção nos últimos anos, pois estudos relatam que altos níveis de cortisol na saliva e elevação das respostas ao estresse psicológico, detectados no final da gestação, podem prever o risco da mulher desenvolver depressão pós-parto (Nierop *et al.*, 2006b).

Shea *et al.* (2007) avaliaram a resposta do cortisol salivar em um grupo de 66 gestantes entre 25 a 33 semanas gestacionais- segunda metade da gestação. Trinta e três classificadas como deprimidas/ ansiosas e 33 saudáveis. O cortisol salivar não diferiu entre os grupos, porém gestantes que faziam uso de antidepressivos mostraram menores níveis de cortisol na saliva o que está associado a uma diminuição na resposta do eixo HPA decorrente do uso do medicamento.

De Weerth & Buitelaar (2005) estudaram cortisol salivar de 119 gestantes na 32ª semana gestacional e compararam com as mesmas mulheres 9 meses após o parto. Constataram um aumento nos níveis de cortisol salivar ao longo da gestação. Concluíram que o cortisol salivar é um marcador potencialmente útil para estudar a associação entre estresse psicossocial pré-natal e desencadeamento do parto.

Em concordância com os estudos apresentados observamos elevação progressiva, estatisticamente significativa, do cortisol no soro ao longo dos trimestres gestacionais. Igualmente, os valores encontrados na saliva acompanharam a elevação sérica. Maiores valores de cortisol salivar e sérico foram observados no último trimestre gestacional.

Para o grupo não-gestante, correlação soro/saliva foi observada nos valores do cortisol, que foi mais elevado na fase folicular. Kirschbaum *et al.* (1999) relataram padrão

de resposta do cortisol mais evidente na fase lútea, contudo as mulheres estavam submetidas a estresse psicossocial.

Embora o cortisol livre na saliva tenha sido sugerido como parâmetro de valor para avaliar a função adreno-hipofisária, não foi encontrado ainda um biomarcador apropriado que reflita atividade medular simpatoadrenal (SAM). A alfa-amilase salivar tem sido lembrada como uma substância potencial na determinação da atividade autonômica e, portanto como um indicador confiável, não-invasivo, de alterações corporais relacionadas ao estresse (Nater *et al.*, 2006). As glândulas salivares são inervadas tanto por fibras nervosas simpáticas como parassimpáticas, de maneira que, a secreção de saliva produzida ocorre em resposta à estimulação de neurotransmissores (Humphrey *et al.*, 2001).

Um baixo fluxo salivar e um aumento na concentração de proteínas salivares, tais como a alfa-amilase decorre de estimulação simpática- via norepinefrina; enquanto que um aumento no fluxo salivar e a uma baixa concentração de proteínas deve-se à estimulação parassimpática- via acetilcolina (Castle *et al.*, 1998). Entretanto os mecanismos relacionados ao neuroeixo que conduzem a aumento da atividade da alfa-amilase devido ao estresse não são completamente entendidos.

A mensuração de alfa-amilase salivar pode ser realizada sem a necessidade de se avaliar o fluxo salivar, uma vez que este não interfere na ativação da enzima (Van Stegeren *et al.*, 2008; Rohleder *et al.*, 2006). Da mesma maneira, no presente estudo, não foi encontrada correlação entre atividade da alfa-amilase e taxa do fluxo salivar obtidos em gestantes e não-gestantes.

Há evidências de que altos níveis de estresse e ansiedade durante a gestação estão associados com várias conseqüências negativas tais como: parto prematuro, recém-nascido com baixo peso e depressão pós-parto (Van den Bergh *et al.*, 2005; Wadhwa *et al.*, 1993). Apesar dos estudos demonstrarem que o estresse é um fator de risco significativo deve ser considerado que nem todas as gestantes que relatam altos níveis de estresse irão desenvolver complicações (Nierop *et al.*, 2008).

Pesquisas na área biomédica e de psicologia utilizam o cortisol salivar e a alfa-amilase como marcadores fisiológicos e psicológicos do estresse psicossocial (Gordis *et al.*, 2008; Van Stegeren *et al.*, 2008; Nater *et al.*, 2006; Kirschbaum *et al.*, 1999).

Nos últimos anos publicações têm demonstrado a aplicabilidade nas determinações do cortisol salivar em testes clínicos da atividade adrenal e em estudos psicológicos como índice de estresse ou depressão endógena (Shea *et al*, 2007; Nierop, 2006b; Meulenberg & Hofman, 1990). Adicionalmente, outras linhas de pesquisas recentes investigam o papel da alfa-amilase salivar para avaliar os níveis de estresse psicossocial (Nater *et al*, 2006; Nierop *et al*, 2006a; Nater *et al*, 2005). Assim, cortisol e alfa-amilase são considerados marcadores neuro-endócrinos com importante papel no estabelecimento da resposta humana para eventos causadores de estresse.

Embora alguns estudos analisem a resposta da alfa-amilase salivar e do cortisol na reação ao estresse indicando elevação concomitante, trabalhos ainda devem ser feitos para avaliar o real caminho pelo qual esses sistemas interagem, especialmente quando os dois estão ativados. Algumas referências na literatura não demonstram correlação bem estabelecida entre alfa-amilase e parâmetros como cortisol salivar e batimentos cardíacos (Nater *et al*, 2006; Nater *et al*, 2005).

Um dos objetivos deste trabalho foi correlacionar os níveis de cortisol sérico e salivar com a atividade da alfa-amilase em gestantes e não-gestantes e obter mais informações sobre a relação desses parâmetros durante a gestação e nas fases do ciclo menstrual da mulher.

A revisão da literatura não indicou referências que correlacionassem o cortisol sérico e a atividade alfa-amilase salivar. No presente estudo, não se notou correlação entre estes dois parâmetros.

Vários estudos na literatura avaliam, independentemente, o cortisol salivar e a atividade da alfa-amilase, porém poucos os correlacionam, mostrando resultados conflitantes (Gordis *et al*, 2008; Van Stegeren *et al*, 2008; Nater *et al*, 2005).

Correlação inversa foi notada entre o cortisol salivar e a alfa-amilase em gestantes, enquanto o cortisol na saliva elevou-se à medida que avançou a idade gestacional, a alfa-amilase, ao contrário, mostrou redução do segundo para o terceiro trimestre gestacional. Esses achados concordam com aqueles encontrados por Nierop *et al* (2006a ; 2008) que também observaram maiores níveis de cortisol salivar no terceiro trimestre gestacional e maior atividade da alfa-amilase no segundo trimestre.

Nierop *et al* (2006a) compararam os níveis de cortisol salivar com a alfa-amilase durante a gestação, mas não os correlacionaram. Os autores mediram os níveis de cortisol livre na saliva, alfa-amilase salivar, batimentos cardíacos e parâmetros psicológicos em 30

gestantes no início do segundo trimestre gestacional, 30 gestantes no início do terceiro trimestre gestacional e 30 mulheres não-gestantes na fase folicular do ciclo menstrual. Todas as mulheres foram submetidas a testes de estresse psicossocial. Os resultados demonstraram que houve uma cobertura de cortisol mais prolongada durante o segundo trimestre gestacional possivelmente associado à vulnerabilidade ao estresse de gestantes neste período. Além disso, a redução da atividade da alfa-amilase encontrada nas gestantes pode refletir um processo protetor do sistema nervoso autônomo durante a gestação.

Porém, são necessárias mais investigações para elucidar os exatos mecanismos psicobiológicos envolvidos nas respostas bioquímicas ao estresse psicossocial, durante a gestação.

Os resultados mostram que a saliva tem se definido como um biomarcador promissor. É importante que o pesquisador ou o clínico estejam cientes das possíveis diferenças geradas pelos diversos ensaios para interpretar adequadamente os intervalos de referência. Assim, a utilização da saliva para diagnóstico necessita de mais estudos a fim de padronizar os métodos de análise, validar os resultados e definir valores de referência em diferentes populações para torná-la disponível à prática clínica.

CONCLUSÃO

Quando analisamos e discutimos o perfil salivar e sérico de mulheres ao longo dos trimestres gestacionais e na fase folicular e lútea foi possível concluir que:

1. O fluxo salivar e as concentrações de proteína total não demonstraram diferenças inter grupo nem ao longo dos trimestres gestacionais e nas fases do ciclo menstrual.
2. A atividade da alfa-amilase salivar nos 3 trimestres gestacionais foi superior à obtida nas fases folicular e lútea. A atividade desta enzima foi maior no segundo trimestre gestacional.
3. Concentrações de progesterona no soro e na saliva se correlacionaram, mostrando elevações progressivas ao longo dos trimestres gestacionais e da fase folicular para a lútea.
4. Concentrações de cortisol no soro e na saliva se correlacionaram. Em gestantes, houve elevações progressivas do cortisol sérico e salivar ao longo dos trimestres. Em não-gestantes os níveis do hormônio sérico e salivar reduziram da fase folicular para a lútea.
5. Não houve correlação nas concentrações de IgA obtidas no soro e na saliva, nem diferenças nos valores obtidos nos períodos analisados.
6. Não houve correlação na análise do cortisol sérico e alfa-amilase salivar.
7. Foi observada correlação inversa entre os níveis de cortisol salivar e a atividade da alfa-amilase nos grupos gestante e não-gestante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allolio B, Hoffmann J, Linton EA, Winkelmann W, Kusche M, Schulte HM. Diurnal salivary cortisol patterns during pregnancy and after delivery: relationship to plasma corticotrophin-releasing-hormone. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;33:279–89.
2. Amerogen AV, Bolsher JG, Veerman EC. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 2004; 38: 247-53.
3. Annie CL, Groer M. Childbirth stress- an immunologic study. *JOGNN* 1991; 20 (5): 391-97.
4. Benedetto MS. Proposta de um método prático para avaliação do poder de neutralização existente na cavidade oral. Dissertação de mestrado em Odontopediatria. Faculdade de Odontologia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
5. Bakke M, Tuxen A, Thomsen CE, Bardow A, Alkaer T, Jensen BR. Salivary cortisol level, salivary flow rate and masticatory muscle activity in response to acute mental stress: a comparasion between aged and young women. *Gerontology* 2004; 50:383-92.
6. Bao AM, Liu RY, Someren EJW, Hofman MA, Cao YX, Zhou JN. Diurnal rhythm of free estradiol during the menstrual cycle. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 227–32.
7. Boever JD, Kohen F, Bouve J, Leyseele D, Vandekerckhove D. Direct Chemiluminescence Immunoassay of Estradiol in Saliva. *Clin Chem* 1990; 36 (12): 2036-41.
8. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72(7):248-54.

9. Castle D, Castle A. Intracellular Transport and Secretion of Salivary Proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9(1): 4-22.
10. Castro M, Moreira A. Análise crítica do cortisol salivar na avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003; 47(4): 358-67.
11. Chatterton R, Mateo E, Hou N, Rademaker A, Acharya S, Jordan C, Morrow M. Characteristics of salivary profiles of oestradiol and progesterone in premenopausal women. *J Endocrinol* 2005; 186, 77-84.
12. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo E. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basis investigation. *Clinica Chimica Acta* 2007; 383:30-40.
13. Choe JK, Khan-Dawood FS, Dawood MY. Progesterone and estradiol in the saliva and plasma during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynec* 1983; 147: 557-62.
14. D'Alessandro S, Curbelo HM, Tumilasci OR, Tesser JA, Houssay AB. Changes in human parotid salivary protein and sialic levels during pregnancy. *Archives Oral Biology* 1989; 34 (10): 829-31.
15. De Weerth C, Buitelaar JK. Cortisol awakening response in pregnant women. *Psychoneuroendocrinol* 2005; 30 (9): 902-7.
16. Donat VH, Tymnik G, Bernstein L, Knauth H, Kebler L. Gesamteiweiß- und immunoglobulinkonzentrationen im parotissekret schwangerer. *Zbl Gynäkol* 1977; 99: 1564-6.
17. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and function. *Br Dent J* 1992; 172: 305-12.
18. Eglinton KA, McMahon C, Austin MP. Stress in pregnancy and infant HPA axis function: conceptual and methodological issues relating to the use of salivary cortisol as an outcome measure. *Psychoneuroendocrinol* 2007; 32, 1–13.
19. Evans JJ. Progesterone in saliva does not parallel unbound progesterone in plasma. *Clin Chem* 1986; 32 (3): 542-4.

20. Gandara B, Leresche L, Mancl L. Patterns of salivary estradiol and progesterone across the menstrual cycle. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098:446-50.
21. Gitau, R., Fisk, N.M., Teixeira, J.M., Cameron, A., Glover, V. Fetal hypothalamic–pituitary–adrenal stress responses to invasive procedures are independent of maternal responses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 104–9.
22. Goldenberg R, Goepfert A, Ramsey P. Biochemical markers for prediction of preterm birth. *Am J Obst Gynecol* 2005; 192: S36-46.
23. González M, Montes de Oca L, Jiménez G. Changes in saliva composition of pregnant and non-pregnant patients. *Perinatol Reprod Hum* 2001; 15(3): 195-201.
24. Gordis EB, Granger DA, Susman EJ, Trickett PK. Salivary alpha amylase-cortisol asymmetry in maltreated youth. *Horm Behav* 2008; 53 (1): 96-103.
25. Gozansky WS, Lynn JS, Laudernslager ML, Kohrt WM. Salivary cortisol determined by enzyme immunoassay is preferable to serum total cortisol for assessment of dynamic hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63: 336-41.
26. Gröschl M, Rauh M, Schmid P, Dörr HG. Relationship between salivary progesterone, 17-hydroxyprogesterone, and cortisol levels throughout the normal menstrual cycle of healthy postmenarcheal girls. *Fertil Steril* 2001; 76(3): 615-7.
27. Gröschl M, Wagner R, Rauh M, Dörr H G. Stability of salivary steroids: the influences of storage, food and dental care. *Steroids* 2001; 66 737–41.
28. Guyton AC, Hall JE. Os hormônios adrenocorticais. In: Tratado de Fisiologia Médica. Ed. Elsevier. Cap.77. p. 813-826. 973 p. 2002.
29. Guyton AC, Hall JE. Fisiologia Feminina antes da Gravidez e os Hormônios Femininos. In: Tratado de Fisiologia Médica. Ed. Elsevier. Cap.81. p. 869- 895. 973 p. 2002.
30. Hardt M, Thomas LR, Dixon SE, Newport G, Agabian N, Prakobphol A, Hall SC, Witkowska E, Fisher SJ. Toward Defining the Human Parotid Gland Salivary

Proteome and Peptidome: Identification and Characterization Using 2D SDS-PAGE, Ultrafiltration, HPLC, and Mass Spectrometry. *Biochemistry* 2005; 44 (8), 2885 -99.

31. Huang CH. Comparative proteomic analysis of human whole saliva. *Arch Oral Biol* 2004; 49: 951-62.
32. Hugoson A. Salivary secretion in pregnancy -a longitudinal study of flow rate, total protein, sodium, potassium and calcium concentration in parotid saliva from pregnant women. *Acta Odont Scand* 1972; 30: 49-66.
33. Humphrey S, Williamson R. A review of saliva: Normal composition, flow, and function *J Prosthet Dent* 2001; 85 (2): 162-9.
34. IBL Immuno-Biological Laboratories. Saliva Diagnostics. Hamburgo, Alemanha 2006. <http://www.ibl-hamburg.com>. 12 -3- 2008.
35. Jeffcoat M, Hauth J, Geurs N, Reddy M, Cliver S, Hodgkins P, Goldenberg R. Periodontal disease and preterm birth: results of a pilot intervention study. *J Periodontol* 2003; 74: 1214-8.
36. Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: A dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosc Biobeh Rev* 1992; 16(2): 115-30.
37. Kaufman E, Lamster I. The diagnostic applications of saliva- a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 197-212.
38. Kirschbaum C, Kudielka BM, Gaab J, Schommer NC, Hellhammer DH. Impact of gender, menstrual cycle phase and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosomatic Medicine* 1999; 61:154-62.
39. Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research: recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinol* 1994; 19, 313–333.

40. Kivela J, Laine M, Parkkila S, Rajaniemi H. Salivary carbonic anhydrase VI and its relation to salivary flow rate and buffer capacity in pregnant and non-pregnant women. *Arch Oral Biol* 2003; 48 (8): 547-551.
41. Kullander, S; Sonesson, B. Studies on saliva in menstruating, pregnant and post-menopausal women. *Acta Endocrinol* 1965; 48: 329-336.
42. Kyriacou K, Garrett JR, Gjorstrup P. Structural and functional studies of the effects of sympathetic nerve stimulation on rabbit submandibular salivary glands. *Arch Oral Biol* 1988; 33(4), 271–80.
43. LaDuca J, Love J, Abbott L, Dube S, Freidman-Kien A, Poiesz B. Detection of human herpesvirus 8 DNA sequences in tissues and bodily fluids. *J Infect Dis* 1998; 178: 1610-15.
44. Laine MA. Effect of pregnancy on periodontal and dental health. *Acta Odontol Scand* 2002; 60:257-264.
45. Laine MA; Pienihakkeinen K. Salivary buffer effect in relation to late pregnancy and postpartum. *Acta odontol Scand* 2000; 58 (1): 8-10.
46. Laine MA, Tenovuo J, Lehtonen OP, Vilja P. Pregnancy-related changes in human whole saliva. *Arch Oral Biol* 1988; 33 (12): 913-17.
47. Lawrence H. Salivary Markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J Can Dent Assoc* 2002; 68 (3): 170-4.
48. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 2000; 14: 40-7.
49. Leone CW, Oppenheim FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in human. *J Dent Educ* 2001; 65 (10): 1054-62.
50. Lewis JG. Steroid analysis in saliva: an overview. *Clin Biochem Rev* 2006; 27: 139-46.

51. Lipson SF, Ellison PT. Comparison of salivary steroid profiles in naturally occurring conception and non-conception cycles. *Hum Reprod* 1996; 11(10): 2090-96.
52. Lloyd JE, Broughton A, Selby C. Salivary creatinine assays as a potential screen for renal disease. *Ann Clin Biochem* 1996; 33: 428-31.
53. Lucht E, Brytting M, Bjerregard L, Julander I, Linde A. Shedding of cytomegalovirus and herpes virus 6, 7 and 8 in saliva of human immunodeficiency virus type 1-infected patients and healthy controls. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 137-141.
54. Mallmann GM. Métodos de dosagem de hormônios. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal. Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias; 1º semestre 2003.
<http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/hormonios.pdf>. 20-01-2008
55. Marcotte H, Lavoie MC. Oral Microbial Ecology and Role of Salivary Immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 71-109.
56. Marder M, Wotman S, Mandel I. Salivary electrolyte changes during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 15: 233-6.
57. Martinez KO, Mendes LL, Alves JB. Imunoglobulina A secretora, proteínas totais e fluxo de saliva nas ulcerações aftosas recorrentes. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2007; 73-3.
58. Martinez PM, Torres AR, Ortiz De Lejarazu R, Montoya A, Eiros JM. Human immunodeficiency virus antibody testing by enzyme-linked fluorescent and western blot assays using serum, gingival crevicular transudate, and urine samples. *J Clin Microbiol* 37: 1100-1106; 1999.
59. McGarrigle H, Lachelin G. Increasing saliva (free) oestriol to progesterone ratio in late pregnancy: a role for oestriol in initiating spontaneous labour in man? *Br Med J* 1984; 289 (25): 457-9.

60. McGregor JA; Hasting, C; Roberts, T; Barret, J. Diurnal variation in saliva estriol level during pregnancy: A pilot study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180(1S-III): 223S-225S.
61. McGregor JA, Jackson GM, Lachelin GCL, Goodwin TM, Artal R, Hastings C, Dullien V. Salivary estriol as risk assessment for preterm labor: A prospective trial. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173(4): 1337-42.
62. Meulenberg PMM, Hofman JA. Differences between concentrations of salivary cortisol and cortisone and of free cortisol and cortisone in plasma during pregnancy and postpartum. *Clin Chem* 1990; 36 (1): 70-5.
63. Meulenberg PMM, Hofman JA. Salivary progesterone excellently reflects free and total progesterone in plasma during pregnancy. *Clin Chem* 1989; 35(1): 168-72
64. Ministério da Saúde. Portaria n° 453, 1° de junho de 1998. <http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1021>. 14-11-2007.
65. Muramatsu Y, Takaesu Y. Oral health status related to subgingival bacterial flora and sex hormones in saliva during pregnancy. *Bull Tokyo Dent College* 1994; 35 (3): 139-51.
66. Nater UM, La Marca R, Florin L, Moses A, Langhans W, Koller MM, Ehlert U. Stress-induced changes in human salivary alpha-amylase activity—associations with adrenergic activity. *Psychoneuroendocrinol* 2006; 31(1) 49-58.
67. Nater UM, Rohelder N, Gaab J, Berger S, Jud A, Kirschbaum C, Ehlert U. Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. *Int J Psychophysiol* 2005; 55: 333–42.
68. Nauntofte B, Tenovuo J, Lagerlof F. Secreção e composição da saliva. In: Fejerskov O, Kidd E. Cárie Dentária: a doença e seu tratamento clínico. 1ª ed, São Paulo: Santos, cap. 2, p.7-27; 2005.
69. Neumann ID. Alterations in behavioral and neuroendocrine stress coping strategies in pregnant, parturient and lactating rats. *Prog Brain Res* 2001; 133:143–52.

70. Nicolau J, Leite MF, Siqueira WL, Nogueira FN. Saliva na saúde e na doença. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2003; 57 (4): 304-8.
71. Nierop A, Wirtz P, Bratsikas A, Zimmermann R, Ehlert U. Stress-buffering effects of psychosocial and psychological stress response in pregnant women. *Biol Psychol* 2008; 03-12.
72. Nierop A; Bratsikas A; Klinkenberg A; Nater Urs; Zimmermann R; Ehlert U. Prolonged Salivary Cortisol Recovery in Second-Trimester Pregnant Women and Attenuated Salivary α -Amylase Responses to Psychosocial Stress in Human Pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006a; 91:1329-35.
73. Nierop A; Bratsikas A; Klinkenberg A; Nater Urs; Zimmermann R; Ehlert U. Are Stress-Induced Cortisol Changes During Pregnancy Associated With Postpartum Depressive Symptoms? *Psychosom Med* 2006b; 68(6): 931-7.
74. Offenbacher S. Maternal periodontal infections, prematurity, and growth restriction. *Clin Obstet Gynecol* 2004; 4:808 –21.
75. Offenbacher S, Katz V, Fertik G, et al. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67: 1103-13.
76. Otomo-Corgel J, Steinberg BJ. Medicina periodontal e a mulher como paciente. In: Mealey R; Cohen G. Medicina Periodontal. São Paulo: Santos, cap. 9; p.151-65; 2002.
77. Puy CL. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11:E449-55.
78. Reilly TG, Poxon V, Sanders DS, Elliott TS, Walt RP. Comparasion of serum, salivary and rapid whole blood diagnostic tests for *Helicobacter pylori* and their validation against endoscopy based tests. *Gut* 1997; 40: 454-8.
79. Rockenbach MI, Marinho AS, Veeck EB, Lidmann L Shinkai RS. Salivary flow rate, pH, and concentrations of calcium, phosphate, and sIgA in Brazilian pregnant and non-pregnant women. *Head & Face Medicine* 2006; 2: 44-9.

80. Rocklin RE, Kitzmiller JL, Kaye MD. Immunology of the maternal-fetal relationship. *Ann Rev Med* 1979; 30:375-404.
81. Rohelder N, Wolf JM, Maldonado EF, Kirschbaum C. The psychosocial stress-induced increase alpha-amylase is independent of saliva flow rate. *Psychophysiology* 2006; 43 (6): 645-52.
82. Salvolini E, Di Giorgio R, Curatola A, Mazzanti L, Fratto G. Biochemical modifications of human whole saliva induced by pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1998; 105: 656-60.
83. Seow WK. Biological mechanisms of early childhood caries. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1998; 26 (1): 8-27.
84. Shea AK, Streiner DL, Fleming A, Kamath MV, Broad K, Steiner M. The effect of depression, anxiety and early life trauma on the cortisol awakening response during pregnancy: preliminary results. *Psychoneuroendocrinol* 2007; 32: 1013-20.
85. Siqueira WL. Estudo de alguns parâmetros salivares em indivíduos com síndrome de Down. Tese de doutorado. Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 139 p. 2005.
86. Souza RM; Lehn CN; Denardin OVP. Níveis Sérico e Salivar de Imunoglobulina A em Portadores de Câncer da Boca e Orofaringe. *Rev Ass Med Bras* 2003; 49(1): 40-4.
87. Stevens J, Iida H, Ingersoll G. Implementing an oral program in a group prenatal practice. *JOGNN* 2007; 36, 581-591.
88. Streckfus CF, Bigler LR. Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Diseases* 2002; 8, 69-76.
89. Streckfus CF, Bigler LR, Navazesh M, Al-Hashimi I. Cytokine concentrations in stimulated whole saliva among patients with primary Sjögren's, secondary Sjögren's syndrome, and primary Sjögren's syndrome receiving varying doses of interferon for symptomatic treatment of the condition: a preliminary study. *J Clin Oral Invest* 2001; 5: 133-5.

90. Tenovuo J. Antimicrobial function of human saliva- how important is it for oral health? *Acta Odontol Scand* 1998; 56: 250-56.
91. Tomasi TB Jr.. Secretory immunoglobulins. *Engl J Med* 1972; 287:500-6.
92. Van den Bergh, B.R., Mulder, E.J., Mennes, M., Glover, V. Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2005; 29: 237–58.
93. Van Stegeren AH, Wolf OT, Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: impact of sex. *Int J Psychophysiol* 2008; doi: 10.1016/j.ijpsycho.2008.02.008.
94. Vergnes JN, Sixou M. Preterm low birth weight and maternal periodontal status:a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 135-7.
95. Vittek J, Gordon G, Rappaport C, Munangi P, Southern A. Specific progesterone receptors in rabbit gingiva. *J Periodontal Res* 1982; 17: 657.
96. Wadhawa PD, Sandman CA, Porto M, Dunkel-Schetter C, Garite TJ. The association between prenatal stress and infant birth weight and gestational age at birth: a prospective investigation. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:858-65.
97. Widerstron L, Bratthall D. Increased IgA levels in saliva during pregnancy. *Scand J Dent Res* 1984; 92: 33-7.
98. Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *JADA* 2006; 137: 313-21.
99. Xie H, Rhodus NL, Griffin RJ, Carlis JV. A catalogue of human saliva proteins identified by free flow eletrophoresis-based peptide separation and tandem mass spectrometry. *Mol Cell Proteom* 2006; 8: 1826-30.
100. Yu-cai L, Bentley GR, Gann PH, Hodges KR, Chatterton RT. Salivary estradiol and progesterone levels in conception and nonconception cycles in women: evaluation of a new assay for salivary estradiol. *Fert Steril* 1999; 71 (5): 863-8.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____ fui convidada a participar do “Estudo de parâmetros salivares e sanguíneos em gestantes” no Hospital Universitário de Brasília que tem como objetivo avaliar alguns parâmetros salivares e sanguíneos em mulheres gestantes e não-gestantes tais como: níveis de hormônio e concentração de proteínas no sangue e na saliva. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo são: Prof^a Dr^a Soraya Coelho Leal e Dr^a Aline Lauria Pires. Responderei um questionário sobre minha saúde geral e serão feitos exames clínicos odontológicos. Serão coletadas amostras de sangue e saliva para análises laboratoriais. A amostra de sangue será coletada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Brasília, por profissional especializado, que fará punção da veia do braço. A coleta da saliva será feita após acúmulo da mesma na boca e em seguida expelida em recipiente adequado.

Receberei tratamento odontológico sempre que necessário. Serão feitas inclusive restaurações em caso de cárie e será realizada limpeza dos meus dentes a cada consulta de retorno. Se necessário, serão realizadas radiografias odontológicas com a finalidade de diagnosticar algumas doenças bucais. Para a realização das radiografias, estarei protegida com colete de chumbo abdominal e protetor de tireóide de acordo com normas de biossegurança.

Caso eu participe do programa, será necessário comparecer a Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília-UNB, uma vez a cada trimestre durante a minha gestação.

Poderei ter todas as informações que quiser e poderei não participar do projeto ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo em atendimentos posteriores. Não receberei qualquer valor em dinheiro pela minha participação no estudo, mas terei a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de minha responsabilidade. Meu nome não aparecerá em nenhum momento da pesquisa, pois serei identificada com um número.

Dr ^a Aline Lauria Pires	Nome da Participante
Prof ^a Dr ^a Soraya Coelho Leal	
Telefone: 99732445 e-mail: alinelauria@unb.br	

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____ fui convidada a participar do “Estudo de parâmetros salivares e sanguíneos em gestantes” no Hospital Universitário de Brasília que tem como objetivo avaliar alguns parâmetros salivares e sanguíneos em mulheres gestantes e não-gestantes tais como: níveis de hormônio e concentração de proteínas no sangue e na saliva. Os pesquisadores responsáveis pelo estudo são: Prof^ª Dr^ª Soraya Coelho Leal e Dr^ª Aline Lauria Pires. Responderei um questionário sobre minha saúde geral e serão feitos exames clínicos odontológicos. Serão coletadas amostras de sangue e saliva para análises laboratoriais. A amostra de sangue será coletada no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Brasília, por profissional especializado, que fará punção da veia do braço. A coleta da saliva será feita após acúmulo da mesma na boca e em seguida expelida em recipiente adequado.

Receberei tratamento odontológico sempre que necessário. Serão feitas inclusive restaurações em caso de cárie e será realizada limpeza dos meus dentes a cada consulta de retorno. Se necessário, serão realizadas radiografias odontológicas com a finalidade de diagnosticar algumas doenças bucais. Para a realização das radiografias, estarei protegida com colete de chumbo abdominal e protetor de tireóide de acordo com normas de biossegurança.

Caso eu participe do programa, será necessário comparecer a Clínica de Odontologia do Hospital Universitário de Brasília-UNB uma vez para: exame clínico/tratamento e coleta de sangue e saliva.

Poderei ter todas as informações que quiser e poderei não participar do projeto ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo em atendimentos posteriores. Não receberei qualquer valor em dinheiro pela minha participação no estudo, mas terei a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não serão de minha responsabilidade. Meu nome não aparecerá em nenhum momento da pesquisa, pois serei identificada com um número.

Dr^ª Aline Lauria Pires

Nome da Participante

Prof^ª Dr^ª Soraya Coelho Leal

Telefone: 99732445 e-mail: alinelauria@unb.br

**ANEXO 3**

Hospital Universitário de Brasília
Divisão de Odontologia

Prontuário nº _____

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu _____ fui convidada a participar do “Programa de Atenção Odontológica à Gestante e ao Bebê” no Hospital Universitário de Brasília que tem como objetivos: orientar gestantes quanto à importância da prevenção da cárie e da doença periodontal, através de palestras educativas; recuperar e manter a saúde bucal das gestantes através de atendimento clínico; acompanhar o desenvolvimento/saúde bucal do bebê, a partir do 3º mês de vida até dois anos de idade.

Para isto, responderei um questionário sobre minha saúde geral e serão feitos exames clínicos odontológicos. Receberei tratamento odontológico de urgência, se necessário; serão feitas restaurações provisórias em caso de cárie e será realizada limpeza dos meus dentes. Meu filho ao nascer também participará do Programa até os dois anos de idade, onde serão feitos acompanhamentos periódicos (de três em três meses) com o cirurgião-dentista. Os objetivos são: fazer exames clínicos, instrução de higiene bucal, aplicações de flúor e restaurações, se necessário.

Para participar do Programa, precisarei comparecer à Odontoclínica do Hospital Universitário de Brasília-HUB, todas as vezes que for marcada consulta durante a minha gestação e a cada três meses a partir da data de nascimento do meu filho. Fui informada de que as duas faltas às consultas, sem justificativa prévia, implicarão em meu afastamento do programa.

Concordo que a Universidade de Brasília utilize as informações e dados referentes ao meu caso, mantidos privacidade e sigilo, para fins de estudo e aprendizado, apresentação em congressos, publicações em livros e revistas e outras atividades científicas tanto no país como no exterior, respeitando a legislação vigente.

Poderei ter todas as informações que quiser e poderei não participar do projeto ou retirar meu consentimento a qualquer momento.

Assinatura da paciente: _____

Assinatura do Cirurgião-dentista: _____

Brasília ____ / ____ / ____

1- IDENTIFICAÇÃO DA PACIENTE

Nome:			
Data de nascimento: / /	Naturalidade:	Nacionalidade:	
Estado civil:	RG:		
Ocupação:	Grau de escolaridade:		
Pai:			
Mãe:			
Endereço:			
Bairro:	Cidade:	UF:	CEP:
Telefones para contato:			

2- ANAMNESE		
2.1- HISTÓRIA MÉDICA ATUAL		
Data prevista para o parto: / /		Idade gestacional: _____ semanas
Tratamento médico atual:		
Medicamentos:		
Fumo: () sim () não freq.	Álcool: () sim () não freq.	Outros hábitos:
Peso:	Altura:	
Assistiu à palestra: () sim () não		
2.2- APARELHOS E SISTEMAS		
Sistema cardiorespiratório	Hipertensão, angina, infarto, asma...	
Sistema gastrointestinal	Úlcera, colites, refluxo, cirrose...	
Sistema neuromuscular	Convulsões, desmaios, mialgias...	
Sistema osteoarticular	Febre reumática, osteoporose...	
Sistema genitourinário	Cálculo renal, infecção urinária...	
Sistema endócrino	Diabetes, hiper ou hipotireoidismo...	
Alergias	Anestésico, penicilina, iodo...	
Doenças infecto-contagiosas	Hepatite, tuberculose, DST, Aids...	
Doenças neoplásicas		
Distúrbios circulatórios	Hemorragias, trombose...	
Anemia, transfusão de sangue, cirurgia... outros		
Filhos ___ Cesária ___ Normal ___ Abortos ___		
No início da gestação teve enjôos matutinos? () sim () não		
Observações:		
2.3- ANTECEDENTES FAMILIARES (patologias)		
Pai:	Mãe:	Irmãos:
3- HÁBITOS ALIMENTARES		
Está fazendo algum tipo de dieta durante a gravidez? () sim () não		
Está sendo acompanhada por médico ou nutricionista? () sim () não		
Aumentou a frequência de consumo de alimentos açucarados durante a gestação? () sim / freq. ___ () não		
A sua dieta alimentar é rica em fibras? () sim () não		
Quantos copos de água você toma por dia?		
Qual o intervalo de tempo entre as refeições, em média?		
Você "belisca" entre as refeições? () sim () não O que você come?		
Tem preferência por: () doce () salgado () alimentos pastosos () alimentos sólidos () carnes		
Frequência por dia: () café () refrigerante () chá () suco natural () leite () carnes () massas () legumes/verduras () frutas () doces		

4- HISTÓRIA ODONTOLÓGICA

Realizou algum tratamento odontológico nos últimos 6 meses? () sim () não
Você já fez tratamento de gengiva (periodontal)? () sim () não
Você usa fio dental? () não () raramente () às vezes () todos os dias
Depois da gravidez você diminuiu o número de escovações diárias? () sim () não
Quantas vezes você escova os dentes por dia?
Você higieniza a língua? () sim () não
Você usa alguma solução para bochecho (Plax, Cepacol, Listerine...): () sim Freq. ____ () não
Sua gengiva sangra? () não () quando usa fio dental () na escovação () espontaneamente
Respira pela boca durante o dia? () sim () não
Teve sensação de boca seca depois do início da gravidez? () sim () não
Depois que você engravidou notou gosto diferente na boca? () sim () não () amargo () doce

5- EXAME FÍSICO

PA	mmHg	FC	bpm	FR	rpm	Temperatura	°C
----	------	----	-----	----	-----	-------------	----

4.1- EXTRABUCAL

ATM	
Linfonodos	
Simetria Facial	
Lábios	
Glândulas	
Pele	
Aparência Geral	

4.2- INTRABUCAL

Mucosa labial	
Mucosa jugal	
Palato	
Região retromolar	
Língua	saburra
Freios	
Assoalho	

Higiene Bucal: () boa () regular () ruim

Placa visível: () sim () não

Cálculo visível: () sim () não

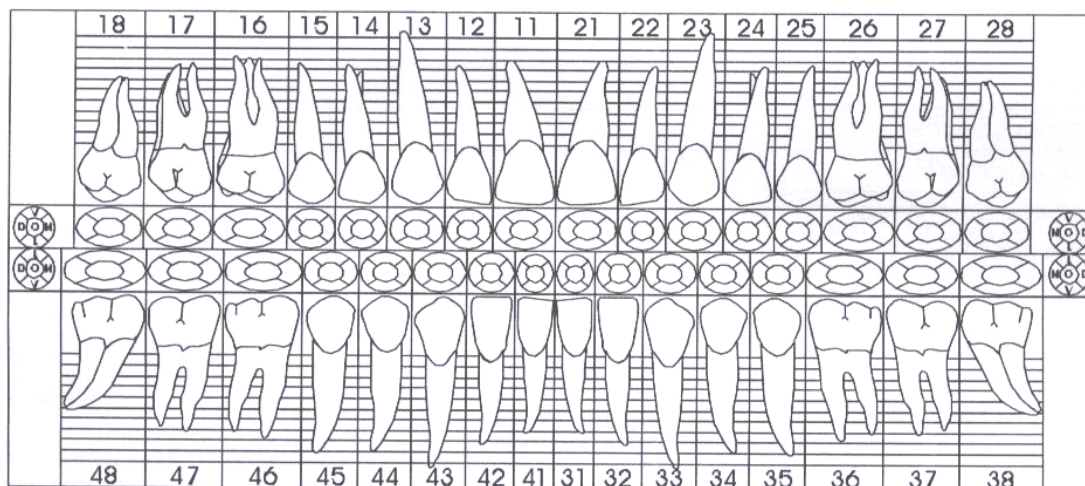
Sangramento gengival: () a sondagem () ao toque () não

Recessão gengiva: () sim () não Dentes:

Sensibilidade dentária: () sim () não Dentes:

Mobilidade dentária: () sim () não Dentes:

Sinais de bruxismo: () sim () não



EXAME CLÍNICO		PLANO DE TRATAMENTO
18		
17		
16		
15		
14		
13		
12		
11		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
38		
37		
36		
35		
34		
33		
32		
31		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		

ANEXO 4



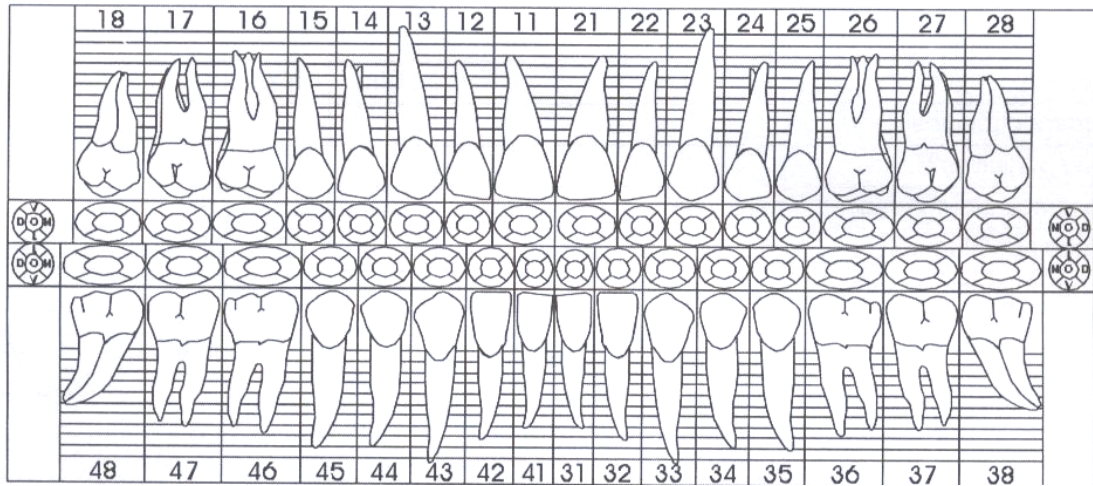
Hospital Universitário de Brasília
Divisão de Odontologia

Prontuário nº _____

1- IDENTIFICAÇÃO DA PACIENTE			
Nome:			
Data de nascimento: / /	Naturalidade:	Nacionalidade:	
Estado civil:	RG:		
Ocupação:	Grau de escolaridade:		
Pai:			
Mãe:			
Endereço:			
Bairro:	Cidade:	UF:	CEP:
Telefones:			

2- ANAMNESE		
2.1- HISTÓRIA MÉDICA ATUAL		
Fase do ciclo menstrual:	Ciclo () regular () irregular	Quantos dias?
Tratamento médico atual:		
Medicamentos:		
Fumo: () sim () não freq.	Álcool: () sim () não freq.	Outros hábitos:
Peso:	Altura:	
2.2- APARELHOS E SISTEMAS		
Sistema cardiorespiratório	Hipertensão, angina, infarto, asma...	
Sistema gastrointestinal	Úlcera, colites, refluxo, cirrose...	
Sistema neuromuscular	Convulsões, desmaios, mialgias...	
Sistema osteoarticular	Febre reumática, osteoporose...	
Sistema genitourinário	Cálculo renal, infecção urinária...	
Sistema endócrino	Diabetes, hiper ou hipotireoidismo...	
Alergias	Anestésico, penicilina, iodo...	
Doenças infecto-contagiosas	Hepatite, tuberculose, DST, Aids...	
Doenças neoplásicas		
Distúrbios circulatórios	Hemorragias, trombose...	
Anemia, transfusão de sangue, cirurgia... outros		
Abortos		
Observações:		
2.3- ANTECEDENTES FAMILIARES (patologias)		
Pai:	Mãe:	Irmãos:
3- HÁBITOS ALIMENTARES		
Está sendo acompanhada por médico ou nutricionista? () sim () não		
A sua dieta alimentar é rica em fibras? () sim () não		
Quantos copos de água você toma por dia?		
Qual o intervalo de tempo entre as refeições, em média?		
Você "belisca" entre as refeições? () sim () não O que você come?		
Tem preferência por: () doce () salgado () alimentos pastosos () alimentos sólidos () carnes		
Frequência por dia: () café () refrigerante () chá () suco natural () leite () carnes () massas () legumes/verduras () frutas () doces		

4- HISTÓRIA ODONTOLÓGICA						
Realizou algum tratamento odontológico nos últimos 6 meses? () sim () não						
Você já fez tratamento de gengiva (periodontal)? () sim () não						
Você usa fio dental? () não () raramente () às vezes () todos os dias						
Quantas vezes você escova os dentes por dia?						
Você higieniza a língua? () sim () não						
Você usa alguma solução para bochecho (Plax, Cepacol, Listerine...): () sim Freq. ____ () não						
Sua gengiva sangra? () não () quando usa fio dental () na escovação () espontaneamente						
Respira pela boca durante o dia? () sim () não						
Normalmente, você tem a sensação de boca seca? () sim () não Quando?						
Normalmente, você sente gosto diferente na boca? () sim () não () amargo () doce						
Queixa Principal:						
5- EXAME FÍSICO						
PA	mmHg	FC	bpm	FR	rpm	Temperatura °C
4.1- EXTRABUCAL						
ATM						
Linfonodos						
Simetria Facial						
Lábios						
Glândulas						
Pele						
Aparência Geral						
4.2- INTRABUCAL						
Mucosa labial						
Mucosa jugal						
Palato						
Região retromolar						
Língua		saburra				
Freios						
Assoalho						
Higiene Bucal: () boa () regular () ruim						
Placa visível: () sim () não						
Cálculo visível: () sim () não						
Sangramento gengival: () a sondagem () ao toque () não						
Recessão gengiva: () sim () não Dentes:						
Sensibilidade dentária: () sim () não Dentes:						
Mobilidade dentária: () sim () não Dentes:						
Sinais de bruxismo: () sim () não						



EXAME CLÍNICO		PLANO DE TRATAMENTO
18		
17		
16		
15		
14		
13		
12		
11		
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
38		
37		
36		
35		
34		
33		
32		
31		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		

