



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS - GRADUAÇÃO**

**ANÁLISE SIALOMÉTRICA E DAS CONCENTRAÇÕES SALIVARES
DE CÁLCIO, AMILASE, URÉIA E PROTEÍNAS TOTAIS DE
INDIVÍDUOS PORTADORES DA ANEMIA DE FANCONI**

CURITIBA

2005

TATIANA MARIA FOLADOR MATTIOLI

**ANÁLISE SIALOMÉTRICA E DAS CONCENTRAÇÕES SALIVARES
DE CÁLCIO, AMILASE, URÉIA E PROTEÍNAS TOTAIS DE
INDIVÍDUOS PORTADORES DA ANEMIA DE FANCONI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós – Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de concentração Estomatologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima

CURITIBA

2005

*Aos pacientes portadores da Anemia de Fanconi
e seus familiares, minha solidariedade.*

Agradecimentos

Por trás de cada agradecimento há minutos de reflexão... Lembranças dos bons momentos compartilhados junto com os professores e amigos... A saudade da convivência já é presente.

Nestes dois anos aprendi que ciência se faz por meio da busca incansável ao conhecimento... Força, perseverança e tolerância são fundamentais para poder recomeçar quantas vezes forem necessárias...

Reconheço e agradeço todos àqueles que colaboraram para a realização deste trabalho.

À Deus.

Meus pais Attilio e Maria Teresa.

Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima, exemplo de seriedade e competência, muito obrigada pela excelente orientação.

Prof. João Armando Brancher agradeço as horas de dedicação para a realização desta pesquisa. Meu respeito e admiração pelo profissional que é.

Prof. Dr. Júlio César Bisinelli ; Prof. Narciso Grein e Prof. Luiz Carlos Gambus, vocês foram os primeiros Mestres que me apresentaram e ensinaram a amar a Estomatologia. Obrigada pela confiança depositada em mim e pelo incentivo desde o início da graduação em Odontologia.

Agradeço a todos os professores do programa de Pós-graduação do Mestrado em Odontologia, área de concentração Estomatologia, pela dedicação, ensinamentos e amizade. Em especial aos professores Dr^a Marina Ribas, Dr^a Beatriz Helena França e Dr. Sérgio Aparecido Ignácio.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação Sérgio Vieira e ao coordenador do Mestrado em Odontologia, Área de concentração Estomatologia, Fernando Westephalen.

Aos colegas de mestrado, agradeço a amizade, em especial Melissa Araújo, Ana Cláudia Koubik e Lúcia Fátima Ávila.

Aos amigos Sandra Myasawa, Neide Borges, Marlene, Divonzir Stuwe, Rafael Loss, Silvana Gabardo e Cleide, sempre dispostos a ajudar.

A equipe médica e de funcionários do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Pará que possibilitaram a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 ANEMIA DE FANCONI	3
2.1.1 Histórico.....	3
2.1.2 Sinonímia.....	4
2.1.3 Definição.....	4
2.1.4 Manifestações Clínicas da Anemia de Fanconi.....	5
2.1.5 Epidemiologia	15
2.1.6 Etiopatogenia e Fisiopatologia.....	15
2.1.7 Diagnóstico da Anemia de Fanconi	22
2.1.8 Diagnóstico Diferencial	25
2.1.9 Tratamento	26
2.1.10 Prognóstico.....	28
2.2 GLÂNDULAS SALIVARES E SALIVA	29
2.2.1 Histórico.....	29
2.2.2 Histologia	29
2.2.3 A Saliva Total: Composição e Funções.....	30
2.2.4 A Saliva como Recurso Diagnóstico.....	30
2.2.5 Mecanismos de Secreção Salivar	35
2.2.6 Fluxo Salivar	36
2.2.7 Fatores que Interferem na Secreção Salivar	36
2.2.8 Hipossalivação <i>versus</i> Xerostomia	39
2.2.9 Cálcio.....	40
2.2.10 Uréia	42
2.2.11 Proteínas Totais.....	43

2.2.12 Amilase Salivar	44
3 PROPOSIÇÃO	45
3.1 OBJETIVO GERAL	45
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
4 METODOLOGIA	46
4.1 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	46
4.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA	46
4.2.1 Linha de Pesquisa	46
4.3 POPULAÇÃO	46
4.4 AMOSTRA	46
4.5 VARIÁVEIS INTERVENIENTES	47
4.6 MÉTODOS	48
4.7 COLETA DA SALIVA	48
4.8 REQUISITOS PARA COLETA PADRONIZADA DA SALIVA TOTAL	49
4.9 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS	50
4.9.1 Sialometria	50
4.9.2 Avaliação Sialoquímica	51
4.10 Análise Estatística	55
5 RESULTADOS	56
5.1 SUJEITOS DA PESQUISA	56
5.2 VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA	57
5.3 ANÁLISE SIALOQUÍMICA	58
6 DISCUSSÃO	65
7 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS	76
APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO	85
APÊNDICE 2 - ANÁLISE SIALOMÉTRICA E DAS CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO, AMILASE, URÉIA E PROTEÍNAS TOTAIS DE INDIVÍDUOS PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI	88
APÊNDICE 3 - CÁLCULOS ESTATÍSTICOS	91
ANEXO 1 - AVALIAÇÃO SIALOQUÍMICA E SIALOMÉTRICA DOS INDIVÍDUOS PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI	95

LISTA DE FIGURAS

1	COLETOR UNIVERSAL E PEDAÇO DE MANGUEIRA DE LÁTEX TIPO GARROTE	49
2	BALANÇA ANALÍTICA MARTE.....	51
3	ESPECTROFOTÔMETRO <i>SIEL 500</i> [®] USADO NA LEITURA DA ABSORBÂNCIA	52
4	KIT COMERCIAL <i>CÁLCIO LIQUIFORM – LABTEST DIAGNÓSTICA</i> [®]	52
5	REAÇÃO BIOQUÍMICA DAS PROTEÍNAS TOTAIS COM O ÍON CÚPRICO, EM MEIO ALCALINO OBTENDO UM COMPLEXO DE COR LILÁS.....	54
6	KIT COMERCIAL <i>AMILASE - LABTEST DIAGNÓSTICA</i> [®]	55
7	DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS SEGUNDO SEXO - CURITIBA - PARANÁ - 2004	57
8	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004	58
9	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DO CÁLCIO SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004	59
10	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DA URÉIA SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004	60
11	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS TOTAIS SALIVARES SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004.....	61
12	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DA AMILASE SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004	62

LISTA DE TABELAS

1	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA IDADE, SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004	56
2	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA (VFSTE), SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004.....	57
3	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO CÁLCIO NA SALIVA TOTAL ESTIMULADA SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004	59
4	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE URÉIA SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004	59
5	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS SALIVARES SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004.....	60
6	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE AMILASE SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004	61
7	VALORES DA AMOSTRA, MÉDIA E VALOR DE P PARA O TESTE "T" DE STUDENT SEGUNDO AS VARIÁVEIS E OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004.....	63
8	VALORES DA AMOSTRA, MÉDIA E VALOR DE P PARA O TESTE DE MANN-WHITNEY SEGUNDO AS VARIÁVEIS E OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004	63

RESUMO

A anemia de Fanconi (AF) é uma doença genética caracterizada por uma instabilidade cromossômica que leva ao desenvolvimento de pancitopenia progressiva e intensa, leucemia e/ou tumores sólidos. No entanto, ainda não é sabido se esta doença é capaz de induzir modificações no parênquima da glândula salivar e na composição de sua secreção. O objetivo deste estudo foi avaliar a velocidade do fluxo de saliva total estimulada (VFSTE) e a concentração de cálcio, uréia, proteínas totais e amilase na saliva de portadores da AF. Um total de 68 indivíduos fez parte deste estudo e foram divididos em 2 grupos (indivíduos portadores da anemia de Fanconi e um grupo controle formado por indivíduos saudáveis). As amostras de saliva total foram obtidas de maneira padronizada por meio do método de coleta *Spitting*. A VFSTE foi analisada pelo método gravimétrico e a análise dos componentes salivares foi realizada por meio de provas bioquímicas. Os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise estatística. A média da VFSTE registrada para os grupos experimental e controle foram, respectivamente, 0,5mL/min \pm 0,31 e 0,8mL/min \pm 0,51 ($P\leq 0,05$). A concentração de cálcio e uréia foi menor na saliva dos indivíduos portadores da AF do que nos indivíduos saudáveis ($P\leq 0,05$). A concentração de proteínas totais mostrou-se reduzida enquanto que a enzima amilase estava aumentada. No entanto, os testes estatísticos revelaram que estas alterações não foram significativas. Baseado nestes achados pode-se concluir que a anemia de Fanconi é capaz de induzir alterações significativas na VFSTE e na concentração de cálcio e uréia salivar.

Palavras-chave: saliva, anemia de Fanconi, hipossalivação, instabilidade cromossômica.

ABSTRACT

Fanconi anemia (AF) is a genetic disease characterized by a chromosomal instability that develops an intense and progressive pancitopenia, leukemia and/or solid tumors. Nevertheless, it is unknown if this illness induces changes on the salivary gland parenchyma and composition of its secretion. The aim of this study was to assess the stimulated whole saliva rate (SWSR) and calcium, urea, whole proteins and amylase concentration in saliva of AF's patients. A sample of 68 individuals participated of this research that has been divided in two groups (patients of Fanconi anemia and a control group constituted by healthy individual). Whole standard saliva samples were gotten by *spitting* method. The SWSR was analyzed by gravimetric method and sialochemistry was realized by chemistry tests. Data were submitted to statistical analysis. Average SWSR registered for experimental and control groups were, respectively, 0,5mL/min \pm 0,31 and 0,8mL/min \pm 0,51 ($p\leq 0.05$). Calcium and urea concentrations were less in Fanconi anemia saliva than healthy individuals ($p\leq 0.05$). Whole proteins concentration was decreased while amylases enzyme was increased. However, statistical tests revealed those changes were not significant. This study showed Fanconi anemia is able to induce significant changes in SWSR and calcium and urea concentration of saliva.

Key words: saliva, Fanconi anemia, hyposalivation, chromosomal instability.

1 INTRODUÇÃO

A anemia de Fanconi (AF) foi descoberta em 1927 pelo pediatra suíço Guido Fanconi. É uma anemia refratária de etiologia multigênica e características clínicas heterogêneas em função do fenótipo e da penetrância serem variáveis. A sua evolução é fatal e o único recurso terapêutico com possibilidade de cura é o transplante de medula óssea (TMO). Os pacientes quando não tratados geralmente vão ao óbito num prazo médio de três a cinco anos depois de instalada a pancitopenia (GIAMPIETRO et al., 1993; ZANIS NETO, 1999; KERVILER et al., 2000). O diagnóstico desta doença é fundamentado pela história familiar, consangüinidade, manifestações clínicas e confirmado pelos exames complementares, em especial, pelas alterações citogenéticas espontâneas induzidas por agentes clastogênicos (PASQUINI e ZANIS NETO, 2001).

No ano de 2004, ARAUJO avaliou as manifestações estomatológicas da AF e concluiu que esta doença não é capaz de provocar alterações bucais específicas. KOUBIK (2004) comprovou que as idades ósseas (IO) e dentárias (ID) nos portadores da AF estão atrasadas e não correspondem a idade cronológica do indivíduo, independente da terapêutica utilizada, sendo uma alteração inerente a doença. Neste estudo a autora comprovou que foi possível estabelecer, a partir da IC de um paciente portador da AF, estimar a IO e a ID do indivíduo, sem a utilização de exames radiográficos, não havendo necessidade de exposição à radiação. Através de fórmulas matemáticas chegou-se ao modelo estimado para $IO = 0,9120 \times IC$ e para idade dentária $ID = ,8757 \times IC$.

YALMAN et al. (2001) avaliaram a condição periodontal dos indivíduos com AF sob diferentes terapêuticas e coletaram saliva estimulada a fim de avaliar a capacidade tampão, a velocidade do fluxo e a presença de lactobacilos. Os resultados revelaram que a velocidade do fluxo salivar apresentou-se baixa, no entanto, não foi observada diferença estatística significativa entre os pacientes submetidos ou não ao transplante de medula óssea.

A saliva é uma secreção de composição variável produzida diariamente pelas glândulas salivares e que sofre influência de fatores de ordem local e sistêmica (THYLSTRUP e FEJERSKOV, 2001). Atualmente, pouco se sabe a respeito da fisiologia das glândulas salivares e das características qualitativas e quantitativas deste fluido dos pacientes portadores da anemia de Fanconi que não foram submetidos a nenhum procedimento terapêutico.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar se a doença é capaz de induzir alterações na velocidade do fluxo e nas concentrações de cálcio, uréia, amilase e proteínas totais salivares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANEMIA DE FANCONI

2.1.1 Histórico

No ano de 1927, o pediatra suíço Guido Fanconi descreveu uma família com anemia aplásica em que três irmãos apresentavam pancitopenia, astenia, infecções recorrentes, hemorragia espontânea por falência da medula óssea e múltiplas anormalidades congênitas como baixa estatura e hipogonadismo. A este quadro clínico, Fanconi denominou de anemia Perniciosiforme (FANCONI, 1927 apud TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003). Em 1929, Uehlinger descreveu uma síndrome com as mesmas características clínicas, porém, acrescentando ainda anomalias renais e dos polegares. Em 1931, Naegeli propôs o nome de anemia de Fanconi (AF) para pacientes com anemia constitucional de natureza familiar associadas à malformações congênitas (ZANIS NETO, 1999).

Na década de 60, vários pesquisadores observaram que as culturas de células em pacientes com anemia de Fanconi (AF) tinham um número acentuado de quebras cromossômicas e estas aumentavam com a adição de agentes capazes de romper o ácido desoxirribonucléico (DNA), tais como: o Diepoxibutano (DEB) e a Mitomicina C (MMC). Estas descobertas possibilitaram reconhecer os pacientes portadores da AF ao nascimento mesmo sem anemia aplásica ou expressões fenotípicas da doença. Na atualidade, os avanços na biologia molecular possibilitaram um aumento na especificidade para o diagnóstico da AF (ALTER e LIPTON, 2002).

Atualmente, sabe-se que a anemia de Fanconi é uma desordem multigenética de instabilidade cromossômica e de aspecto clínico heterogêneo (SHROEDER, ANSCHTZ, KNOPP, 1964; AUERBACH, ROGATKO, SCHOREDER-KURTH, 1989; GIAMPIETRO et al., 1993).

GREWAL et al., (2004) utilizaram o diagnóstico genético pré-implantacional para selecionar embriões sadios *in vitro* para serem transferidos para o útero materno que estava inalterado pela AF e era HLA-idêntico ao receptor. O período gestacional foi tranqüilo e 28 dias após o parto, o paciente sofreu transplante com células tronco do cordão umbilical HLA-idêntico do doador recém-nascido. A recuperação dos neutrófilos ocorreu em 17 dias, sem haver doença de enxerto-*versus*-hospedeiro aguda ou crônica subsequente. Dois anos e meio após o transplante, o paciente apresentava-se bem e a hematopoiese estava normal. Este foi o primeiro caso publicado de transplante por diagnóstico pré-implantacional com sucesso.

2.1.2 Sinonímia

A anemia de Fanconi também é conhecida na literatura científica como anemia hipoplástica congênita, pancitopenia de Fanconi, panmielopatia infantil constitucional, síndrome de Fanconi (REY, 1999), anemia aplásica constitucional ou pancitopenia constitucional (WINTROBE, 1998b). Muitos autores consideram o termo síndrome de Fanconi como um sinônimo da anemia de Fanconi. Entretanto, ALTER (1993) fez uma revisão da literatura e mostrou que a anemia de Fanconi realmente deveria ser chamada de síndrome de Fanconi porque o defeito ou os defeitos primários não são hematopoiéticos, dermatológicos ou ortopédicos, mas são pelos defeitos na reparação do DNA. Porém, a designação síndrome de Fanconi já é usada na literatura médica para descrever um quadro clínico específico de deficiência orgânica tubular renal.

2.1.3 Definição

A anemia de Fanconi (AF) é uma moléstia genética de origem familiar, de herança autossômica recessiva marcada por uma instabilidade cromossômica que inicia suas manifestações clínicas em geral na infância, evoluindo para um quadro de pancitopenia progressiva e intensa, leucemia e/ou tumores sólidos. A sua

evolução é fatal (DIGWEED e SPERLING, 1989; TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003; ROSENBERG, GREENE, ALTER, 2003c).

A anemia de Fanconi é uma anemia refratária severa, associada a malformações congênitas em aproximadamente dois terços dos casos. Embora estas más-formações possam envolver todo o organismo, as características sugestivas de dismorfismo sistêmico, incluem retardo no crescimento, deformidades esqueléticas e más-formações no sistema urinário. Essas alterações não são específicas para a anemia de Fanconi, mas deveriam ser reconhecidas durante gravidez ou na infância. Tais características clínicas sugestionam a possibilidade de desordens de hematocitopoese herdada (KERVILER et al., 2000).

2.1.4 Manifestações Clínicas da Anemia de Fanconi

As manifestações clínicas da AF são relatadas como anormalidades congênitas ou que aparecem depois das desordens hematológicas. Nem sempre as manifestações clínicas são precoces muitas vezes, estas só aparecem em indivíduos adultos. Em aproximadamente 30% dos pacientes acometidos pela AF não há expressão fenotípica da doença. Estudos recentes comprovam a heterogeneidade extrema entre as manifestações clínicas desta doença, e esclarecem que não há característica patognomônica definida (DOKAL, 2000; KERVILER et al., 2000; TISHCHKOWITZ e HODGSON, 2003).

SAGASETA de ILURDOZ et al., (2003) classificaram as manifestações clínicas da anemia de Fanconi de acordo com quatro grandes grupos:

1. anomalias congênitas;
2. endocrinopatias e deficiência no crescimento;
3. tumores sólidos;
4. anomalias hematológicas (insuficiência medular progressiva, desenvolvimento de leucemias ou síndromes mielodisplásicas).

2.1.4.1 Anomalias Congênitas

Os indivíduos portadores da AF apresentam múltiplas anormalidades congênitas heterogêneas que podem afetar qualquer órgão ou sistema e que se expressam de forma única ou concomitantemente e com variada penetrância. Tais anormalidades são representadas por malformações esqueléticas, renais, genito-urinárias, cardíacas, otorrinolaringológicas, entre outras. O aparecimento de diferentes tipos de defeitos congênitos não é predictivo da doença, nem mesmo nas famílias em que mais de um filho é portador da AF (GLUCKMAN, DEVERGIE, DUTREIX, 1983; KERVILER et al., 2000, SANTOS, SELESNICK, GLASGOLD, 2002).

Um estudo realizado por DOKAL (2000) revelou que 71% dos pacientes apresentavam anomalias esqueléticas (escoliose, sindactilia, agenesia de polegar, polegar duplo, hipoplasia do polegar, agenesia do osso radial); 64% manchas pigmentadas do tipo "café com leite" e hiper ou hipopigmentação cutânea; 63% estatura abaixo do normal; 38% microftalmia; 34% anomalias renais e urinárias, 20% malformações genitais; 16% retardo mental; 14% malformação gastrointestinal; 13% anomalias cardíacas; 11% surdez; 8% alterações no sistema nervoso central e 30 % dos indivíduos não apresentavam anormalidades.

Segundo DOKAL (2000) e SAGASETA DE ILURDOZ et al., (2003), a face dos pacientes com anemia de Fanconi faz parte das expressões fenotípicas que auxiliam na elucidação do diagnóstico clínico. Estes indivíduos exibem aspectos particulares que caracterizam a denominada *Facies de Fanconi* caracterizados por traços faciais delicados, base nasal larga, pregas de epicanto microcefalia, microftalmia, retromicrognatia, implantação baixa das orelhas.

O amplo espectro de órgãos envolvidos na doença indica os genes que participam no processo de desenvolvimento humano requerido durante a embriogênese normal. Estes genes identificados estão distribuídos ao longo do genoma. A heterogeneidade clínica da AF reflete a multiplicidade de genes e mutações em pacientes com esta desordem (LEVITUS et al., 2004).

2.1.4.1.1 Sistema tegumentar

As anormalidades envolvendo a pigmentação da pele ocorrem devido a alterações bioquímicas no metabolismo da melanina, podendo ser demonstrada por redução ou acúmulo de pigmentos. A pigmentação anormal da pele pode ser descrita como manchas do tipo "café com leite" sendo hiperocrômicas ou hipocrômicas. Tais manchas são encontradas em 63 a 79% dos pacientes. A hiperpigmentação é observada principalmente no tronco, ao redor do pescoço, nas articulações e axilas. Podem ser identificadas como efélides ou ainda como manchas grandes de limites difusos. O segundo tipo de anormalidades da pele é a hipopigmentação que se apresenta como manchas brancas e menores, sendo observadas em 31% dos pacientes (GLANZ e FRASER, 1982; KERVILER et al., 2000; ALTER e LIPTON, 2002). Também pode acontecer uma hiperpigmentação generalizada e que durante a inspeção do indivíduo tem-se a impressão clínica de uma pele "bronzeadas" (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003).

2.1.4.1.2 Sistema esquelético

DOKAL (2000) afirmou que as alterações relacionadas ao sistema esquelético representam 71% das anomalias congênitas. As deformidades do osso radial são observadas em 49 a 66% dos pacientes e os dedos polegares estão envolvidos em 39 a 55% dos casos. A ausência ou hipoplasia do radio é observada em 13 a 16% dos indivíduos e está geralmente associada com a ausência hipoplásica do dedo polegar (KERVILER et al., 2000).

As deformidades nas mãos e pés podem ser representadas por: hipoplasia do osso do carpo, hipoplasia da eminência tenar, número anormal de falanges, polegares bífidos ou supranumerários, clinodactilia e sindactilia dos dedos, falanges extranumerárias, polegar hipoplásico, extranumerário, ausente ou de topografia anômala, ausência de um dedo, ausência ou hipoplasia do primeiro metacarpiano, sindactilia ou alteração na implantação dos dedos dos pés, entre outras (PALACÍN et al., 2003; PASQUINI et al., 2003).

Outras prováveis anormalidades do esqueleto podem ser encontradas nos portadores da AF, pois, a maioria dos dados relacionados aos ossos afetados não se encontra descrita em estudos epidemiológicos. As informações conhecidas até o presente momento são baseadas apenas nos relatos de casos disponíveis na literatura científica e que são descritas a seguir como: malformações espinhais, vértebras extras, espinha bífida, micrognatia, microcefalia, anormalidades da face ou mandíbula, palato ogival, retrognatismo mandibular, atresia das coanas, bossa frontal achatada, luxação congênita do quadril, displasia congênita do quadril, escoliose, pescoço curto, síndrome de Klippel–Feil, deformidade de Sprengel, impressões digitiformes do crânio, escoliose, sela túrcica anômala, anomalia nas costelas e agenesia da clavícula (ZANIS NETO, 1992; RUUD e WESENBERG, 2001; ALTER e LIPTON, 2002; SANTOS, SELESNICK, GLASGOLD, 2002; PALACÍN et al., 2003).

2.1.4.1.3 Sistema urinário

As más-formações estruturais renais e urinárias acometem 34% dos indivíduos portadores da AF. Um exame clínico cuidadoso associado aos exames por imagens (ecografia pélvica ou tomografia computadorizada abdominal) podem apontar numerosas alterações congênitas, tais como: rim hipoplásico, displásico ou ainda agenesia de um ou dos dois rins, rim em forma de ferradura, rim ectópico, rim policístico, rim fusionado, duplicação do ureter, hidronefrose, entre outras (DOKAL, 2000; ALTER e LIPTON, 2002).

2.1.4.1.4 Sistema digestório

As alterações clínicas congênitas associadas ao sistema digestório podem manifestar-se em 14% dos pacientes com AF. Estas alterações são de diferente expressividade, e podem estar associadas a desordens anatômicas e funcionais (DOKAL, 2000). Há relatos na literatura médica que documentam atresia gastrointestinal (esôfago, duodeno, jejuno e ânus), ânus imperfurado, fístula

traqueoesofagiana, microstomia, macroglossia, úvula bífida, úvula hipoplásica, palato ogival, hérnia umbilical, divertículo de Meckel, síndrome de Buss-Chiari (PEREL et al., 1998; DOKAL, 2000; KERVILER et al., 2000; ALTER e LIPTON, 2002).

2.1.4.1.4.1 Manifestações estomatológicas

Do ponto de vista ecológico, a boca é semelhante às outras diversas regiões que formam o trato digestivo, uma vez que abriga uma microbiota residente com uma composição definida e característica. As principais patologias que podem afetar o ecossistema bucal são: a doença periodontal e a cárie dentária, que são morbidades de etiologia multifatorial e podem acometer qualquer indivíduo. Dependendo da suscetibilidade do hospedeiro e da higiene bucal, estas doenças cosmopolita, podem se expressar de maneira leve, moderada ou agressiva (WEYNE e HARARI, 2001).

Os relatos de casos descritos da literatura descrevem cáries dentárias em diferentes estágios de destruição na estrutura do dente, doença periodontal com diferentes graus de agressividade, hiperplasia gengival, granuloma piogênico, ulceração aftosa recorrente, estomatite, candidose, herpes simples, manchas melânicas, petéquias, microdontia, úvula bífida, agenesia de úvula, língua saburrosa, palidez da mucosa bucal, ulcerações, mal oclusão (JOHO e MARECHAUX, 1979; ZANIS NETO, 1992; NEVILLE et al., 1998; NOWZARI, et al., 2001; YALMAN, et al., 2001; OTAN et al., 2004). Estes achados são comuns quando comparados com os relatos de casos da população geral sadia, no entanto, alguns eventos clínicos podem estar relacionados à suscetibilidade inerente ao portador da AF devido ao quadro de falência medular progressiva, imunossupressão e a terapêutica utilizada; ou ainda a vícios e/ou predisposições individuais do portador (dieta, higiene bucal deficiente, condição sócio-econômica), afecções concomitantes ou outras heranças familiares (HARISSON et al., 1998; NEVILLE et al., 1998).

Os achados bucais relacionados a trombocitopenia incluem a hemorragia gengival, petéquias na mucosa bucal, púrpuras e equimoses. A mucosa bucal pode parecer pálida por causa da anemia. Quando há leucopenia, o paciente pode ainda ficar extremamente vulnerável aos microorganismos pertencentes a microbiota bucal e um estado febril pode ser o primeiro sinal de uma infecção grave (SONIS, FAZIO, FANG, 1996; HARISSON et al., 1998; NEVILLE et al., 1998).

KUTLER et al. (2003b) reforçam a hipótese da predisposição do indivíduo portador de AF em desenvolver múltiplos carcinomas de células escamosas. Estes autores acreditam que esta predisposição ao desenvolvimento de neoplasias na boca e região genital se deva a uma exposição maior a fatores locais ambientais e agentes microbianos, tais como *papillomavirus humano* e *herpesvirus humano*.

Em 2004, ARAUJO fez um estudo clínico para levantar as principais manifestações estomatológicas apresentadas pelos indivíduos portadores da AF e encontrou como resultado: pigmentação melânica na mucosa bucal, lesões traumáticas e hemorrágicas, sangramento gengival, biofilme dental e alterações gengivais. Anomalias dentárias, tais como: agenesias, taurodontismo e dentes com raízes curtas, afiladas e com dilacerações foram diagnosticadas por meio do exame radiográfico. No entanto, este trabalho revelou que a anemia de Fanconi não é capaz de provocar manifestações estomatológicas patognomônicas.

KOUBIK (2004) comparou as idades cronológica, óssea e dentária em um grupo de indivíduos portadores da AF. Seus resultados revelaram que as idades óssea e dentária estão atrasadas e não correspondem a idade cronológica. Estes achados reforçam a hipótese de que os pacientes com anemia de Fanconi apresentam atraso no crescimento ósseo.

Até a presente data, a única pesquisa encontrada envolvendo a saliva foi o estudo de YALMAN et al. (2001) que avaliaram 16 portadores de AF entre 4 e 16 anos de idade, dentre estes, 9 crianças tinham doadores compatíveis e iriam ser submetidas ao TMO e, 7 faziam terapia com esteróides. A idade média das crianças que foram submetidos ao TMO era 9.7 anos (sendo 3 do sexo masculino e 4 do sexo

feminino); e o grupo dos que não foram submetidos ao TMO apresentavam idade média de 8.2 anos (sendo 6 do sexo masculino e 3 do sexo feminino). Os pesquisadores avaliaram a condição periodontal e coletaram saliva estimulada a fim de avaliar a capacidade tampão, o fluxo salivar e a presença de lactobacilos salivares. Como resultados os autores encontraram que a velocidade do fluxo salivar apresentou-se baixo, no entanto não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos (TMO (+) e TMO (-), sendo a média do fluxo salivar 0.48 e 0.44 respectivamente) e o pH para TMO (+) foi 3.5 e para TMO (-) foi 4.4.

2.1.4.1.5 Sistema cardiovascular

A ocorrência de alterações cardíacas em indivíduos portadores da AF pode variar de 6 a 13% (DOKAL 2000; SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003). ALTER e LIPTON (2002) descrevem que as principais anomalias morfofuncionais no sistema cardiovasculares são representadas por defeito ventricular septal, estenose pulmonar periférica, estenose aórtica, malformação vascular, ateromas aórticos, defeito septal atrial, pseudotronco, aorta hipoplásica, drenagem pulmonar anormal, arco aórtico duplo, cardiomiopatia, estenose da carótida interna, artéria radial ausente ou anômala e prolapso da válvula mitral. KERVILER et al. (2000) afirmam que os vasos periféricos também podem estar envolvidos, sendo a ausência ou deslocamento da artéria radial a alteração vascular mais comum.

2.1.4.1.6 Sistema reprodutor

DOKAL (2000) relatou que as malformações genitais podem ocorrer em 20% dos portadores da AF. Nos indivíduos do sexo masculino, as manifestações mais frequentes são hipoplasia, agenesia dos testículos ou criptorquidismo; hipospadias; azoospermia, micropênis; e/ou pênis encurvado. Já nos pacientes do sexo feminino podem ocorrer hipoplasia dos ovários, útero infantil, hipogenitália, útero em bigorna, aplasia do útero e vagina, atresia do útero, vagina e ovário (BRAVO et al., 2001; ALTER e LIPTON, 2002; SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003).

2.1.4.1.7 Sistema sensorial

2.1.4.1.7.1 Anomalias otológicas

As deformidades morfológicas que afetam as estruturas da orelha externa e a perda auditiva foram relatadas como parte do espectro clínico desta desordem (SANTOS, SELESNICK, GLASGOLD, 2002). GIAMPIETRO et al. (1993) avaliaram 370 pacientes do IFAR e reconheceram que a perda da audição ocorreu em 11.3% dos pacientes, enquanto que, as malformações da orelha aconteceram em 14.9% dos indivíduos. SANTOS, SELESNICK, GLASGOLD (2002) acreditam que a perda auditiva, quando presente, provavelmente manifesta-se secundária as alterações cromossômicas responsáveis pela regulação da embriogênese, e não secundário ao início da anemia, que sugestionaria um mecanismo de vasculopatia sensoneural para a perda auditiva.

2.1.4.1.7.2 Anomalias oftálmicas

Dentre os 370 pacientes registrados no *International Transplantation Registry – Internacional Bone Marrow Transplantation Registry* (IFAR) e avaliados por GIAMPIETRO et al. (1993) 40,5% apresentaram anormalidades oculares.

KERVILER et al. (2000) exprimiram que a microftalmia está presente em 19 a 43% dos pacientes, o estrabismo em 16 a 29% e a ptose palpebral em 26% dos indivíduos com AF. Ainda outras deformidades congênitas podem estar associadas aos olhos nesta doença, como o nistagmo, a prega de epicanto, a blefaroptose, o hipertelorismo, a catarata, o astigmatismo, a cegueira, a íris pequena e a epífora (ALTER e LIPTON, 2002; MERRIMAN, MORA, McGAUGHRAN, 2002).

2.1.4.1.8 Sistema nervoso

Anormalidades do sistema nervoso central podem estar presentes em 8% dentre as anormalidades constitucionais dos portadores da AF (DOKAL, 2000). Entre elas podem destacar-se hiperreflexia, paralisia de Bell, retardo mental

(ALTER e LIPTON, 2002). Em menos de 5% observa-se a hidrocefalia e a ventriculomegalia, essas duas alterações podem estar associadas ao retardo mental (KERVILER et al., 2000).

2.1.4.2 Endócrinopatias e falha no crescimento

WAJNRAJCH et al. (2001) fizeram um estudo prospectivo antropométrico e hormonal em 54 pacientes portadores da anemia de Fanconi de 47 famílias não-aparentadas. Este estudo teve o objetivo de determinar a grandeza e a natureza das endocrinopatias, a magnitude da baixa estatura, o impacto das endocrinopatias na altura e a correlação dessas com os grupos de complementação. Foram encontradas anormalidades endócrinas em 44 dos 54 pacientes avaliados (81%) que estavam representadas por baixa estatura, insuficiência do hormônio do crescimento (GH), hipotireoidismo, intolerância a glicose, hiperinsulinimismo e/ou *diabetes mellitus*.

2.1.4.3 Tumores sólidos

ALTER (2003) fez um estudo-piloto a respeito da inter-relação entre a Anemia de Fanconi e o desenvolvimento do câncer. Este estudo foi feito através da revisão de literatura utilizando a base de dados *Medline* de todos os casos publicados nos anos de 1927 a 2001 com o objetivo de identificar todos os tipos de câncer, as idades nas quais eles ocorreram com maior frequência e a probabilidade cumulativa a respeito do seu desenvolvimento. Foram identificados 1301 casos em que os pacientes com AF desenvolveram neoplasias. Dentre esses, 8,9% apresentaram leucemia (principalmente a leucemia mielóide aguda); 6,8% tiveram síndrome mielodisplásica; 5,3% manifestaram tumores sólidos (neoplasias dos trato respiratório, digestório e os carcinomas ginecológicos) e 2,8% desenvolveram tumores hepáticos. A idade média para o desenvolvimento das lesões foi de 16 anos comparados com 68 anos na população geral.

ROSENBERG, GREENE, ALTER (2003) fizeram um estudo em 145 pacientes norte-americanos portadores da AF com idade média de 12,7 anos a fim de quantificar os riscos relativos de desenvolver câncer em comparação com a população geral. A idade média do diagnóstico da AF nos pacientes manifestando os tumores sólidos foi de 7.6 anos. Estes indivíduos tinham uma idade significativamente mais avançada do que aqueles que não desenvolveram tumores sólidos, nos quais o diagnóstico foi feito aos 4.6 anos. Este achado sugere que os pacientes que desenvolveram esses neoplasmas poderiam ter um fenótipo da AF mais moderado. A idade média do início das leucemias foi aos 11.3 anos e a idade média para o início do desenvolvimento dos tumores sólidos foi de 28.9 anos. Tais dados sugerem que os tumores sólidos aparecem em pacientes portadores da AF numa faixa etária mais avançada.

KUTLER et al. (2003b) analisaram a incidência e a probabilidade cumulativa para o desenvolvimento de carcinoma de células escamosas na região de cabeça e pescoço em 754 pacientes com AF registrados no IFAR. Do total da amostra investigada, 19 (3%) indivíduos desenvolveram a doença dos quais 13 eram do sexo feminino e 6 do sexo masculino havendo relação de 2:1 mulheres. A boca representou 68% da localização dos tumores primários e as regiões anatômicas mais frequentes foram, respectivamente, a língua, o rebordo alveolar, o trígono retromolar, o soalho bucal e a mucosa jugal. Baseados nestes achados, os autores acreditam que o carcinoma de células escamosas na região de cabeça e pescoço tem uma incidência aumentada em comparação com a população geral.

2.1.4.4 Manifestações hematológicas

KUTLER et al. (2003 a) analisaram os registros de 754 pacientes portadores de AF registrados no IFAR e observaram que 80% destes indivíduos experimentaram o início da falência da medula óssea e 23% desenvolveram neoplasias. Destes tumores, 60% eram de origem hematológica e 40% eram de origem não hematológica. O risco de desenvolver falência da medula óssea, neoplasias hematológicas e não hematológicas aumenta com o avanço da idade numa relação de 90%, 33%, e 28%, respectivamente.

ALTER (2003) investigou 1301 casos descritos na literatura. Seus achados revelaram que 116 artigos relatavam casos de leucemia, dos quais, sete apresentavam relatos de leucemia linfocitária e o restante, leucemia mielóide aguda (LMA). Oitenta e nove pacientes tiveram síndrome mielodisplásica (MDS), e desses, treze evoluíram para leucemia (algumas formas de MDS são pré-leucêmicas em pacientes com AF). Porém, os pacientes com AF podem ter síndrome mielodisplásica por longo período sem transformação leucêmica. A idade média para o desenvolvimento da leucemia é de 14 anos, para os tumores sólidos 26 anos e para os tumores hepáticos, 13 anos de idade.

2.1.5 Epidemiologia

A anemia de Fanconi é o grupo mais freqüente dentre as anemias aplásicas (PASQUINI, 2000; SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003).

ALTER e LIPTON (2002); SANTOS, SELESNICK, GLASGOLD (2002); SAGASETA de ILURDOZ et al. (2003); PASQUINI et al. (2003) registraram os episódios da ocorrência, as distribuições geográficas e os determinantes da AF. Estes autores apontam que esta doença genética afeta 1:360.000 nascimentos e é considerada heterozigota para 0,5% da população. Estes estudos demonstraram que há uma variabilidade étnica, pois, a freqüência estimada de heterozigotos nos Estados Unidos e na Europa é de 1/300, no sul da África a freqüência estimada é de 1/77 e entre os Judeus Ashkenazis, 1/90. A AF também tem uma ocorrência maior nos indivíduos de origem cigana.

2.1.6 Etiopatogenia e Fisiopatologia

O mecanismo pelo qual a AF se origina e evolui, assim como, as modificações funcionais causadas nas células, tecidos e órgãos sobre todo o organismo ainda é parcialmente compreendida, pois esta síndrome de herança

autossômica recessiva é marcada pela heterogeneidade genotípica e fenotípica. Apesar de vários eventos citogenéticos, moleculares e bioquímicos terem sido desvendados, a sua etiopatogenia e fisiopatologia continuam sendo investigadas pela multiplicidade das ocorrências da variação na informação genética transmitida. Para melhor compreender esta doença, é essencial conhecer os principais eventos citogenéticos, hematológicos e oncogênicos relacionados a ela (DEAN et al., 1999; VENKITARAMAN, 2002; PASQUINI et al., 2003; ROSENBERG, GREENE, ALTER, 2003 ; TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003).

2.1.6.1 Inter-relação da etiopatogenia e fisiopatologia com hemocitopoese

Ao nascimento, o portador desta síndrome autossômica recessiva, caracterizada por uma pancitopenia progressiva com hipoplasia da medula óssea, apresenta exames hematológicos dentro dos padrões de normalidade, pois a medula óssea nesse período da vida ainda está normocelular (TISCHKOWITZ e HOGSON, 2003).

De acordo com MILLER (1995) e SAGASETA de ILURDOZ et al. (2003), a macrocitose é freqüentemente a primeira anormalidade hematológica descoberta e está associada a pecilocitose, anisocitose moderada, aumento do antígeno eritrocitário, persistência da hemoglobina fetal e o aumento da eritropoetina sérica.

A primeira manifestação quantitativa após a macrocitose é a trombocitopenia em mais de 50% dos pacientes, seguida de granulocitopenia e mais lentamente desenvolve-se a anemia (ZANIS NETO, 1992). As alterações plaquetárias e da série vermelha em geral precedem as anormalidades dos leucócitos (ZANIS NETO, 1999; TISCHKOWITZ e HOGSON, 2003).

Na macrocitose há um aumento da atividade medular, podendo conter muitos plasmócitos e mastócitos ao longo do curso da doença. A medula óssea desenvolve uma hipocelularidade progressiva culminando para a pancitopenia e falência da medula óssea (TISCHKOWITZ e HOGSON, 2003).

O início das anormalidades hematológicas é definido quando os seguintes parâmetros laboratoriais são observados: contagem de plaquetas abaixo que $100 \times 10^9/L$, nível de hemoglobina (Hb) abaixo de 6.206 mM (10 g/dL), ou contagem de neutrófilos abaixo que $1 \times 10^9/L$ (KUTLER et al., 2003a).

Uma vez iniciada a alteração hematológica, os pacientes evoluem para a pancitopenia numa média de 3 anos (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003). A pancitopenia instala-se de forma lenta e está presente tipicamente entre os 5 e os 10 anos de idade, porém de uma maneira muito variável. Clinicamente, o doente pode apresentar hemorragias, astenia e/ou infecções repetidas (ZANIS NETO, 1999; TISCHKOWITZ e HOGSON, 2003). Sem tratamento os pacientes vão ao óbito num período médio de 3 a 5 anos após a instalação da pancitopenia (ZANIS NETO, 1992).

ALTER (2003) afirma que em geral, a evolução da AF leva o paciente à morte, por evoluir para anemia aplásica severa (pancitopenia, devido à redução das células hematopoiéticas e substituição destas por células gordurosas), com as complicações infecciosas e hemorrágicas inerentes. Menos freqüentemente, a AF evolui para leucemia aguda, que normalmente, é mielóide (8,9%), síndrome mielodisplásica (6,8%), tumores sólidos de diversas naturezas (5,3%) e tumores hepáticos (2,8%).

O início da anemia aplásica geralmente é insidioso. Os sintomas mais comumente apresentados são aqueles secundários à anemia e a trombocitopenia, incluindo fraqueza, fadiga, equimose, epistaxe, sangramento gengival, hemoptise nasal, gastrointestinal. As manchas purpúricas são indicativas de complicações hematológicas mais sérias e geralmente estão interrelacionadas a traumas. As hemorragias, com ou sem palidez central, são constantemente observadas nas retinas e nas margens gengivais. Podem ocorrer febre ou infecções em virtude da neutropenia (WILLIAMS et al., 1976; HARRISON et al., 1998).

Na seqüência da evolução do processo infeccioso, o enfermo pode desenvolver rapidamente uma sépsis, levando o endotélio vascular (até então íntegro), aproveitando-se da plaquetopenia subclínica, para a evolução de um quadro

purpúrico, que culmina para o óbito por acidente vascular cerebral hemorrágico (PASQUINI, ZANIS NETO, 2001). A pancitopenia progressiva faz parte da patogenia da anemia de Fanconi e representa risco de vida por evoluir para a anemia aplásica severa. O pior prognóstico está relacionado com a contagem de neutrófilos, sendo o risco de infecções bacterianas e fúngicas alto (HARRISON et al., 1998).

2.1.6.2 Alterações citogenéticas inerentes a anemia de Fanconi e a interrelação com etiopatogenia e fisiopatologia

A AF é uma doença autossômica recessiva provocada por erros genéticos ligados a mutações no DNA dos cromossomos não-sexuais dos pacientes, ou por herança de um gene defeituoso situado em um autossomo. Ela decorre da não produção de uma proteína ou produção insuficiente ou defeituosa de uma proteína essencial, que pode ser uma proteína estrutural, uma enzima necessária ao metabolismo ou ainda, uma proteína reguladora da atividade celular (REY, 1999).

No ano de 1989, DIGWEED e SPERLING concluíram que a AF deve-se a um defeito nos mecanismos de reparo do DNA na célula tronco pluripotente. A deficiência de uma proteína de até 20 Kd nas células destes indivíduos é o fator responsável pela instabilidade cromossômica.

A herança autossômica recessiva é um padrão de herança que só se manifesta fenotipicamente quando homocigoto ou no estado heterocigoto composto, isto é, quando ambos alelos em um *locus* genético particular são mutantes (HARRISON et al., 1998).

A AF é uma síndrome multigênica autossômica recessiva. Para que um indivíduo venha a desenvolver a doença é necessário que nenhuma das cópias (clones) do gene seja funcional. Se, somente uma delas é não funcional, o indivíduo será portador da enfermidade, no entanto, não desenvolverá a doença. Se dois indivíduos portadores de mutações no mesmo gene tiverem filhos, 50% de sua descendência será portadora por ter uma das cópias afetadas, 25% possuirá ambas cópias funcionais, indivíduos sem mutações e 25% terá ambas cópias funcionais;

estes são os doentes com AF (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003). Cada paciente pode ser homozigoto ou duplamente heterozigoto (ALTER e LIPTON, 2002).

A nomenclatura "grupos de complementação" surgiu de uma técnica complexa de hibridização somática, na qual fundem-se dois núcleos celulares em uma única célula. Caso o defeito genético da célula persistir após esta fusão, as células são ditas que pertencem ao mesmo grupo de complementação, se o defeito celular for corrigido após a fusão, as células são ditas como pertencentes a diferentes grupos de complementação (ZANIS NETO, 1999). Existem 11 grupos de complementação que são representados por: FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL, FANCI, FANCJ (LEVITUS et al., 2004). Destes 11 grupos, 10 genes já foram clonados, exceto o FANCB (WANG e D'ANDREA, 2004).

JOENJE et al. (2000) comprovaram que o grupo de complementação previamente designado como FANCH por JOENJE et al. (1997) é igual ao grupo de complementação FANCA.

A heterogeneidade da AF pode ser explicada pela existência de múltiplos alelos em um único *locus*, por mais de um *locus* para AF e ambos. No entanto, a heterogeneidade na expressão dos defeitos de desenvolvimento pode ser observada em membros da mesma família. Isto pode ser causado pela existência de outros locus genéticos modificados a expressão do gene AF e pelo efeito do meio ambiente (ZANIS NETO, 1992).

A citogenética pode revelar alterações cromossômicas instáveis traduzidas por: instabilidade cromossômica espontânea e aumentada quando exposta a agentes clastogênicos, endorreduplicações, rearranjos, isocromátides, poliploidias, translocações, trocas em nível de cromátides, falhas e quebras cromossômicas, anéis dicêntricos, figuras tri e quadrirradiais, além de deleções parciais e completas (SHROEDER, ANSCHTZ, KNOPP, 1964; SCHULER, KISS, FABIAN, 1969; HAGERMAN, WILLIAMS, 1993; PASQUINI e ZANIS NETO, 2001). Em 1982, DUTRILLAUX et al. determinaram que a fase G2 do ciclo celular é maior em anemia de Fanconi.

As alterações genéticas comprometem a fisiologia celular, as quais provocam diversas anormalidades. Cada célula em cada órgão de um paciente com AF pode falhar em sua missão determinada geneticamente. Assim, pode afetar todos os tecidos do organismo. A severidade do fenótipo é determinada, em parte, pelo grupo de complementação específico, e mais significativamente, pelo tipo de mutação genética (PASQUINI e ZANIS NETO, 2001; SAGASETA de ILURDOZ, 2003, KUTLER, et al., 2003a).

JOENJE e PATEL (2001) revisaram a base molecular de anemia de Fanconi e constataram que a capacidade prejudicada para manter integridade de genoma resulta no acúmulo acelerado de mudanças genéticas chaves que promovem transformação celular e neoplasia. A predisposição para desenvolver neoplasias malignas nesta doença é, então, um resultado indireto do defeito genético primário.

2.1.6.3 Relação da fisiopatologia da AF e a carcinogênese

A oncogênese é considerado como um processo dinâmico que evolui em múltiplas etapas representadas pela iniciação, promoção e progressão e manifestação envolvendo alterações genéticas aberrantes que culminam na transformação maligna das células, através de modificações progressivas do perfil biológico celular, com alterações de sua capacidade de proliferação, diferenciação, sobrevivência e interação com o meio ambiente (RODRIGUES e CAMARGO, 1999; LEITE e LOPES, 2000).

A cancerização é o resultado da interação multifatorial de fatores genéticos e imunológicos do hospedeiro, componentes ambientais, alguns vírus, agentes físicos e variadas substâncias de natureza química que resultam de agressão ao genoma da célula, com alterações do DNA (mutações) ou expressões anômalas de genes normais que levam à ativação ou inativação de genes que coordenam funções essenciais da célula, como proliferação, diferenciação, morte por apoptose e estabilidade do genoma. O acúmulo progressivo de mutações leva à perda

progressiva da homeostase e ao aparecimento do fenótipo celular maligno (PINDBORG et al., 1997; RODRIGUES e CAMARGO, 1999).

Os genes que se predispõe ao câncer podem atuar de várias maneiras; seja através do sistema de vigilância, afetando a capacidade de reparação do DNA, seja afetando a velocidade do metabolismo de pré-carcinógenos ou de carcinógenos. Há evidências de que o mecanismo comum para iniciação do câncer seja através de alteração do DNA, resultando assim, em produção celular autônoma e incontrolável (PEREIRA PINTO et al., 1997).

PASQUINI et al. (2003) argumentam sobre a existência de três mecanismos postulados que predispõe indivíduos com AF ao desenvolvimento de neoplasias; defeito no reparo do DNA; defeito na detoxificação de radicais de oxigênio e imunodeficiência.

D'ANDREA et al. 2003 afirmou que mutações genéticas, mutações somáticas, ou epigenéticas silenciam os genes da AF, podendo contribuir a progressão de câncer de natureza epitelial.

Vários genes são importantes na carcinogênese, no entanto, os oncogênes e os genes supressores de tumor e genes que controlam a apoptose destacam-se. A neoplasia surge quando há alterações qualitativas e/ou quantitativas desses genes (MONTENEGRO e FRANCO, 1999).

A AF é causada por mutações herdadas em um grupo de genes (superfamília FAC) responsáveis por reparo de danos oxidativos do DNA e instabilidade cromossômica. Trata-se de uma síndrome associada a falhas no sistema de reparo, na qual as chances de o DNA albergar mutações crescem progressivamente conforme a exposição individual à ação de radicais livres (GARICOCHEA, 2000; JOENGE e PATEL, 2001).

Indivíduos portadores de AF possuem alterações em algumas enzimas de excisão e são incapazes de reparar o dano no DNA. SCHWEIGER et al. (1987) sugeriram que o defeito no reparo do DNA na AF é localizado, além de incisão, reação de exonuclease e síntese de DNA, e que isto representa muito provavelmente o metabolismo prejudicado de ADP-ribose.

PINDBORG et al. (1997) afirma que erros genéticos podem ser introduzidos quando enzimas que replicam o DNA durante o ciclo celular fazem cópias erradas, sendo que na maioria das vezes esses erros são rapidamente corrigidos pelo sistema de reparo que opera em cada célula. Quando o sistema de reparo falha, o dano se transforma em uma mutação permanente em um dos genes celulares e neste mesmo gene em todas as células descendentes. A transformação maligna de uma célula ocorre através do acúmulo de mutações específicas de genes.

KUTLER et al. (2003 c); LOWY e GILLISON (2003); PASQUINI et al. (2003) acreditam que as infecções virais produzidas pelos vírus *human papillomaviruses* (HPV), *human herpes virus* (HHV), *Epstein-Barr* (EBV), *varicela zoster virus* (VZV), *adenovirus* em indivíduos imunodeprimidos portadores de AF estão associadas ao alto risco de desenvolvimento de neoplasias.

A célula afetada deve ser exposta ao agente de iniciação antes do promotor. Enquanto uma única exposição ao agente iniciador pode ser suficiente, a promoção requer período prolongado de exposição. A exposição simultânea a um agente iniciador (ex. instabilidade cromossômica) e um promotor como (ex. ciclofosfamida, radiação ionizante, oximetalona), pode explicar a interação sinérgica para o desenvolvimento do câncer (ZANIS NETO, 1999; KUTLER et al., 2003 a; ALTER, 2003, PASQUINI et al., 2003).

2.1.7 Diagnóstico da Anemia de Fanconi

TISCHKOWITZ e HODGSON (2003), KUTLER et al. (2003 a) acreditam que a identificação do paciente portador desta doença está baseada nos antecedentes do paciente (hereditariedade e consangüinidade); em sua queixa (astenia, hematomas mediante a pequenos traumas, palidez cutânea, infecções repetidas, hemoptise); na anamnese (história médica atual e pregressa); na avaliação dos sinais e sintomas (anormalidades congênitas múltiplas, heterogêneas e de penetrância variada; alterações hematológicas, endocrinopatias e deficiência no crescimento; e no aparecimento de tumores sólidos ou hematológicos).

Os exames laboratoriais hematológicos, histopatológicos e por imagens podem ser específicos ou inespecíficos para a AF e são necessários na elucidação

do diagnóstico definitivo. Os resultados dos exames laboratoriais específicos podem ser representados por instabilidade cromossômica quando expostos a agentes clastogênicos como o diepoxibutano; e inespecíficos, como alteração no número de plaquetas e nos exames por imagem como a pesquisa de malformações nos órgãos internos tais como rim ectópico, radiografia de mão e braço em busca de anormalidades do rádio e dos polegares (SHAHAM et al. 1987; ZANIS NETO, 1999; DOKAL, 2000; ALTER e LIPTON, 2002; TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003).

Durante a entrevista do paciente, os dados pessoais (etnia, nacionalidade, procedência e hábitos culturais) são informações importantes a serem observadas. Existem grupos étnicos que apresentam um risco particular para o desenvolvimento de doenças genéticas, principalmente, aqueles que têm como princípios morais e religiosos, o casamento consanguíneo que é comum entre os judeus Ashkanazis, Ciganos, Africanos, entre outros (ROSENDORFF et al., 1987; TIPPING et al., 2001; TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003).

O encontro do *"The Fanconi Anemia Writing Committee"* em 1991 estabeleceu os critérios propostos por AUERBACH et al. (1989) como protocolo de diagnóstico da Anemia de Fanconi. Este protocolo estabelece que a citogenética positiva associada a observação de algumas características clínicas do indivíduo portador deverá alcançar um escore total de três ou mais pontos. Os achados clínicos e os respectivos valores que são levadas em consideração neste protocolo encontram-se descritos a seguir:

ASPECTOS CLÍNICOS	ESCORE
Retardo de crescimento	+ 1
Pigmentação anormal	+ 1
Anormalidade renal/urinária	+ 1
Microftalmia	+ 1
Dificuldade de aprendizado	- 1
Trombocitopenia	+ 1
Anormalidade do radio ou polegar	+ 1
Outra anormalidade esquelética	- 1

Segundo a *Asociación Española de Anemia de Fanconi* (2004), ninguém pode prever quando a falência medular vai iniciar. A idade média geralmente é em torno dos sete anos de idade. Muitos indivíduos começam a ter sintomatologia referente à falência medular como petéquias, equimoses, hematomas frente a pequenos traumas, sépsis, hemorragia excessiva, astenia, hemoptise nasal entre os 3 e 12 anos de idade. Há relatos de que 10% dos casos foram diagnosticados depois dos 16 anos de idade, existindo alguns indivíduos que foram diagnosticados somente acima dos 40 anos de idade.

Uma minoria de pacientes foi diagnosticada pelo teste da ruptura cromossômica expostos a agentes clastogênicos, sem apresentar alterações hematológicas e fenotípicas da doença na terceira década de vida. A anemia de Fanconi não é uma enfermidade exclusiva da infância (*Asociación Española de Anemia de Fanconi*, 2004).

KWEE et al. (1997) descreveram um indivíduo portador de AF cujo diagnóstico fora realizado somente aos 56 anos de idade.

2.1.7.1 Exames complementares

2.1.7.1.1 Exames laboratoriais inespecíficos

De acordo com OLIVEIRA (1990); PITA et al. (2001); ALTER e LIPTON (2002); KUTLER et al. (2003a) vários exames laboratoriais inespecíficos são utilizados para avaliar o estado de saúde geral do paciente portador de AF, tais como: hemograma completo, contagem de plaquetas, dosagem de ferro, ferritina e trans ferritina, bilirrubina, fragilidade globular osmótica, mielograma, prova de Coombs, eletroforese da hemoglobina, exame parasitológico de fezes, intra-dermoreação com PPD, pesquisa de sangue oculto, sorologia para infecções virais, tipagem HLA, tempo de sangramento, fragilidade capilar, esfregaço do sangue periférico e exames por imagens (radiografias, ultra-sonografia, ressonância magnética e tomografia).

2.1.7.1.2 Exames específicos

2.1.7.1.2.1 Citogenética com adição de agentes clastogênicos

Os estudos citogenéticos com adição de agentes clastogênicos permitem estudar alterações cromossômicas em células constitucionais do indivíduo utilizando preparos em metáfase de linfócitos de cultura de sangue periférico. Quando adicionados agentes clastogênicos, como diepoxibutano (DEB), mitomicina C (MMC) ou mostarda nitrogenada ocorre um aumento acentuado de quebras cromossômicas (ALTER e LIPTON, 2002; PASQUINI e ZANIS NETO, 2001). OLIVEIRA e HAUFF (1996) afirmam que a única característica que diferencia a AF de outras síndromes genéticas marcadas pela falência medular é a hipersensibilidade aos agentes clastogênicos que resulta em instabilidade cromossomial e morte celular.

2.1.8 Diagnóstico Diferencial

A determinação da natureza desta síndrome genética deve ser baseada na comparação de sinais e sintomas clínicos, na instabilidade genômica, nas alterações hematológicas com as características comuns a outras moléstias genéticas. O diagnóstico diferencial em relação às características clínicas inclui outras síndromes genéticas tais como: a neurofibromatose tipo 1, a associação de VACTERL e a trombocitopenia com ausência do rádio (TAR). O teste do DEB é eficaz para distinguir a AF destas síndromes (PASQUINI e ZANIS NETO, 2001).

Com relação à instabilidade genômica associada ao elevado risco de desenvolvimento de neoplasias, o diagnóstico diferencial deve ser executado com as seguintes enfermidades: Xeroderma pigmentoso, Ataxia-teleangiectasia, Síndrome de Bloom, Síndrome de Cockayne e Câncer de cólon hereditário sem polipose (PASQUINI e ZANIS NETO, 2001; TISCHKOWITZ e HODGSON, 2003).

Na AF, a causa genética mais freqüente é a falência medular, o diagnóstico diferencial deve incluir as síndromes, enfermidade congênitas ou adquiridas que evoluam para pancitopenia ou citopenias isoladas como: Disqueratose congênita,

Anemia de Diamond-Blackfan, Aplasias medulares adquiridas, Síndrome de Schwachman-Diamond, entre outras (D'ANDREA et al., 2002).

2.1.9 Tratamento

Apesar da terapêutica para a AF ter o objetivo de devolver melhores condições clínicas possíveis para a sobrevivência do enfermo e ter como finalidade aumentar a qualidade de vida e a sobrevida do portador, todas as terapias possuem conseqüências deletérias aos doentes, inclusive o regime de condicionamento pré-transplante com a utilização de quimioterápicos e irradiação (LATORRE, 2001; BRAVO et al., 2001; ALTER, 2003; PASQUINI et al., 2003; SAGASETA de LURDOZ et al., 2003).

A anemia de Fanconi é a mais comum aplasia de origem hereditária e pode ser totalmente corrigida pelo transplante de medula óssea (TMO). Pacientes com esta anemia, são hipersensíveis a agentes quimioterápicos e sofrem uma intensa e grave toxicidade em resposta aos regimes de condicionamento, que, em geral, utilizam agentes alquilantes como a ciclofosfamida (ZANIS NETO, 1999).

O tratamento de eleição para os pacientes portadores da anemia de Fanconi é o transplante de medula óssea de um doador aparentado compatível (D'ANDREA et al., 2002; CASTRO et al., 2003; PASQUINI et al., 2003), no entanto, a probabilidade de que um membro da família seja histocompatível é pequena. Como conseqüência disso, e, conhecendo a evolução da doença, várias terapias têm sido propostas com o objetivo de melhorar a qualidade de vida dos portadores da AF e prolongar a sua sobrevida.

O tratamento de suporte é fundamental para evitar complicações fatais, especialmente as hemorragias e as infecções. Transfusões sangüíneas prévias ao TMO interferem no seu sucesso, pois os pacientes com menos de 15 transfusões apresentam uma sobrevida superior a 90% e naqueles mais transfundidos, os valores diminuem para 65%. Este tipo de tratamento paliativo visa manter as funções fisiológicas em estado relativamente satisfatório, enquanto não se encontra um doador compatível. Nele, enquadram-se as cirurgias corretivas, tratamento

transfusional, terapêutica com andrógenos, citocinas e terapia para enfermidades malignas correlacionadas (PASQUINI, 2000).

As intervenções cirúrgicas indicadas para os defeitos ortopédicos e alguns congênitos em órgãos internos não devem demorar já que uma vez instalada a falência medular, as condições para realizá-las serão menos favoráveis (SAGASETA DE ILURDOZ et al., 2003).

A terapia transfusional de sangue e plaquetas deve ser utilizada com cautela por causa das complicações a curto e em longo prazo. O risco de hemorragia deve ser criteriosamente avaliado, sendo que as transfusões de plaquetas somente devem ser fornecidas quando a contagem destas células for inferior a $10.000/\mu\text{L}$ ou quando existir sangramento ativo com contagem de plaquetas maior. Os eritrócitos concentrados também devem ser transfundidos quando a concentração de hemoglobina for menor do que 7g/dL . Os eritrócitos concentrados devem ser filtrados para retirar os leucócitos e as plaquetas, a fim de reduzir a sensibilização (HARRISON et al., 1998). O tratamento por meio das transfusões sanguíneas, além de haver o risco de infecção transfusional pelo vírus da hepatite B ou pelo vírus HIV, podem prejudicar o sucesso de um transplante de medula óssea pelo fato de promoverem ativação do sistema imunológico (HARRISON et al., 1998).

O tratamento para um quadro clínico de citopenia significativa em que a dosagem de hemoglobina e as contagens de plaquetas e neutrófilos forem menores que 8g/dL , 30.000 células/mL e 500 células/mL, respectivamente, a pancitopenia pode apresentar melhora temporária com o uso de andrógenos e até prolongar a sobrevida em 50% dos pacientes. Os andrógenos estimulam a produção de células sanguíneas durante um período determinado. No entanto, deve-se ressaltar que o andrógeno não tem a capacidade de curar a AF e possui efeitos adversos como aparecimento de tumores hepáticos, além de influenciar negativamente no sucesso do TMO (ZANIS NETO, 1999; ALTER e LIPTON, 2002).

Algumas vezes são associados corticosteróides aos andrógenos a fim de aumentar o nível de reticulócitos e hemoglobina e melhorar também a fragilidade capilar (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003).

Os fatores de crescimento hematopoiéticos têm sido utilizados para estimular a produção de células hematopoiéticas. São administrados quando a resposta aos andrógenos não é suficiente para manter uma boa situação hematológica melhorando a neutropenia. Para que as citocinas sejam eficazes, requer-se uma hematopoiese residual a fim de que estas possam atuar sobre a série branca. Existem três tipos de fatores de crescimento hematopoiético: G-CSF (Fator estimulante de colônias granulocíticas), GM-CSF (Fator estimulante de colônias grânulo-monocíticas) e a eritropoítina (EPO). Os dois primeiros possuem a função de produzir e maturar os neutrófilos e o terceiro é um estimulante da série vermelha. Estes fatores de crescimento apresentam efeitos colaterais como cefaléia, mal estar, mialgia, náusea e ainda aumenta risco para o desenvolvimento de síndrome mielodisplásica ou leucemia (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003).

O tratamento para as neoplasias malignas decorrentes da anemia de Fanconi utilizando a radioterapia e a quimioterapia apresenta inúmeros efeitos adversos como mielossupressão, trombocitopenia, radiodermite, estenose traqueo-esofagiana, entre outras (KUTLER et al., 2003a).

2.1.10 Prognóstico

O prognóstico da AF é desfavorável, pois além de ser uma doença de origem genética, trata-se de uma anemia refratária com pancitopenia progressiva e evolução para a anemia aplásica. Sendo assim, o indivíduo fica vulnerável a desenvolver infecções oportunistas e torna-se suscetível a alterações patológicas inerentes ao quadro hematológico (petéquias, fadiga, hemorragia, sepses, acidente vascular cerebral hemorrágico, entre outras). Além disso, há uma suscetibilidade aumentada ao desenvolvimento de neoplasias hematológicas e/ou não hematológicas. A morbidez e a mortalidade precoce é um traço marcante desta doença (KERVILER et al., 2000; ALTER e LIPTON, 2002; KUTLER et al., 2003a; ROSENBERG, GREENE, ALTER, 2003).

2.2 GLÂNDULAS SALIVARES E SALIVA

2.2.1 Histórico

A produção de saliva e seu controle foram objeto de curiosidade e estudo desde a Antigüidade. No *Herbário Assírio de Assurbanipal*, em 2000 a.C., já se fazia menção ao fluxo salivar na boca e à sua redução pelo uso da "*beladona*" ou atropina. *Hipócrates* demonstrou a existência do ducto parotídeo, confundindo-o com um tronco nervoso, sem relacioná-lo com a glândula parótida. No século XVII, *Thomas Wharton* identificou o ducto da glândula submandibular; *Niels Stensen*, descreveu o ducto da glândula parótida no carneiro, sem fazer correlação da sua descoberta para o homem, a qual foi realizada pouco mais tarde por *Antônio Maria Vasalva* (APRIGLIANO FILHO, 2000).

2.2.2 Histologia

As glândulas salivares constituem um grupo de glândulas exócrinas maiores e menores, constituídas por elementos parenquimatosos e revestidas e suportadas por tecido conjuntivo fibroso, as quais vertem seus produtos de secreção para a boca. O estroma de tecido conjuntivo é rico em vasos sangüíneos, linfáticos e nervos (TEN CATE, 2001).

O componente parenquimatoso é composto pelas células serosas, mucosas ou ainda a combinação de ambas. Cada tipo celular produz um diferente tipo de secreção. As células serosas secretam principalmente proteínas e pequenas quantidades de carboidratos. Suas secreções também contêm grânulos de zimogênio, precursores da enzima amilase. A secreção serosa tem consistência aquosa. As células mucosas são ricas em carboidratos e pobres em proteínas, liberam um produto viscoso chamado de mucina (AVERY, 2000).

2.2.3 A Saliva Total: Composição e Funções

A produção e a excreção de saliva ocorre efetivamente após o nascimento, quando há completa maturação funcional dos ductos excretores sob o estímulo da alimentação (APRIGLIANO FILHO, 2000). A saliva total é a combinação dos produtos aquosos de secreção das glândulas salivares maiores e menores, compostos orgânicos (proteínas e enzimas) e inorgânicos (íons e sais minerais), restos alimentares, microorganismos, produtos do metabolismo bacteriano, células que descamam do epitélio bucal, muco da cavidade nasal, faringe e fluido transudato da mucosa e exsudato dos sulcos gengivais (ERICSON, MAKINEN, 1988; EPSTEIN, SCULLY, 1992; DOUGLAS, 1998).

A composição média da saliva não estimulada é formada por 99,4% de água e 0,6% de componentes sólidos, enquanto a saliva estimulada é composta por 99,5% de água e 0,5% de elementos sólidos (WHELTON, 1996). Seus constituintes variam de acordo com o fluxo, natureza da estimulação, duração, composição do plasma, a hora do dia na qual as amostras são coletadas (NEWBRUN, 1988).

Os componentes inorgânicos da saliva são representados pelo cloreto, bicarbonato, cloro, fosfato, iodeto, brometo, fluoreto, sódio, potássio e cálcio (DOUGLAS, 1998). Enquanto que proteínas, enzimas, lipídios, proteínas, amilase, imunoglobulinas, lisozima e lactoferrina constituem os constituintes orgânicos (ERICSON e MAKINEN, 1988).

Múltiplas funções são atribuídas à saliva, tais como: preparação do bolo alimentar, umedecimento das mucosas bucais, ação solvente e de limpeza, excretora, digestiva, controladora do balanço hidro-eletrolítico, proteção e remineralizante nos dentes (DOUGLAS, 1998).

2.2.4 A Saliva como Recurso Diagnóstico

A saliva é um fluido único, inigualável e, por isso, é interessante como um método de diagnóstico que avançou exponencialmente nos últimos 10 anos. A

literatura contém mais de 2000 artigos a respeito de testes salivares que são realizados desde 1982 descrevendo o uso de saliva total a fim de monitorar doenças sistêmicas e bucais (STREKFUS e BIGLER, 2002).

Os avanços tecnológicos têm propiciado o uso da saliva como um fluido diagnóstico. Por meio do exame salivar é possível: detectar microorganismos bucais, substâncias químicas presentes no organismo dos indivíduos e marcadores imunológicos. Existe um modelo hierárquico para avaliar a efetividade dos métodos diagnósticos que consistem em cinco níveis básicos 1. Analítico (precisão e acurácia); 2. Diagnóstico (sensibilidade e especificidade); 3. Resultado eficaz (decisão médica); 4. Operacional (valor de predictivo e eficiência); 5. Análise do custo benefício com relação a precisão de resultado no manejo do paciente; 6. Avaliação do custo/benefício dos resultados fornecidos pelos exames. Estes parâmetros têm como objetivo reduzir a morbidez e mortalidade, da população doente ou sintomática (STREKFUS e BIGLER, 2002).

As vantagens principais em utilizar o fluido salivar para o diagnóstico no lugar do sangue são o acesso fácil e pelo fato da coleta não ser invasivo. A análise bioquímica da saliva assim como os exames hematológicos têm dois objetivos principais: o primeiro, identificar os indivíduos portadores de doença e o segundo, avaliar o prognóstico da doença no decorrer do tratamento (SLAVKIN, 1998). Principalmente porque se sabe da inter-relação existente entre o soro sangüíneo e as concentrações dos componentes salivares (DOUGLAS, 1999).

NOKES et al. 2001 avaliaram a idoneidade dos exames complementares utilizando amostras de saliva a fim de determinar a prevalência da imunidade e infecções através da avaliação de sangue em comparação com a saliva, a amostra foi composta de 853 indivíduos de todas as idades pertencentes a uma comunidade rural da Etiópia. Os autores detectaram anticorpos específicos para o sarampo (*Paramyxovirus*) e a rubéola (*togavirus*) com captura de IgG por meio de imunoensaio. De acordo com os resultados encontrados, os autores crêem que a saliva possa substituir o soro nos estudos de prevalência de anticorpos IgG.

Vários estudos utilizando a sialometria e a sialoquímica de doenças sistêmicas têm sido realizados e serão descritos a seguir. Em 1984, STUCHELL, MANDEL, BAURMASH usaram sialometria e sialoquímica em pacientes portadores da Síndrome de Sjögren (SS) e concluíram que a sialoquímica é um método valioso de diagnóstico da doença, além de servir para acompanhamento longitudinal dos pacientes. Os portadores da SS apresentaram maior concentração de sódio, cloro, proteínas totais, imunoglobulina G, imunoglobulina A, lactoferrina e albúmina e menores concentrações de fosfato e amilase. A velocidade do fluxo salivar apresentou-se diminuída nos portadores da SS.

KALK et al. (2001) avaliaram a velocidade do fluxo salivar, as concentrações de sódio, potássio, cloreto, cálcio, fosfato, uréia, amilase e proteínas totais de 100 pacientes para estabelecer o diagnóstico da SS. Pacientes com SS diferiram claramente do grupo controle, apresentaram velocidade do fluxo e uma composição salivar alteradas. Para esses pesquisadores, a sialometria e a sialoquímica não só são ferramentas úteis por diferenciar a SS das outras doenças de natureza glandular na prática clínica, mas também têm grande potencial como critério diagnóstico.

As concentrações de nitrato e nitrito na saliva, no soro, e na urina foram avaliados em pacientes com deficiência orgânica salivar (SS e sialose) por XIA, DENG, WANG (2003). Os autores concluíram que a hipofunção das glândulas salivares está associada com mudanças significantes do nível de nitrato e nitrito na saliva e urina.

OBA et al. (2000) utilizaram o teste de imuno-ensaio em amostras de saliva total com a finalidade de detectar anticorpos anti-HAV, da classe IgA, IgM usando como padrão de comparação amostras de soro. Foram estudadas 43 amostras pareadas de saliva e de soro, colhidas de 24 crianças e de um adulto durante um surto de hepatite A, e de 18 funcionários do Instituto Adolfo Lutz. A concordância foi alta entre os resultados das amostras de saliva e soro na detecção dos anticorpos, indicando que amostras de saliva podem ser utilizadas no diagnóstico de infecção aguda pelo HAV e na seleção de indivíduos para vacinação contra este vírus para conter epidemias.

CANTO et al. (2000) realizaram um estudo utilizando a urina e a saliva para avaliar a prevalência de infecção pelo citomegalovírus (CMV) em 120 crianças de 1 a 15 anos de idade, com síndrome de Down, que freqüentavam uma instituição para atendimento de crianças portadoras de deficiência mental em São Paulo. Este estudo demonstrou que há uma alta taxa de excreção do CMV na urina e na saliva em crianças com síndrome de Down que freqüentam creches, e um alto risco de infecção por este vírus em crianças susceptíveis que freqüentam estas instituições. O isolamento viral mostrou-se mais sensível que a detecção de antígeno pp65 do CMV, tanto em amostras de urina quanto em amostras de saliva.

GANDARA et al. (1987) observaram as diferenças sialoquímicas de saliva total estimulada entre pacientes com líquen plano oral. Os autores avaliaram a velocidade do fluxo; as concentrações salivares de imunoglobulinas IgA e IgG, albumina, amilase, lisozima, lactoferrina, e proteínas totais. As concentrações dos componentes inorgânicos: sódio, potássio, cálcio, cloreto, e fosfato também foram mensurados. Não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimental e controle. Os autores concluíram que os achados não apoiam uma associação entre líquen plano oral e a deficiência orgânica salivar quando comparados os grupos dos saudáveis com os portadores do líquen plano.

LUNDGREN et al. (1996) mensuraram a velocidade do fluxo salivar e a composição salivar em um grupo de 16 indivíduos com Síndrome de *Papillon-Lefèvre* (PLS). Os resultados revelaram que a concentração de proteínas totais na saliva era mais elevada no grupo de estudo. Enquanto que as concentrações de imunoglobulinas e enzimas estavam dentro dos padrões de normalidade. Os autores concluíram que a secreção de água é prejudicada e a função da glândula salivar é pouco alterada nos indivíduos portadores da PLS.

ENBERG et al. (2001) observaram a velocidade do fluxo salivar, atividade de amilase, proteínas e concentrações de eletrólitos na saliva de consumidores agudos de álcool em comparação com um grupo controle. A velocidade do fluxo salivar estimulado diminuiu significativamente depois de consumo de álcool. A

atividade da amilase, proteínas totais, concentrações de sódio e cálcio diminuíram significativamente nos primeiros 45 minutos. Após os 60 minutos, a produção de todos os eletrólitos estudados diminuiu significativamente assim como concentração de álcool no sangue apresentou-se aumentada.

SOUZA, LEHN, DENARDIN (2003) determinaram as concentrações sérica e salivar de IgA em 34 indivíduos portadores de carcinoma epidermóide de boca e orofaringe em correlação com indivíduos saudáveis pareados em idade e sexo. Os investigadores não encontraram correlações entre a idade, estágio clínico da doença e níveis sérico ou salivar. Os indivíduos com câncer da boca e orofaringe apresentaram concentração sérica de IgA semelhante aos controles, mas com concentração de IgA salivar menor no grupo oncológico. Os autores acreditam que as causas associadas à diminuição de IgA salivar como desnutrição, estresse e uso de tabaco podem estar associadas a estes achados.

GONZÁLES et al. (1997) determinaram as concentrações de contaminação ambiental por metais pesados do chumbo, cádmio e cromo através da saliva total não estimulada e ainda, estabeleceram as possíveis associações com diferentes fatores socio-demográficos. O grupo investigado foi composto por 100 estudantes de pós-graduação da *Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México*. As amostras de saliva foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite. González et al., encontraram que os metais pesados como o chumbo, o cádmio, e o cromo se encontram em concentrações muito mais altas que as informadas na literatura (sendo as medianas de Pb = $3.10\mu\text{g/dL}^{-1}$; Cd = $0.25\mu\text{g/dL}^{-1}$; Cr = $1.43\mu\text{g/dL}^{-1}$). As variáveis como a região onde os indivíduos moravam, o sexo, a idade, a dieta não influenciaram nos níveis de chumbo e cromo. A concentração de cádmio e inversamente proporcional a idade.

WALTON et al. (2002) investigaram a relação da velocidade do fluxo salivar e a composição salivar com a prevalência de cárie dentária em pacientes com artrite juvenil idiopática. Os resultados deste estudo sugerem que a baixa velocidade do fluxo salivar e a resposta à estimulação nesses pacientes podem contribuir para esta prevalência de cárie mais elevada nesta população.

MOURA (2004) avaliou a velocidade do fluxo salivar e realizou uma análise sialoquímica em pacientes portadores da síndrome do ardor bucal. O autor observou redução da velocidade do fluxo salivar e alterações significativas dos níveis de cloreto, fósforo, potássio, ferro, glicose e proteínas totais.

Como se pode observar a utilização da saliva como um recurso diagnóstico tem sido amplamente utilizado, sendo um método fidedigno na quantificação e qualificação dos componentes salivares, tanto na Odontologia como na Otorrinolaringologia como confirmado os estudos de BANDERAS-TARABAY et al. (1997); NOKES et al. (2001); PUPO et al. (2002); STREECKFUS, BIGLER (2002); SOUZA, LEHN, DENARDIN (2003); XIA, DENG, WANG (2003) e MOURA (2004).

2.2.5 Mecanismos de Secreção Salivar

O processo secretório inicia no ácino e consiste em um fluido de água, íons, pequenas moléculas e substâncias sintetizadas pelas células acinares. Contudo, as moléculas de glicose, uréia e certos aminoácidos podem difundir livremente, seguindo o gradiente hidrostático com os capilares sangüíneos. A excreção do sódio e cloreto na saliva ocorre por mecanismo ativo (DOUGLAS, 1998).

O volume de saliva secretada em condições de repouso é de aproximadamente 1 mL/min, totalizando diariamente um volume de 1000 a 1500 mL/dia. Em condições de repouso, as glândulas salivares secretam 1,0mL/min, dos quais 70% é representada pela secreção da glândula submandibular (DOUGLAS,1998).

A secreção salivar é controlada pelo centro salivar no cérebro, e o fluxo é gerado pelo paladar. A função mastigatória é controlada por meio de receptores no periodonto e nos músculos da mastigação. A dor e a irritação bucal e faríngea podem também induzir a secreção (AVERY, 2000). Tanto o sistema simpático quanto o parassimpático participam na inervação de saliva. O sistema simpático adrenérgico estimula a contratilidade das células mioepiteliais, resultando na expulsão da saliva pré-formada e no aumento transitório do fluxo de saliva que sai pelos ductos excretorios das glândulas salivares, logo em seguida, o fluxo salivar começa a

diminuir. A segunda ação do simpático deve-se a redução do fluxo sanguíneo da glândula salivar produzida pela vasoconstricção simpática adrenérgica. O fluxo sanguíneo da glândula salivar é importante como fator modulador da função salivar, devendo a glândula salivar contar com um fluxo sanguíneo adequado para sua função secretora correspondente (DOUGLAS, 1998). Os impulsos parassimpáticos geralmente são responsáveis pela quantidade do fluido secretado, pela contração das células mioepiteliais e por parte da vasodilatação no local (BERNE e LEVY, 1993).

2.2.6 Fluxo Salivar

Segundo os critérios de KRASSE (1988) os valores de referência para velocidade do fluxo salivar são:

- Velocidade normal do fluxo salivar: 1 - 3 mL/min.
- Velocidade baixa do fluxo salivar: 0,7 - 0,9 mL/min.
- Hipossalivação: < 0,7 mL/min.¹

2.2.7 Fatores que Interferem na Secreção Salivar

2.2.7.1 Ciclo Circadiano

A quantidade e a composição da saliva não são constantes e estão relacionadas ao ritmo biológico circadiano. O fluxo salivar atinge seu pico no final da tarde e é praticamente nulo durante o sono. O ciclo circadiano é fator importante a ser considerado quando se pretende realizar estudos com a saliva (EDGAR e O'MULLANE, 1996).

A secreção salivar é menor à noite em relação à secreção diurna. Todavia, a concentração de proteínas é maior à tarde, enquanto que as concentrações de eletrólitos, tais como sódio e cloretos são nitidamente maiores pela manhã, enquanto

¹Adaptação segundo os conceitos atuais de xerostomia e hipossalivação (NEDERFORS, 2000). A citação original (KRASSE, 1988) cita o termo xerostomia como sinônimo de hipossalivação.

que o potássio é excretado pela saliva no crepúsculo. Os teores de cálcio e fosfato salivares são maiores à noite (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.2 Hidratação

O principal efeito que interfere na secreção salivar é o grau de hidratação do indivíduo. Quando o conteúdo de água do organismo está reduzido em apenas 8%, o fluxo salivar fica virtualmente reduzido a zero. Enquanto que num indivíduo que se encontra em estado de hiper hidratação, o fluxo salivar está aumentado (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.3 Duração do Estímulo

De acordo com o tempo de duração do estímulo pode haver variação no teor das substâncias da saliva. Caso a estimulação persista por muito tempo, a concentração das substâncias na saliva tendem a diminuir, mas dentre elas, o cálcio e as proteínas tendem a recuperar-se logo após cessado o estímulo (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.4 Fatores dietéticos

A qualidade da dieta pode interferir na composição salivar. Indivíduos que ingerem uma dieta rica em carboidratos, o conteúdo da amilase salivar torna-se mais alto que naqueles que se alimentam com dieta pobre em glicídios (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.5 Influência do exercício físico

O esforço físico contribui destacadamente para modificar a composição eletrolítica e osmolar, bem como o volume da salivar. O esforço muscular diminui o teor de sódio e cloreto, enquanto aumenta o potássio. Isto ocorre devido à ação da aldosterona do córtex da supra-renal que excita a reabsorção de sódio, substituindo-o por potássio na célula do ducto estriado intralobular. A reabsorção de água pura nas células estriadas é facilitada pela ação da arginina-vasopressina (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.6 Influência hormonal

A testosterona e a tiroxina aumentam a secreção salivar. O fluxo salivar também é aumentado durante a gestação e reduzido na menopausa (DOUGLAS, 1998).

2.2.7.7 Idade e sexo

O ápice da produção salivar ocorre entre os 6 e os 14 anos de idade, declinando a partir dos 20 até os 60 anos, quando a produção total é de cerca de 0,025 a 0,034 mL/min. (TOMMASI e LIMA, 2002). Entretanto, na literatura científica, há controvérsias com relação à interferência da idade em relação ao fluxo salivar, pois vários fatores secundários, tais como: a utilização de próteses, edentulismo total ou parcial, tonicidade muscular, uso de medicamentos, doenças inerentes aos pacientes geriátricos, colaboração do paciente em realizar a coleta da saliva interferem na velocidade do fluxo salivar e é imprescindível que sejam considerados quando se avalia epidemiologicamente a velocidade do fluxo salivar (VISSINK et al., 1988; PANKHURST et al., 1996; ATKINSON e WU, 1994).

GARCÍA-POLA et al. (1999) afirmam que a velocidade do fluxo de saliva total em repouso é menor em indivíduos idosos e que a saliva estimulada é semelhante à encontrada nos jovens. Isto foi comprovado devido ao potencial fisiológico da glândula parótida que não se deteriora com a idade, no entanto, há estudos a respeito de mudanças morfológicas atróficas ocorridas em função da idade, o volume celular parenquimatoso diminui em 25% e é substituído por tecido adiposo conectivo. As mudanças histológicas mais importantes são observadas nas glândulas submandibulares e sublinguais, com degeneração acinar progressiva, infiltração fibrosa e uma maior redução funcional.

2.2.7.8 Fármacos

A xerostomia é um sintoma relacionado a mais de 500 medicamentos, mas nem todos apresentam redução do fluxo salivar. A lista de medicamentos que reduzem a velocidade do fluxo salivar ultrapassa os 400 fármacos. As drogas com

maior potencial indutor de xerostomia são os antidepressivos tricíclicos, os antiparkinsonianos, as fenotiazinas, as benzodiazepinas, os anticolinérgicos, os antihipertensivos, os antihistamínicos, os antipsicóticos e os diuréticos (GARCÍA-POLA et al., 1999).

2.2.7.9 Doenças sistêmicas

STUCHELL, MANDEL, BAURMASH (1984); PANKHURST et al. (1996); EDGAR e O'MULLANE (1996); LÓPEZ et al. (2003) citaram síndrome de Sjögren primária, síndrome de Sjögren secundária, diabetes mellitus, sarcoidose, amiloidose, anorexia nervosa, depressão e ausência ou má formações das glândulas salivares como doenças sistêmicas que são capazes de induzir a redução do fluxo salivar podendo também ter como sintomatologia a xerostomia.

2.2.7.10 Radioterapia de cabeça e pescoço

LIMA (1999) avaliou pacientes irradiados na região de cabeça e pescoço a fim de verificar as alterações qualitativas e quantitativas da saliva. Seus achados revelaram que os efeitos da radiação sobre a saliva podem ser demonstrados após indivíduos receberem a dose de 15Gy. O fluxo salivar sofre uma redução significativa de 50% durante o tratamento (15 Gy) e diminuiu em cerca de 79% aos seis meses pós-tratamento.

2.2.8 Hipossalivação *versus* Xerostomia

NEDERFORS (2000) afirma que até os dias atuais nenhum consenso global foi alcançado a respeito das terminologias "xerostomia" e "hipossalivação", criando um problema substancial para a pesquisa, educação, diagnóstico e terapia porque muitas vezes a literatura não distingue hipossalivação de xerostomia. Esse autor, através de revisão de literatura, concluiu que diferentes aspectos da xerostomia, hipossalivação, e composição alterada da saliva, são revisados com relação a

prevalência, diagnóstico e etiologia, concluindo que estes aspectos da hipofunção das glândulas salivares são entidades separadas.

Apesar desta desarmonia com relação à nomenclatura, atualmente vários autores corroboram que a xerostomia e a hipossalivação são duas entidades distintas (LOCKER, 1995; FOX, 1998; FIELD et al., 1997; JENSEN e BARKVOLL 1998). A xerostomia é a sensação subjetiva com sintoma de boca seca, enquanto que a hipossalivação denota um decréscimo na velocidade do fluxo salivar (NAVAZESH et al., 1992; GARCÍA-POLA et al., 1999; NEDERFORS, 2000).

O diagnóstico da hipossalivação é feito por meio da mensuração do fluxo salivar que pode ser executado pelo método gravimétrico ou volumétrico (SREEBNY et al., 1992; TARZIA, 1996; GARCÍA-POLA et al., 1999)

LONGMAN et al. (2000) fizeram um estudo com o objetivo de comparar a queixa subjetiva de boca seca com o exame clínico em busca de sinais de secura bucal e a disfunção da glândula salivar por meio da sialometria. Oitenta e três por cento dos pacientes apresentaram um ou mais sintomas de disfunção bucal em associação com xerostomia; clinicamente 105 pacientes foram diagnosticados com secura bucal; 125 (58%) apresentara evidência de hipofunção salivar.

TORRES et al. (2002) realizaram um trabalho semelhante por meio do uso de questionário, anamnese, exame bucal e sialometria pelo método da saliva total estimulada utilizando os parâmetros volumétricos com base nos protocolos de SREEBNY et al. (1992) e TÁRZIA (1996). A hipossalivação foi diagnosticada quando os pacientes apresentavam fluxo salivar igual a 0,72 mL/min. Verificou-se que não houve correlação entre fluxo salivar e idade (a idade variou entre 16 e 82 anos). Os autores constataram que 72% dos indivíduos apresentavam hipossalivação.

2.2.9 Cálcio

2.2.9.1 Cálcio sistêmico

A manutenção da homeostase do cálcio é de fundamental importância do ponto de vista fisiológico, metabólico e estrutural. Sua participação na cascata de

coagulação, reações enzimáticas e na transmissão do impulso nervoso dá a dimensão de sua importância para que se mantenham níveis plasmáticos normais (RIELLA, 2003).

Dentro de um equilíbrio normal o cálcio é um importante cátion que o conteúdo corporal é de aproximadamente 1.200g. O nível sérico varia de 8,5 a 10,5 mg/dL e ele é estreitamente regulado com o magnésio e o fósforo. A maioria deste cátion corporal está ligada ao osso e o que não está ligado ao osso encontra-se ligado às proteínas plasmáticas ou ainda pode encontrar-se na forma ionizada, nesta forma desempenha funções metabólicas vitais. Ele é adquirido pela dieta, sendo a ingestão diária recomendada de 800 mg. As vias anormais de suprimento de cálcio incluem administração intravenosa ou hiperalimentação. O cálcio é mobilizado por meio de uma complexa via metabólica, envolvendo os sistemas endócrino, renal e gastrointestinal. Na forma ionizada, este íon é um co-fator enzimático para a coagulação sanguínea (PARADISO, 2001).

Os ossos representam o reservatório de cálcio do organismo (cerca de 99%), qualquer alteração da estrutura óssea mineralizada provoca uma diminuição ou aumento deste cátion no soro e conseqüentemente na urina, pela necessidade que o organismo tem de manter a normocalcemia e a homeostase. O cálcio sérico apresenta-se aumentado nas doenças osteolíticas de maneira geral e, particularmente no hiperparatiroidismo devida ação do paratormônio (GENOVESE, 1985).

2.2.9.2 Cálcio salivar

O cálcio salivar depende do fluxo salivar e é ativador de determinadas enzimas e atua na remineralização do esmalte (DOUGLAS, 1998). É encontrado sob a forma de um íon bivalente na saliva humana numa concentração que varia de 5 a 7 mg/100 mL. Ele é secretado juntamente com as proteínas de zimogênio dentro do lúmen do ácino, portanto sua concentração depende do fluxo salivar, no entanto, de acordo com o pH da saliva, o cálcio encontra-se sob duas formas: o cálcio ionizado e

o cálcio ligado. O cálcio ionizado é importante no processo da doença cárie, pois equilibra os fosfatos de cálcio do tecido dentário duro e seu líquido adjacente. A forma ligada do cálcio apresenta interações com macromoléculas, íons inorgânicos (especialmente fosfato inorgânico, bicarbonato e citrato). A sua função especial na homeostasia bucal está na dependência de algumas macromoléculas como a estaterina, histidina e prolina que são ricas em proteínas. Além disso, o cálcio é o principal co-fator da enzima amilase (TENOVUO e LAGERLÖF, 1995).

2.2.10 Uréia

2.2.10.1 Uréia sistêmica

A uréia é formada principalmente no fígado mediante a uma série de reações enzimáticas que consistem o ciclo da uréia por meio do qual a maior parte dos resíduos do metabolismo nitrogenado é transformado nesse produto de baixa toxicidade a ser eliminado pela urina: cerca de 32g de uréia por dia, na urina humana. A concentração normal no plasma ou no soro sanguíneo está entre 2,9 e 8,9 mmol/L ou 0,17-0,53 g/L (REY, 1999).

2.2.10.2 Uréia salivar

A uréia salivar é excretada especialmente pelo túbulo intralobular estriado das glândulas salivares (DOUGLAS, 1998). THYLSTRUP e FEJERSKOV (2001) citam que algumas bactérias bucais na presença de açúcar, vitaminas e sais minerais crescem com a presença de amônia, sendo sua única fonte de nitrogênio.

A maior parte da uréia é formada no fígado e, na presença de hepatopatia grave, o nível sanguíneo de uréia diminui, enquanto o da amônia aumenta (GANONG, 1998). Isto repercute no aumento da concentração da amônia salivar. É possível sugestionar que os portadores de AF apresentam hepatopatia grave (KUTLER et al., 2003b).

A uréia é um importante componente da saliva. Ela é clivada pelas bactérias bucais em amônia e dióxido de carbono, resultando em aumento do pH salivar. SUDDICK, HYDE, FELLER (1984) afirmam que a uréia tem um papel importante na bioquímica salivar, pois uma vez metabolizada pelas bactérias do biofilme, esta é capaz de neutralizar os ácidos produzidos.

SHAFER, HINE, LEVY (1987) citaram que a saliva de pessoas imunes à cárie apresenta um teor de amônia mais elevado do que a saliva das pessoas com cárie. Este fato sugere que a elevada concentração de amônia retarda a formação do biofilme e neutraliza o pH no local. A concentração média de uréia salivar é de aproximadamente 20 mg/100 mL na saliva em repouso e 13 mg/100 mL de saliva estimulada.

2.2.11 Proteínas Totais

2.2.11.1 Proteínas totais sistêmica

As proteínas totais representam aproximadamente 7% do volume plasmático e a maioria delas são sintetizadas no fígado. Se o cálcio no soro aumenta, fatalmente aumentará a quantidade de proteínas totais circulantes e o contrário também é verdadeiro (GENOVESE, 1995).

As proteínas exercem papéis fundamentais em, virtualmente, todos os processos biológicos. Sua importância pode ser exemplificada nas funções de catálise enzimática, transporte e armazenamento de determinados compostos orgânicos, movimento ordenado, sustentação mecânica, proteção imunológica, geração e transmissão de impulsos nervosos e controle do crescimento e da diferenciação (BAYNES e DOMINICZAK, 2000).

2.2.11.2 Proteínas totais salivares

As proteínas salivares são formadas basicamente nas células acinares e sua concentração variam de acordo com o fluxo da saliva. Na secreção da glândula

parótida detecta-se um teor de proteínas de 3,3 g/L, na glândula submandibular 1,2 g/L, na glândula sublingual 2,6 g/L. Entre elas são detectadas vários tipos de proteínas como proteínas séricas (IgG, IgM, IgA), enzimas salivares (amilase, lisozima, fosfatase ácida, lipase, peroxidase, glicoproteínas, mucoproteínas, lactoferrina, calicreína e histadina (DOUGLAS,1998).

Em 1997, BANDERAS-TARABAY et al. propuseram-se a avaliar o fluxo salivar e a concentração de proteínas na saliva total humana estimulada e não estimulada de uma amostra de 120 jovens saudáveis com idade mediana de 19 anos. Os sujeitos estudados revelaram uma média de fluxo salivar de saliva total não estimulada de $0,397 \pm 26$ e uma mediana de fluxo salivar de saliva total estimulada de $0,973 \pm 53$. A media da concentração de proteínas salivares da saliva total não estimulada foi de $1,374 \pm 45$ mg/mL e a media da concentração de proteínas salivares da saliva total estimulada foi de $1,526 \pm 44$ mg/mL. As mulheres apresentaram uma menor velocidade do fluxo salivar e uma maior concentração de proteínas totais. Não foram observadas correlações entre o fluxo salivar e a concentração de proteínas totais.

2.2.12 Amilase Salivar

A principal função da amilase salivar está relacionada a sua ação digestiva. Também é conhecida como ptialina, ela age sobre os polissacarídeos amido e glicogênio dos alimentos. Do resultado da ação da ptialina obtém-se 88% de maltose e 12% de glicose. Em condições normais, a glândula salivar contribui com 2/3 da isoamilase salivar no teor total da amilase sérica e 20% da urinária. Para a amilase salivar, o pH ótimo é levemente ácido 6,8, justamente o pH da saliva; mas para a amilase pancreática, o pH ótimo é alcalino, em torno de 8,0. A ptialina requer íons cloro e cálcio para sua ação enzimática (DOUGLAS, 1998).

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi avaliar se a Anemia de Fanconi é capaz de induzir alterações de natureza qualitativas e quantitativas na saliva dos indivíduos portadores desta doença.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Observar se a Anemia de Fanconi é capaz de induzir alterações na:

- Velocidade do fluxo de saliva total estimulada;
- Concentração do cálcio;
- Concentração da uréia;
- Concentração das proteínas totais;
- Concentração da amilase salivar.

4 METODOLOGIA

4.1 APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Este estudo foi iniciado após o protocolo de pesquisa ter sido submetido à apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Ciências e da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e está sob o registro de número 133 (Anexo 1).

4.2 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Foi realizado um estudo epidemiológico denominado de estudo de caso controle do paradigma quantitativo segundo a classificação de FREIRE e PATUSSI (2001).

4.2.1 Linha de Pesquisa

A linha de pesquisa é epidemiologia, diagnóstico e terapêutica.

4.3 POPULAÇÃO

A população que participou deste estudo constituiu-se de indivíduos brasileiros na faixa etária dos dois aos 31 anos de idade e de ambos os sexos.

4.4 AMOSTRA

Neste estudo foram avaliados 68 indivíduos que foram divididos em 2 grupos. O primeiro grupo, denominado de experimental foi composto de 34 indivíduos portadores de anemia de Fanconi – provenientes de diversos estados do Brasil e tratados no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Todos os indivíduos incluídos neste grupo foram previamente submetidos ao

diagnóstico por meio do exame das quebras cromossômicas dos linfócitos em culturas de sangue periférico quando expostos ao agente clastogênico diepoxibutano (DEB) para a confirmação da presença da doença, pela equipe médica no Hospital das Clínicas da UFPR.

Como critérios de seleção, foram incluídos neste grupo somente pacientes portadores de AF que não tivessem iniciado nenhuma terapêutica profilática, paliativa, medicamentosa ou curativa para a doença.

O segundo grupo, chamado de controle, foi constituído por 34 indivíduos saudáveis que foram pareados em sexo e idade. Esta coorte fazia tratamento odontológico na clínica de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

O tamanho da amostra foi fixado em, no mínimo, trinta indivíduos para cada grupo baseado no teorema central do limite, pois não se tinha as variâncias das variáveis em questão. O teorema central do limite considera 30 (tamanho mínimo), uma boa amostra para variável contínua (TRIOLA, 1999).

4.5 VARIÁVEIS INTERVENIENTES

Foram excluídos deste estudo, todo e qualquer indivíduo que:

- Estivesse tomando qualquer tipo de fármaco indutor de hipossalivação ou secretagogos.
- Tivesse iniciado qualquer terapêutica para a anemia de Fanconi.
- Tivesse sido submetido à transfusões sangüíneas.
- Fosse portador de qualquer doença sistêmica concomitante a anemia de Fanconi.
- Fosse portador de qualquer doença sistêmica (grupo controle).
- Estivesse incapacitado de se submeter a metodologia da coleta de saliva total pela técnica estabelecida.

4.6 MÉTODOS

Os indivíduos participantes e seus responsáveis legais (quando menor de idade) foram contatados, convidados quanto à possibilidade da participação no estudo sialométrico e sialoquímico. Após explicação completa e pormenorizada sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais de risco e o incômodo que a metodologia pode acarretar, os responsáveis legais e/ou o sujeito da pesquisa (quando competente e capaz) assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, autorizando a participação voluntária na pesquisa (Apêndice 1).

Todos os sujeitos da pesquisa foram submetidos a anamnese e a um exame clínico intrabucal e os dados colhidos foram anotados numa ficha clínica padrão (Apêndice 2). A seguir, era realizada a coleta de material.

4.7 COLETA DA SALIVA

As amostras de saliva total foram obtidas pelo método de coleta *Spitting* segundo a técnica preconizada por NAVAZESH (1992). Para a coleta da amostra, cada paciente sentou-se confortavelmente em uma cadeira comum (não odontológica) e, caso estivesse usando batom, o mesmo era removido.

O estímulo mastigatório empregado foi um pedaço de mangueira de látex (tipo garrote) estéril de tamanho padronizado de 1 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro preso a 20 cm de fio dental para evitar que o mesmo fosse deglutido pelo indivíduo (CHERUBINI, 1998). O paciente mastigou continuamente durante 6 minutos. O tempo padronizado foi controlado por meio de um cronômetro *CITIZEN*[®]. Toda a saliva produzida durante o primeiro minuto de estimulação foi desprezada sendo o indivíduo orientado a expelir ou deglutir a mesma. Durante os cinco minutos subseqüentes, o indivíduo continuava a mascar o látex e expelia toda a saliva produzida num frasco coletor universal estéril previamente numerado e pesado (figura 1).

FIGURA 1 - COLETOR UNIVERSAL E PEDAÇO DE MANGUEIRA DE LÁTEX TIPO GARROTE



FONTE: Foto do autor

Os frascos com as amostras de saliva foram hermeticamente fechados e foram acondicionados em um recipiente de isopor contendo gelo no seu interior e encaminhados imediatamente ao Laboratório de Bioquímica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná para a análise volumétrica. Após a pesagem, as amostras foram armazenadas e congeladas em *freezer* modelo *pratic 240*[®] da marca comercial *CONSUL*[®] para posterior avaliação bioquímica do material.

4.8 REQUISITOS PARA COLETA PADRONIZADA DA SALIVA TOTAL

Para que fosse realizada uma coleta da saliva total padronizada foram utilizados os seguintes requisitos (LIMA, 1999; FRANCO, 2004):

- Não ter ingerido nenhum tipo de alimento ou bebida (exceto água) durante o período de duas horas que antecedia a coleta.
- Não ter fumado.

- Não ter sido submetido a grande estresse físico antes da coleta.
- No momento da coleta o paciente deveria sentar-se em posição relaxada em uma cadeira comum (não odontológica) e de olhos abertos.
- O coletor universal de plástico deveria ser manuseado o mínimo possível durante o procedimento da coleta e para tal, o mesmo foi mantido envolvido com seu invólucro de plástico.
- Mastigar o pedaço de látex alternado-o entre os lados direito e esquerdo da boca durante o tempo determinado pelo pesquisador que fazia o controle do tempo da coleta.
- O indivíduo ficava livre para cuspir a saliva quando achasse conveniente durante o tempo padronizado da coleta.

4.9 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

4.9.1 Sialometria

O método gravimétrico foi escolhido para a análise sialométrica das amostras (BANDERAS-TARABAY et al., 1997). O mesmo tem como fundamento a diferença de peso do coletor universal após a coleta de saliva diminuído do peso do coletor universal vazio, tendo-se então, o peso da saliva expresso em gramas. Este valor é dividido pelo tempo estipulado para a coleta (5 minutos) tendo como resultado a velocidade do fluxo salivar expresso em mL/min. conforme a fórmula representada a seguir:

$$\frac{\text{Peso do coletor após a coleta (g)} - \text{Peso do coletor antes da coleta (g)}}{\text{Tempo (5 min.)}} = \text{Velocidade do fluxo salivar}$$

FONTE: Banderas-Tarabay et al., 1997

BANDERAS-TARABAY et al., (1997) cita que para cada 1 grama de peso de saliva corresponde a 1 mililitro de saliva produzida. A balança analítica MARTE[®] do Laboratório de Bioquímica da PUC-PR foi utilizada para avaliar esta variável (figura 2).

FIGURA 2 - BALANÇA ANALÍTICA MARTE



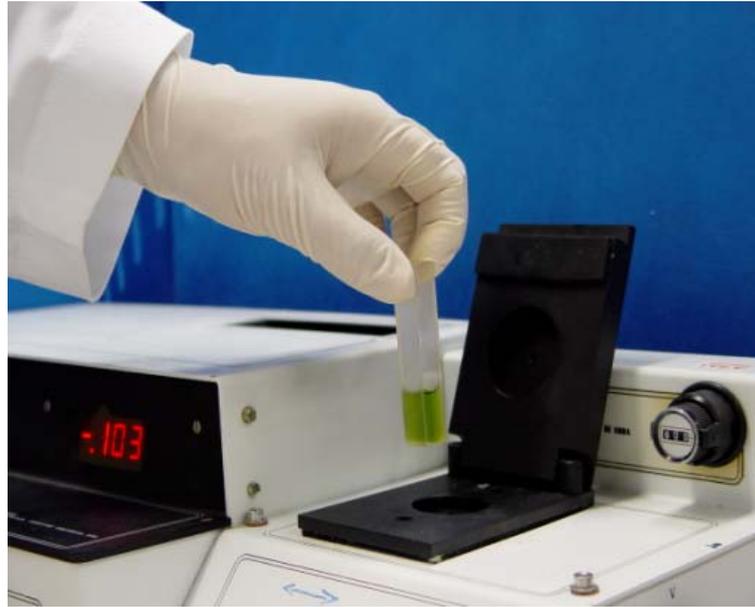
FONTE: Foto do autor

4.9.2 Avaliação Sialoquímica

Para a avaliação sialoquímica da saliva empregou-se o método de análise bioquímica do tipo colorimétrico enzimático utilizando o espectrofotômetro *Siel 500*® para a leitura (figura 3) e o kit comercial da *Labtest*® e *Winer lab*® (figura 4) seguindo as recomendações preconizadas pelo fabricante para preparo bioquímico das amostras. Os testes sialoquímicos foram realizados em triplicata para cada amostra de saliva. Este estudo analisou os seguintes constituintes salivares:

- Parte orgânica: proteínas totais, amilase e uréia.
- Parte inorgânica: cálcio.

FIGURA 3 - ESPECTROFOTÔMETRO S/EL 500® USADO NA LEITURA DA ABSORBÂNCIA



FONTE: Foto do autor

4.9.2.1 Cálcio

Para a quantificação de cálcio em mg/dL foi utilizado o método colorimétrico *CÁLCIO Liquiform – Labtest diagnóstica*® (figura 4): O cálcio salivar reage com a púrpura de ftaleína em meio alcalino, formando complexo de cor violeta que é medido em espectrofotômetro calibrado em 570 nm.

FIGURA 4 - KIT COMERCIAL CÁLCIO LIQUIFORM – LABTEST DIAGNÓSTICA ®



FONTE: Foto do autor

Para a determinação da concentração de cálcio salivar utilizou-se a fórmula descrita a seguir:

$$\text{Cálcio(mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância padrão}} = X \cdot 10$$

A absorvância é o termo utilizado para determinar a quantidade de luz absorvida pela solução analisada. Os termos absorvância da amostra e absorvância padrão refere-se respectivamente à quantidade de luz absorvida pela saliva e pelo reagente padrão após a adição da púrpura de ftaleína. Ambas as soluções desenvolvem coloração característica e a relação expressa pela fórmula permite calcular a concentração de cálcio salivar.

4.9.2.2 Proteínas Totais

Para a quantificação de proteínas totais em g/dL foi utilizado o método colorimétrico *PROTI 2* da *Winer lab.*[®]: As proteínas totais reagem com o íon cúprico, em meio alcalino, para se obter um complexo de cor lilás com máximo de absorvância a 540 nm (figura 5), cuja intensidade é proporcional à concentração de proteínas totais da amostra.

Os cálculos dos resultados devem seguir a fórmula descrita a seguir:

$$\text{Proteínas totais(g/dL)} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbância padrão}} = X \cdot \text{Concentração do padrão}$$

FIGURA 5 - REAÇÃO BIOQUÍMICA DAS PROTEÍNAS TOTAIS COM O ÍON CÚPRICO, EM MEIO ALCALINO OBTENDO UM COMPLEXO DE COR LILÁS



FONTE: Foto do autor

4.9.2.3 Uréia

Para a quantificação da uréia em mg/dL foi utilizado o método colorimétrico enzimático *URÉIA CE – Labtest diagnóstica*®. A uréia é hidrolisada pela urease a íons amônio e CO₂. Os íons amônio reagem em pH alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio, para formar azul de indofenol. A intensidade da cor formada é proporcional à quantidade de uréia na amostra e é medida em espectrofotômetro a 600 nm.

Para a realização dos cálculos seguiu-se a fórmula descrita a seguir:

$$\text{Uréia (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do amostra}}{\text{Absorbância padrão}} \times 70$$

4.9.2.4 Amilase salivar

Para a quantificação de amilase em un.am/dL foi utilizado o método enzimático colorimétrico *AMILASE – Labtest diagnóstica*® (figura 6). A amostra de saliva é incubada com um substrato de amido e a diminuição da cor azul, após a adição de

iodo, é comparada com um controle, sendo proporcional a atividade da amilase na amostra. A leitura da absorbância é realizada em espectrofotômetro a 650nm.

Para a realização dos cálculos seguiu-se a fórmula descrita a seguir:

$$\text{Unidades de amilase / dL} = \frac{A_p - A_a}{A_p} = X \cdot 800$$

Considera-se: A_p = Absorbância do padrão e A_a = Absorbância da amostra

FIGURA 6 - KIT COMERCIAL AMILASE - LABTEST DIAGNÓSTICA ®



FONTE: Foto do autor

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram digitados e tabulados no programa Excel for Windows 2000 e submetidos a análise descritiva e aos seguintes testes estatísticos:

- Teste de normalidade de *Kolmogov-Smirnov*.
- Teste t de *Student*.
- Teste de *Levene* para a Igualdade das variâncias.
- Teste de *Mann-Whitney*.
- Coeficiente de correlação de *Spearman*.

5 RESULTADOS

5.1 SUJEITOS DA PESQUISA

Neste estudo foram avaliadas e coletadas as amostras de saliva total estimulada de 34 pacientes antes de serem submetidos ao transplante de medula óssea e que não haviam sido submetidos a nenhuma outra modalidade terapêutica (grupo experimental). A média de idade destes indivíduos foi de 10.6 ± 1.1 anos e os valores da idade mínima e máxima, 2 e 31 anos, respectivamente. Com relação a variável sexo, 25 indivíduos eram do sexo feminino e 9 do sexo masculino.

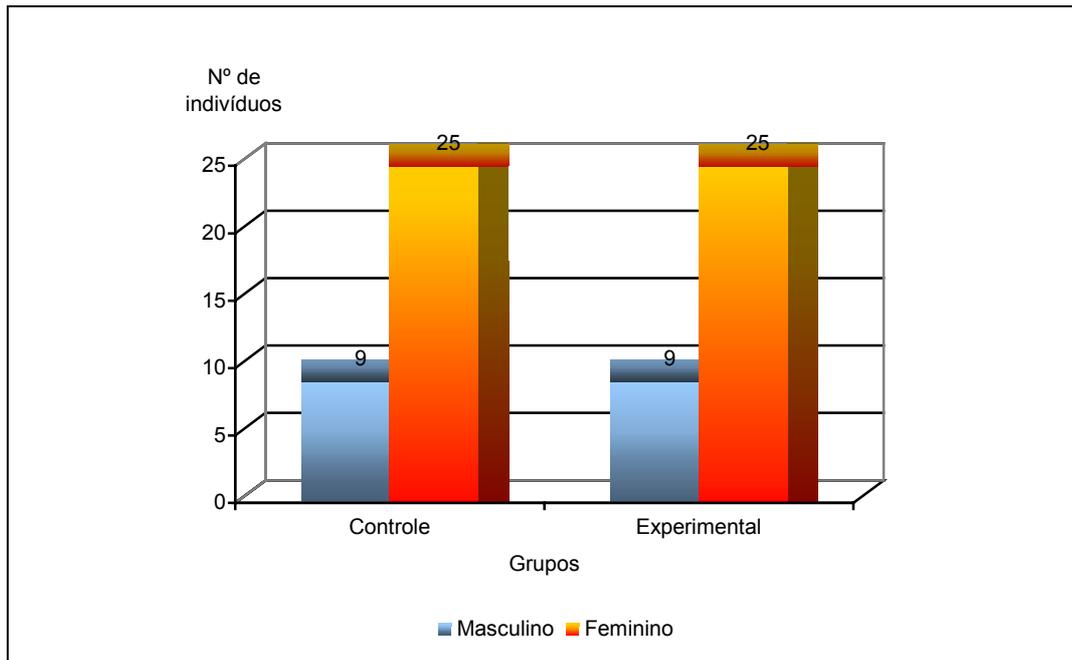
O grupo controle foi composto por 34 indivíduos saudáveis, pareados em sexo e idade com os indivíduos do grupo experimental para se ter uma amostra dependente a fim de reduzir a variabilidade entre os grupos e aumentar o intervalo de confiança. A tabela 1 apresenta os valores da idade mínima, máxima, média e mediana para a variável idade segundo os grupos avaliados e a figura 7 representa a distribuição dos valores para a variável sexo.

TABELA 1 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA IDADE, SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	IDADE				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	34	2	31	10,6	8	6,71	63,3	8,33	13,01
Controle	34	2	31	10,6	8	6,71	63,3	8,33	13,01

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS SEGUNDO SEXO - CURITIBA - PARANÁ - 2004



FONTE: Dados da pesquisa

5.2 VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA

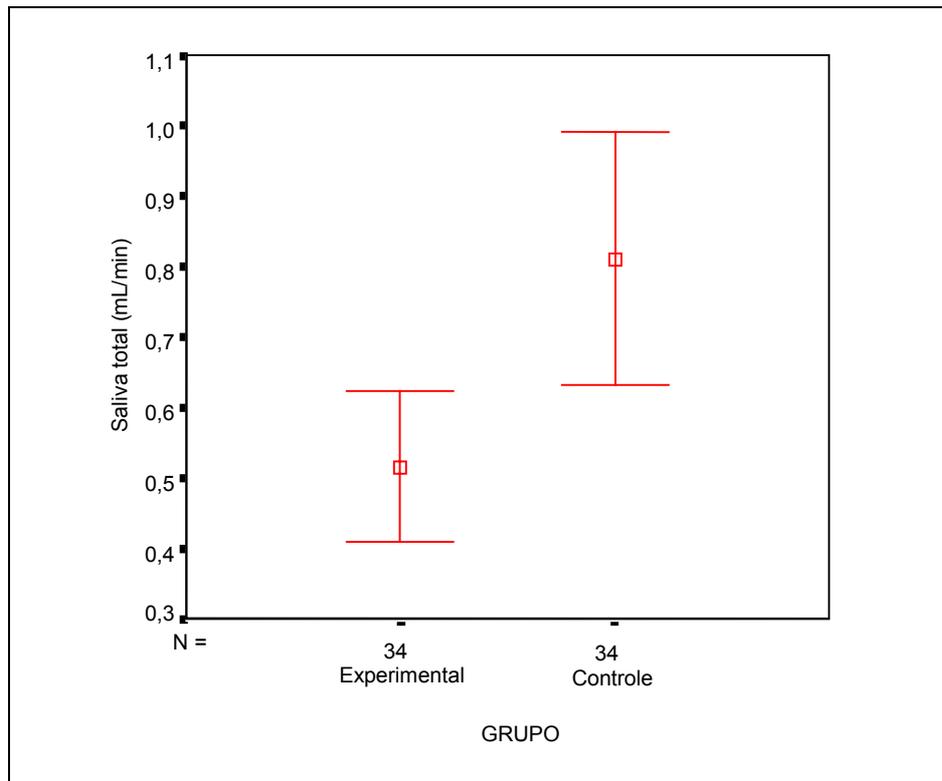
A tabela 2 apresenta os valores mínimo, máximo, da média e mediana para a variável velocidade do fluxo de saliva total estimulada para os grupos experimental e controle e a figura 8 apresenta a dispersão dos valores desta variável sob a forma de gráfico. Nelas, pode-se observar que os pacientes portadores da anemia de Fanconi apresentam uma velocidade do fluxo de saliva total estimulada inferior quando comparadas aos indivíduos saudáveis.

TABELA 2 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA (VFSTE), SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	VFSTE (mL/min.)				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	34	0,03	1,3	0,5	0,4	0,31	62	0,4	0,62
Controle	34	0,1	2,1	0,8	0,7	0,51	63,75	0,63	0,99

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA VELOCIDADE DO FLUXO DE SALIVA TOTAL ESTIMULADA SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004



FONTE: Dados da pesquisa

5.3 ANÁLISE SIALOQUÍMICA

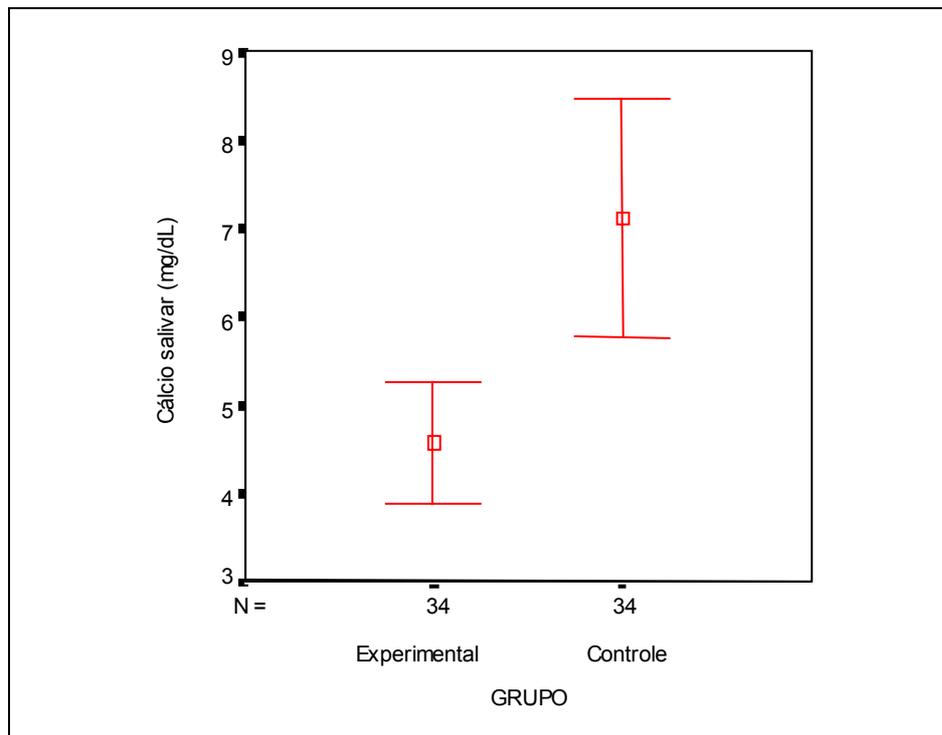
Os valores mínimos, máximos, medianos e da média para a concentração do cálcio, uréia, proteínas totais e amilase presente na saliva total estimulada dos indivíduos portadores da anemia de Fanconi e dos saudáveis encontram-se descritos nas tabelas 3 a 6 e a dispersão dos referidos dados disposta nas figuras 9 a 12, respectivamente. Os resultados revelaram que a concentração do cálcio, uréia e proteínas totais na saliva dos pacientes portadores da anemia de Fanconi foi mais baixa quando comparada aos valores dos indivíduos saudáveis.

TABELA 3 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DO CÁLCIO NA SALIVA TOTAL ESTIMULADA SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	CÁLCIO (mg/dL)				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	34	0	9,02	4,5	4,32	1,99	44,22	3,87	5,26
Controle	34	0	17,13	7,1	6,67	3,87	54,5	7,1	5,75

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DO CÁLCIO SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004



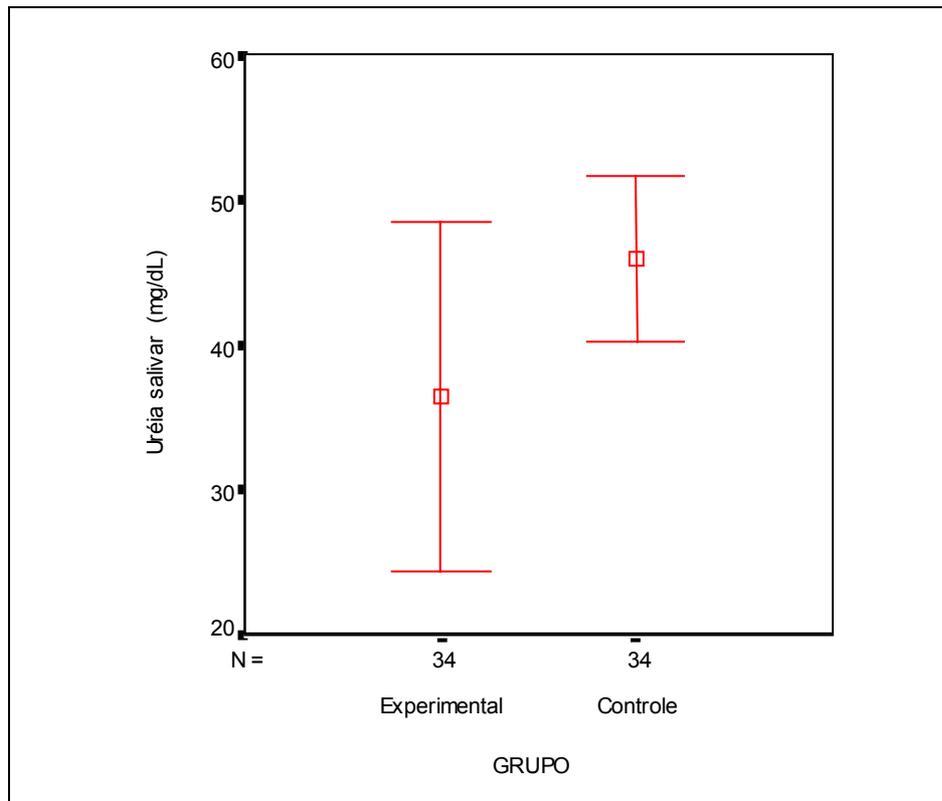
FONTE: Dados da pesquisa

TABELA 4 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE URÉIA SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	URÉIA (mg/dL)				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	34	0	21,15	36,4	26,96	34,58	95	24,34	48,47
Controle	34	81,93	162,45	45,9	42	16,5	35,9	40,18	51,69

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DA URÉIA SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004



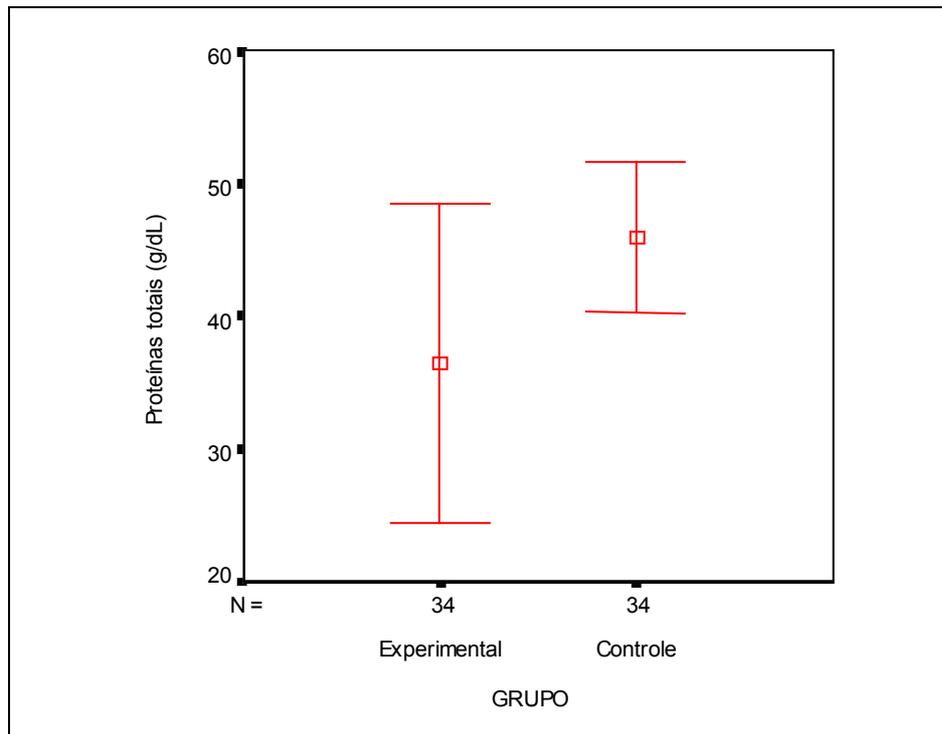
FONTE: Dados da pesquisa

TABELA 5 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS SALIVARES SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	PROTEÍNAS TOTAIS SALIVARES (g/dL)				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	34	0	1,11	0,33	0,31	0,28	84,84	0,23	0,43
Controle	34	0	1,364	0,4	0,41	0,33	82,5	0,33	0,56

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS TOTAIS SALIVARES SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004



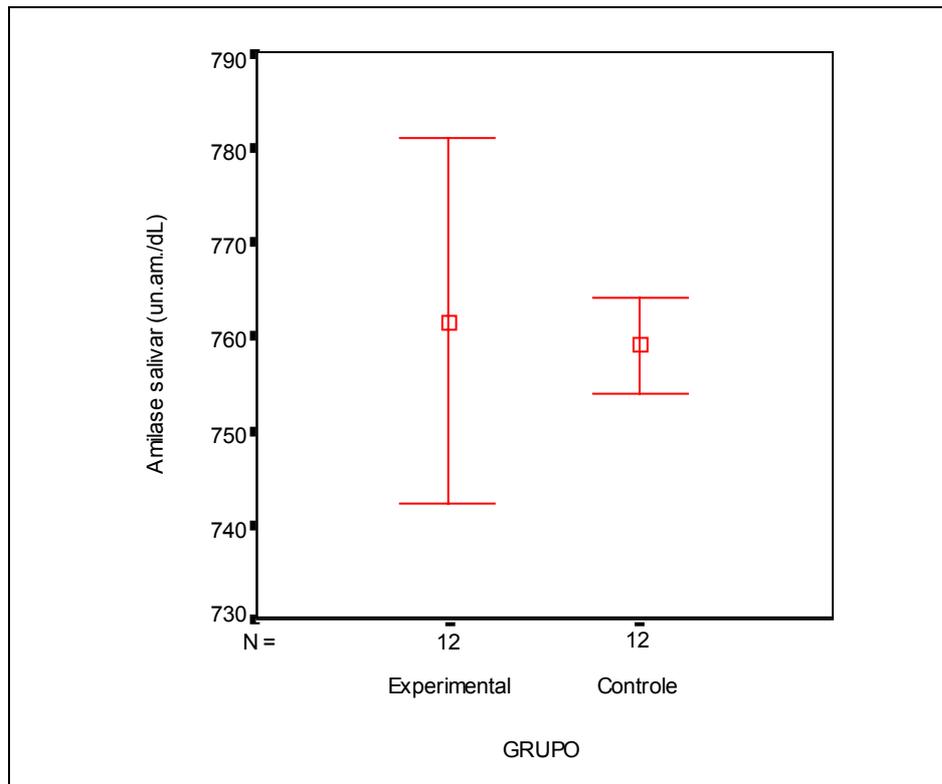
FONTE: Dados da pesquisa

TABELA 6 - ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA CONCENTRAÇÃO DE AMILASE SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS EXPERIMENTAL E CONTROLE - CURITIBA - PARANÁ - 2004

GRUPO	N	AMILASE SALIVAR (un.am./dL.)				DESVIO PADRÃO	C.V. (%)	INTERVALO DE CONFIANÇA (95%)	
		Mínima	Máxima	Média	Mediana			Mínimo	Máximo
Experimental	12	680,9	796,6	761,5	759,8	30,64	4,02	742,12	753,9
Controle	12	745,6	771,5	759	761,6	8,02	1,05	781,06	764,1

FONTE: Dados da pesquisa

FIGURA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DA CONCENTRAÇÃO DA AMILASE SALIVAR SEGUNDO OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004



FONTE: Dados da pesquisa

Foi realizado o teste de normalidade de *Kolmogov-Smirnov* em função das variáveis: velocidade do fluxo de saliva total estimulada e concentração salivar de cálcio, uréia, proteínas totais e amilase. O teste acusou normalidade dos dados entre os grupos experimental e controle para as variáveis velocidade do fluxo de saliva total e concentração de cálcio salivar a um nível de probabilidade de $p \leq 0,05$.

Os resultados do teste "*t*" de *student* comprovam diferença estatística significativa para as variáveis: velocidade do fluxo de saliva total estimulada e na concentração de cálcio salivar, como pode ser observado na tabela 7.

TABELA 7 - VALORES DA AMOSTRA, MÉDIA E VALOR DE P PARA O TESTE "T" DE STUDENT SEGUNDO AS VARIÁVEIS E OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	VALOR P
VFSE	Experimental	34	0,515764706	⁽¹⁾ 0,02399068
	Controle	34	0,810382353	
Cálcio	Experimental	34	4,570029412	⁽¹⁾ 0,001681838
	Controle	34	7,109705882	
Uréia	Experimental	34	36,40852941	⁽²⁾ 0,010999078
	Controle	34	45,94029412	
Proteínas totais	Experimental	34	0,334735294	⁽²⁾ 0,286840966
	Controle	34	0,449705882	
Amilase	Experimental	12	761,5916667	⁽²⁾ 0,071924749
	Controle	12	759,0025	

FONTE: Dados da pesquisa

(1) Diferença estatisticamente significativa - $p \leq 0,05$.

(2) Diferença não significativa.

O teste de *Mann-Whitney* foi aplicado para todas as variáveis a fim de avaliar a igualdade das medianas, sendo que o principal objetivo era confirmar o resultado obtido pelo teste "t" de student que não apresentaram distribuição normal. Para as cinco variáveis analisadas, tanto o teste "t" de student quanto o teste não paramétrico conduziram a uma mesma conclusão, ou seja, existe diferença estatística significante entre os valores médios da VFSTE, concentração de cálcio e concentração de uréia e não existe diferença estatisticamente significante entre as concentrações de proteínas totais e amilase (tabela 8).

TABELA 8 - VALORES DA AMOSTRA, MÉDIA E VALOR DE P PARA O TESTE DE MANN-WHITNEY SEGUNDO AS VARIÁVEIS E OS GRUPOS - CURITIBA - PARANÁ - 2004

VARIÁVEL	GRUPO	N	MÉDIA	VALOR P
VFSE	Experimental	34	0,515764706	⁽¹⁾ 0,01416
	Controle	34	0,810382353	
Cálcio	Experimental	34	4,570029412	⁽¹⁾ 0,00282
	Controle	34	7,109705882	
Uréia	Experimental	34	36,40852941	⁽¹⁾ 0,00821
	Controle	34	45,94029412	
Proteínas Totais	Experimental	34	0,334735294	⁽²⁾ 0,15214
	Controle	34	0,449705882	
Amilase	Experimental	12	761,5916667	⁽²⁾ 0,600707393
	Controle	12	759,0025	

FONTE: Dados da pesquisa

(1) Diferença estatisticamente significativa - $p \leq 0,05$.

(2) Diferença não significativa.

A literatura científica revela que a concentração dos componentes orgânicos e inorgânicos dissolvidos na saliva total está diretamente relacionada com a velocidade do fluxo salivar (DOUGLAS,1998). Sendo assim, aplicou-se o Coeficiente de correlação de *Spearman* com o objetivo de observar a correlação entre a variável velocidade do fluxo de saliva total estimulada e as concentrações de cálcio, uréia, proteínas totais e amilase. Os resultados deste teste revelaram não haver correlação entre as variáveis estudadas.

6 DISCUSSÃO

A AF é uma síndrome genética que apresenta múltiplas e heterogêneas anormalidades congênitas, que podem afetar qualquer órgão ou sistema e que se expressam de forma única ou concomitantemente e com variada penetrância (GIAMPIETRO et al., 1993; JOENJE e PATEL, 2001). As glândulas salivares fazem parte do sistema disgetório e, de acordo com os achados de DOKAL (2000), as alterações clínicas congênitas associadas a este sistema podem manifestar-se em 14% dos pacientes com AF. Além disso, até o presente momento, a literatura científica só dispõe de um único estudo envolvendo a investigação da velocidade do fluxo salivar e da capacidade tampão em indivíduos com a AF (YALMAN et al., 2001). Desta forma, justifica-se a análise dos componentes orgânicos e inorgânicos da saliva para entender se a AF é capaz de interferir também no funcionamento das glândulas salivares e trazer alguma repercussão bucal.

Todas as anormalidades promovidas pela AF podem ser explicadas pelo dano que ocorre nas células durante o período da vida fetal entre a sexta e a oitava semana de vida intra-uterina conforme determinado por ALTHOFF apud ZANIS NETO (1999). Tal período coincide com a época da formação das glândulas salivares e, desta maneira, tais estruturas anatômicas importantes poderiam também ser alvo de alterações induzidas pela doença. De acordo com APRIGLIANO FILHO (2000), o primórdio da glândula submandibular já é percebido no embrião na sexta semana de desenvolvimento; o da parótida a partir da sétima semana e o da sublingual a partir da nona semana. Próximo ao terceiro mês de desenvolvimento embrionário estas glândulas já atingiram seus locais anatômicos definitivos. A diferenciação do tecido de cada glândula ocorre em vários e diferentes estágios, ficando completa em torno do oitavo mês de gestação.

De acordo com os resultados encontrados nesta pesquisa, observou-se que houve uma diminuição significativa na velocidade do fluxo de saliva total estimulada nos indivíduos portadores da AF. Este resultado corrobora os achados de YALMAN et al. (2001) que também observaram valores baixos para a velocidade do fluxo salivar em pacientes com AF.

Ao se levar em consideração os valores preconizados por KRASSE (1988) para a velocidade do fluxo salivar, notou-se que somente os indivíduos do grupo controle apresentaram valores em níveis aceitáveis. O mesmo resultado não foi observado no grupo experimental, onde a média encontrada para esta variável caracterizava um quadro de hipossalivação presente. Apesar da velocidade do fluxo salivar estar reduzida nos indivíduos portadores da AF, nenhum paciente examinado relatou sensação de boca seca diariamente, nem mesmo disgeusia, disfonia, ingestão freqüente de líquidos ou sede excessiva. Durante o exame clínico intrabucal, nenhum indivíduo apresentou indícios clínicos de secura bucal na região dos lábios e mucosa ressecada ou, ainda, ausência de saliva produzida após a estimulação por ordenha das glândulas salivares. Para avaliar se a mucosa bucal dos pacientes estava bem lubrificada foi empregado o teste clínico do espelho odontológico proposto por LAMEY e LEWIS (1990). Este recurso objetiva comprovar se os indivíduos apresentavam sinais clínicos de hipossalivação na mucosa bucal. No entanto, os resultados demonstraram que a mucosa dos pacientes com AF estava com a sua lubrificação normal embora a sialometria tenha revelado que a velocidade do fluxo salivar estivesse baixa.

Quando se trabalha com saliva, tem que se levar em consideração uma série de aspectos ou fatores que podem influenciar de forma positiva ou negativa na sua produção. Em cronobiologia, os denominados ciclos circadiano e circannual são fatores reconhecidamente capazes de induzir alterações significativas na produção da saliva humana (EDGAR e O'MULLANE, 1996; DOUGLAS, 1998).

O atendimento dos pacientes portadores da AF no hospital das clínicas da UFPR era realizado somente em um único dia da semana e a maioria dos pacientes

era procedente de diversos estados brasileiros, pois este hospital é o centro de referência para o tratamento desta doença. Os pacientes que recebem atendimento passam por vários departamentos do hospital, tais como: assistência social, exame médico, exames hematológicos, e ainda pelos cuidados de cirurgiões-dentistas. A frequência de visitas ao hospital de cada paciente era variada, podendo ser semanal, mensal, anual ou esporádica. Sendo assim, não foi possível estabelecer um horário padrão para a coleta da saliva. Logo, os resultados obtidos para o grupo experimental podem ter sofrido interferências dos ciclos circadiano e circanual em virtude da indisponibilidade de se coletar as amostras de saliva dos pacientes num horário padronizado. No entanto, vale ressaltar que nenhuma das amostras foi coletada no final da tarde, em que o fluxo salivar atinge seu pico e nem à noite, em que há uma redução significativa do mesmo (EDGAR e O'MULLANE, 1996).

Outro fator que pode justificar os baixos valores encontrados para a velocidade do fluxo salivar é o grau de ansiedade do indivíduo (DOUGLAS, 1998). Como a maioria dos pacientes participantes desta pesquisa era constituída por crianças, o contato com um novo profissional de saúde e num ambiente fora do âmbito hospitalar para a coleta das amostras de saliva total pode ter gerado algum grau de ansiedade que refletiu na diminuição dos valores para esta variável.

Ainda de acordo com DOUGLAS (1998), a qualidade da dieta do indivíduo pode interferir na composição salivar. Os pacientes portadores da AF não possuem restrições quanto à dieta e nem mesmo fazem uso de algum tipo de dieta especial, logo, este fator não poderia ser considerado como capaz de produzir as alterações observadas nos componentes e na velocidade do fluxo salivar.

WAJNRAJCH et al. (2001) afirmam que 81% dos pacientes com a AF apresentam anormalidades endócrinas. Segundo DOUGLAS (1998), a testosterona e a tiroxina aumentam a secreção salivar. Sendo assim, as alterações hormonais podem ser consideradas como um fator representativo para alterações da velocidade do fluxo salivar. Entretanto, como não se dispunha destes dados nos

prontuários dos pacientes não foi possível realizar algum tipo de correlação entre estas variáveis.

Atualmente, se sabe que um número grande de medicamentos, principalmente aqueles de ação sobre o sistema nervoso central é capaz de alterar a secreção salivar (GARCÍA-POLA et al., 1999). Para evitar que os fármacos influenciassem na velocidade do fluxo salivar e na composição da saliva, as amostras salivares analisadas neste estudo foram obtidas de indivíduos portadores de AF que não haviam iniciado nenhum tipo de terapêutica. Tal fato não foi levado em consideração na sialometria realizada por YALMAN et al. (2001) que trabalharam com pacientes portadores de AF submetidos ao TMO. Além dos medicamentos, várias doenças principalmente aquelas de natureza sistêmica são capazes de modificar o funcionamento das glândulas salivares (STUCHELL, MANDEL, BAURMASH, 1984; PANKHURST et al., 1996; EDGAR e O'MULLANE 1996; LÓPEZ et al., 2003). Os pacientes com doenças sistêmicas concomitantes a AF foram excluídos da amostra a fim de evitar interferências destas na avaliação da velocidade de secreção e nas concentrações dos componentes da saliva.

DOKAL (2000) acreditou que 8% dos indivíduos com AF apresentam alterações no sistema nervoso central e WAJNRAJCH et al. (2001) afirmam que 81% destes pacientes apresentam anormalidades endócrinas. Atualmente, a literatura científica não menciona nenhum estudo a respeito da morfologia, fisiologia e histologia das glândulas salivares em pacientes portadores da AF. Nos indivíduos saudáveis, as células acinares são dotadas de receptores da superfície celular e de hormônios intracelulares, tais como: receptores adrenérgicos, muscarínicos–colinérgicos, neuropeptidérgicos, insulínicos, tireóideos e de esteróides. Os receptores acima mencionados são importantes no processo secretório das glândulas salivares. Outro dado importante a ser considerado a respeito da fisiologia das glândulas salivares é que a secreção salivar ocorre em consequência de sinais nervosos parassimpáticos provenientes dos núcleos salivares superiores e inferiores no tronco cerebral. Já a estimulação simpática, originada dos gânglios cervicais superiores, também pode

aumentar a salivação, mas em grau menor do que a estimulação parassimpática (GUYTON e HALL, 1997). Em indivíduos saudáveis, a saliva é produzida em resposta à estimulação de neurotransmissores que se ligam aos receptores específicos na região basolateral das células acinares (BAUM, 1993). As alterações do sistema endócrino e nervoso podem servir como risco cumulativo para a secreção do fluxo salivar e responder pelas alterações observadas na saliva dos portadores de AF, entretanto, há a necessidade de estudos específicos para comprovar esta hipótese.

Em condições de normalidade, cada glândula salivar é composta de um sistema bem vascularizado de ácinos e ductos (BERNE e LEVY, 1990). Existe um fator secundário que também participa na secreção salivar, que é o suprimento sangüíneo das glândulas, visto que a secreção sempre necessita de uma nutrição adequada (GUYTON e HALL, 1997). BERNE e LEVY (1990) afirmam que um hormônio chamado polipeptídeo intestinal vasoativo é liberado das terminações do nervo parassimpático juntamente com a acetilcolina nas glândulas salivares. Esta substância contribui para a vasodilatação para que ocorra uma nutrição adequada das glândulas salivares e ela exerça sua função. Os indivíduos portadores da AF possuem alterações do sistema nervoso, circulatório, digestório e endócrino, assim, estas anormalidades nestes sistemas podem servir como um fator de risco cumulativo para alterações na secreção salivar.

WEYNE e HARARI (2001) classificam a cárie como uma doença infecciosa oportunista, fortemente influenciada pelos carboidratos da dieta e pela ação dos componentes salivares. A velocidade do fluxo salivar é o parâmetro mais importante em se tratando de suscetibilidade a doença cárie dentária (TENOVUO e LANGERLÖF, 1995). No entanto, a hipossalivação não pode ser avaliada como um fator isolado para o risco à cárie dentária, uma vez que esta doença tem etiologia multifatorial, isto é, há necessidade de vários fatores em condições críticas para que ela se manifeste.

À medida que o fluxo salivar aumenta, as concentrações de cálcio e proteínas totais se elevam, e o inverso também é verdadeiro (DOUGLAS, 1998).

Após aplicar o teste de correlação de *Spearman* entre a variável velocidade do fluxo salivar e a concentração dos componentes não se observou inter-relação entre os mesmos, contrariando os achados da literatura (DOUGLAS, 1998). Os valores do cálcio salivar para o grupo experimental estavam abaixo dos valores de referência (TENOVUO e LANGERLÖF, 1997). Este íon tem participação efetiva na cascata da coagulação sangüínea, na transmissão dos impulsos nervosos, em reações enzimáticas envolvendo os sistemas endócrino, renal e gastrointestinal.

O cálcio da dieta é absorvido no trato gastrointestinal, sendo a vitamina D, na sua forma biologicamente ativa necessária para que ocorra a absorção do cálcio. Como se sabe 14% dos pacientes com AF pode manifestar alterações congênitas associadas ao sistema digestório e que estas são de diferente expressividade, e podem estar associadas a desordens anatômicas e funcionais (DOKAL, 2000). Esta baixa concentração de cálcio na saliva dos portadores da AF pode ter ocorrido em função de alguma disfunção na absorção do cálcio proveniente da dieta, pois a literatura médica dispõe de vários relatos de caso onde os pacientes apresentavam atresia gastrointestinal variando desde o esôfago, duodeno, jejuno e ânus (PEREL et al., 1998; KERVILER et al., 2000; DOKAL, 2000; ALTER e LIPTON, 2002).

A regulação dos níveis de cálcio é realizada pelos rins e pelo sistema endócrino. Este íon é filtrado pelo glomérulo e depois reabsorvido nos túbulos renais. A regulação endócrina é feita pelas glândulas paratireóides que respondem à presença de baixos níveis plasmáticos de cálcio por meio da liberação do hormônio paratireóideo (PTH). Este hormônio estimula a liberação de cálcio do osso para o soro, normalizando os níveis séricos (BAYNES e DOMINICZAK, 2000). Sendo assim, faz se necessário a realização de novos estudos visando a comparação entre os níveis de cálcio salivar e sérico com os hormônios que são responsáveis pelo seu controle nos portadores da anemia de Fanconi.

Como há necessidade de cálcio para a coagulação sangüínea normal, podem ocorrer sintomas associados ao sangramento excessivo como tendência à formação de equimoses e petéquias, além da tendência a hemorragias. Os exames

laboratoriais revelam que os portadores da anemia de Fanconi geralmente apresentam o tempo de protrombina e o tempo parcial de tromboplastina alterados (PARADISO, 2001). Quaisquer modificações nestes sistemas anteriormente citados podem ser os responsáveis pela redução da concentração de cálcio salivar em comparação com o grupo controle.

A função especial do cálcio na homeostasia bucal está na dependência de algumas macromoléculas como a estaterina, histidina e proteínas ricas em prolina. Por outro lado, o cálcio é o principal co-fator da enzima amilase (TENOVUO e LAGERLÖF, 1995). Este estudo não encontrou alterações nas concentrações de proteína total e amilase salivar, tal fato, suportaria uma hipótese de que a AF não seria capaz de interferir no funcionamento dos ácinos responsáveis pela produção destes componentes orgânicos da saliva. No entanto, a não alteração na dosagem de proteínas totais entre os grupos experimental e controle pode ser justificada pelo fato de que proteínas de alto peso molecular (amilase) são equivalentes entre os grupos e acabam por determinar a dosagem destas proteínas totais, não considerando as dosagens isoladas de proteínas de baixo peso molecular. Fato este já observado em outros estudos (BANDERAS-TARABAY et al., 1997; MOURA, 2004). Isto se deu pela técnica laboratorial usada na análise destes dois componentes orgânicos que foi realizada à custa da espectrofotometria e que demonstra não ser tão sensível se comparada a técnicas baseadas na eletroforese e cromatografias.

A maior parte da amônia formada por desaminação dos aminoácidos no fígado é convertida em uréia que, em seguida, é excretada pela urina. A maior parte da uréia é formada no fígado e, na presença de uma hepatopatia grave, o nível sanguíneo de uréia diminui, enquanto que a concentração de amônia aumenta (GANONG, 1999). A uréia produzida tem dois destinos possíveis: uma parte é degradada por bactérias intestinais e excretada pelo rim ou se acumula na água do organismo (RIELLA e PECOITS-FILHO, 2003). A uréia é o produto final do metabolismo nitrogenado e a sua concentração plasmática depende de muitos fatores que afetam o metabolismo do nitrogênio: ingestão calórica e protéica, catabolismo protéico aumentado, relacionado a trauma, infecção e febre, uso de

corticosteróides, absorção de sangue do trato gastrointestinal, depleção do espaço extracelular e ingestão de quantidades excessivas de proteínas. Aproximadamente metade da uréia filtrada é reabsorvida no túbulo proximal, independente da presença ou da ausência do hormônio antidiurético e do fluxo urinário. Quando o fluxo urinário é alto, o segmento distal do nefro torna-se relativamente impermeável à uréia, o qual aumenta a sua excreção (LUGON, MATOS, WARRAK, 2003). É possível suspeitar de que alterações hepáticas e renais estejam afetando o metabolismo da uréia nos portadores de AF e provavelmente justificando as alterações observadas nos níveis salivares destes pacientes, pois 34% dos indivíduos portadores da anemia de Fanconi apresentam comprometimento renal e uma propensão ao desenvolvimento de neoplasias hepáticas (DOKAL, 2000; ALTER e LIPTON, 2002; ALTER, 2003).

A uréia tem um papel importante na bioquímica salivar, pois uma vez metabolizada pelas bactérias do biofilme é capaz de neutralizar os ácidos produzidos pelo mesmo (SUDDICK, HYDE, FELLER 1984). SHAFER, HINE, LEVY (1987) acreditam que a saliva de pessoas imunes à cárie apresenta um teor de amônia mais elevado do que a saliva das pessoas com cárie. Este fato sugere que uma elevada concentração de amônia pode retardar a formação do biofilme bucal e neutralizar o pH. Sendo assim, se o paciente tiver uma diminuição da uréia sanguínea por uma hepatotoxicidade e conseqüentemente um aumento da amônia, ele terá menos chance de desenvolver cárie dentária. Isto poderia ser um indicativo da baixa incidência de lesões de cárie observada nos pacientes portadores de AF. No entanto, é preciso ressaltar que a cárie é uma doença de etiologia multifatorial e que há a necessidade de estudos em que se faça esta correlação entre as concentrações de uréia na saliva, no soro e os índices de cárie.

Na mensuração das concentrações de uréia houve uma diminuição desta em relação ao grupo controle. DOUGLAS (1998) afirma que esta substância é excretada especialmente pelo túbulo intralobular estriado das glândulas salivares e que também está na dependência da concentração plasmática. É possível que a redução na concentração de uréia salivar seja associada a uma alteração morfo-

funcional das glândulas salivares, necessitando de pesquisas mais profundas destes órgãos a fim de haver comprovação científica de anomalias congênitas envolvendo estas glândulas.

As proteínas totais não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos experimental e controle. Este trabalho corroborou os achados de BANDERAS-TARABAY et al. (1997), pois ambos os estudos não observaram correlações entre o fluxo salivar e a concentração de proteínas totais e por outro lado, contrariam os achados de DOUGLAS (1998).

Neste estudo não se observou alteração da amilase salivar quando em comparação com o grupo controle. Apesar do co-fator da amilase salivar, o cálcio, apresentar-se diminuído no grupo experimental, esta enzima apresentou-se dentro dos padrões de normalidade, pois o teste bioquímico utilizado tem a função de apenas quantificar a amilase salivar. Resta saber se embora presente esta enzima esteja funcionando, sendo assim, torna-se necessário à realização de outros estudos visando analisar a atividade da enzima.

Os pacientes portadores desta doença, que na sua maioria são crianças, apresentam fragilidade capilar ao menor trauma, tendência à formação de hematomas e são freqüentemente submetidos a exames hematológicos de rotina para o controle da leucopenia, trombocitopenia e neutropenia, pesquisa de infecções secundárias e avaliação geral do quadro sistêmico (SAGASETA de ILURDOZ et al., 2003). Levando em consideração que o exame da saliva é rápido, indolor e pode ser um excelente recurso de diagnóstico quando bem indicado, torna-se justificável e viável a utilização da sialometria e sialoquímica como recurso útil para a avaliação das alterações bucais e sistêmicas destes pacientes. Além do mais, sabe-se da inter-relação entre o soro sangüíneo e as concentrações salivares dos componentes tanto da saliva total como de cada glândula isoladamente (DOUGLAS, 1998). Na avaliação clínica e salivar, parece que esta síndrome não é caracterizada por alterações morfológicas e funcionais, no entanto, para poder afirmar a respeito das características de normalidade das glândulas salivares maiores e menores há

necessidade de investigações clínicas e laboratoriais mais detalhadas utilizando os recursos de imagens e as técnicas de análise histopatológica disponíveis (OLIVEIRA, 1990; PITA et al., 2001; ALTER e LIPTON 2002; KUTLER et al., 2003 a).

Diante do exposto, tornou-se claro que a AF é capaz de alterar a quantidade e a qualidade da saliva e que há a necessidade de mais estudos a fim de verificar se os demais componentes orgânicos e inorgânicos deste fluido encontram-se nos seus níveis normais ou alterados. Este trabalho reforça ainda a necessidade de que os indivíduos com a anemia de Fanconi necessitam de cuidados bucais redobrados com o objetivo de não desenvolverem as conseqüências de um quadro de hipossalivação.

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa foi possível concluir que:

- A AF é capaz de produzir alterações nas concentrações de cálcio e uréia salivares.
- A AF é capaz de provocar redução na velocidade do fluxo salivar.
- A concentração salivar das proteínas totais e da enzima amilase não sofre interferências em função da AF.

REFERÊNCIAS²

- ALTER, B. P. Cancer in Fanconi anemia, 1927-2001. **Cancer**, Philadelphia, v. 97, p.425-40, Jan. 2003.
- ALTER, B. P. et al. Cancer in Fanconi anemia. **Blood**, New York, v.101, n.5, p.2072-2073, 2003.
- ALTER, B. P. Fanconi's anaemia and its variability. **Brit J Haemat.**, Oxford, v. 85, p.9-14. 1993.
- ALTER, B. P.; LIPTON, J. **Fanconi's anemia**. Disponível em: <<http://www.emedicine.com>> Acesso em: 26 fev. 2002.
- APRIGLIANO FILHO, F. Patologia das glândulas salivares. In: **Hungria Otorrinolaringologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.171-194.
- ARAUJO, M. R. de. **Estudo das manifestações clínicas, estomatológicas e radiográficas em pacientes portadores de anemia de Fanconi**. Curitiba, Paraná, 2004, 114f. Dissertação de Mestrado em Odontologia: Estomatologia. Setor de Ciências da Saúde. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.
- ASSOCIACIÓN ESPAÑOLA DE ANEMIA DE FANCONI. **¿Qué es la Anemia de Fanconi?** Disponível em: <<http://www.asoc-anemiafanconi.es/quees.html>> Acesso em: 16 Maio. 2004.
- ATKINSON, J. C.; WU, A. J. Salivary gland dysfunction: causes, symptoms and treatment. **J Am Dent Assoc.**, Chicago, v. 125, p.409-416, Apr. 1994.
- AUERBACH, A. D. et al. Genetic linkage studies in Fanconi anemia. **Cytogenet Cell Genet.**, New York, v. 51, p.954, 1989.
- AUERBACH, A. D.; ROGATKO, A.; SCHROEDER-KURTH, T. M. International Fanconi Anemia Registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity. **Blood**, New York, v. 73, p.391-396, 1989.
- AVERY, J. K. **Fundamentos de histologia e embriologia bucal**: uma abordagem clínica. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.169-178.
- BANDERAS-TARABAY, J.A. et al. Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. **Salud Publica Mex.**, Cuaerneca, v.39, n.5, p.433-441. set./out.1997.
- BAUM, B.J. Principles of saliva secretion. **Annals NY Acad Sci**. New York, v.694, p.17-23, Sept. 1993.
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. H. **Bioquímica médica**. São Paulo: Manole, 2000. 566 p.
- BERNE, R. M.; LEVY, M. N. Secreções gastrointestinais. In: **Fisiologia**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p.616-648.

²UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. Sistema de Bibliotecas. Normas para apresentação de documentos científicos. Curitiba: Ed. da UFPR, 2000.

Baseado na NBR 6023 de agosto de 2000, da Associação Brasileira de Normas Técnicas.

BRAVO, G. M. N. et al. Lesiones hepáticas en un paciente con anemia de Fanconi. **BSCP Can Ped.**, v.25, n. 3. 2001.

CANTO, C. L. do. et al. Cytomegalovirus infection in children with Down syndrome in a day-care center in Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, São Paulo, v. 42, n. 4, p.179-84. jul./ago.2000.

CASTRO JR., C. G. de. et al. Análise clínica e epidemiológica do transplante de medula óssea em um serviço de oncologia pediátrica. **J Pediatr.**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 5, p.413-422, 2003.

CHERUBINI, K. **Análise comparativa do ambiente bucal entre indivíduos portadores de ulceração aftosa recorrente, indivíduos fumantes e indivíduos não-fumantes.** Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1998. 288f. Tese de doutorado em Odontologia: Estomatologia clínica. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

D'ANDREA, A. D. et al. Marrow failure. **Hematology**, Washington, v. 1, n. 58, p.58-72. 2002.

D'ANDREA, A. D. et al. The Fanconi road to cancer. **Genes Dev.**, New York, v. 17, p.1933-1936. 2003.

DEAN, A. et al. Carcinoma epidermoide de la cavidad oral y anemia de Fanconi. Una asociación a tener en cuenta. **Medicina Oral**, Madrid, v. 4, p.410-5, 1999.

DIGWEED, M.; SPERLING, K. Identification of a HeLa mRNA fraction which can correct the DNA-repair defect in Fanconi anaemia fibroblasts. **Mutat Res.**, Amsterdam, v. 218, n. 3, p.171-77,1989.

DOKAL, I. The inherited bone marrow failure syndromes: Fanconi anemia, Dyskeratosis congenita and Diamond-Blackfan anemia. **Rev Clin Exp Hematol.** v.43, p.183-215, Sept.2000.

DOUGLAS, C. R. **Patofisiologia oral: fisiologia normal e patológica aplicada a odontologia e fonoaudiologia.** São Paulo: Pancast, 1998. p.17-38.v.2.

DUTRILLAUX, B. et al. The cell cycle of lymphocytes in Fanconi anemia. **Hum Genet.**, New York, v. 62, p.327-32, 1982.

EDGAR, W. M.; O'MULLANE, D. M. **Saliva and oral health.** 2.ed. London: British Dental Association, 1996. 140 p.

ENBERG, N. et al. Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, Saint Louis, v. 92, n. 3, p.292-8. Sep. 2001.

EPSTEIN, J. B.; SCULLY, C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. **J Can Dent Assoc.**, Ottawa, v. 58, n. 3, p.217-221, Mar. 1992.

ERICSON, T.; MAKINEN, K.K. Saliva – Formação, Composição e Possível Função. In: Thylstrup, A.; Fejerskov, O. **Tratado de Cariologia.** Rio de Janeiro: Cultura Médica Ltda. 1988. p.16-19.

FIELD, E.A. et al. The establishment of a xerostomia clinics: a prospective study. **Br J Oral Maxillofac Surg.**, Scotland, v.35, n.2, p.96-103, Apr.1997.

FRANCO, F. **A relação entre transplantados renais comparados a insuficientes renais crônicos e indivíduos saudáveis verificando condições de saliva, dentes e mucosas bucais.** Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2004. 216f. Tese de Doutorado em Odontologia: Estomatologia clínica. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

FREIRE M. do C.M.; PATUSSI, M.P. Tipos de Estudos. In: ESTRELA, C. **Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia.** São Paulo: Artes Médicas, 2001.p.121-144.

GANDARA, B. K. et al. Sialochemistry of whole, parotid, and labial minor gland saliva in patients with oral lichen planus. **J Dent Res.**, Washington, v. 66, n. 11, p.1619-22. Nov. 1987.

GANONG, W. F. **Fisiologia média.** 17.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 878p.

GARCÍA-POLA, M. J. et al. Xerostomía. **Formación Médica Continuada,** Quito, v. 6, n. 4, p.229-39, abr. 1999.

GARICOCHEA, B. Síndromes predisponentes. In: PARISE JR, O. **Câncer de boca: aspectos básicos e terapêuticos.** São Paulo: Sarvier, 2000. p.34-40.

GENOVESE, W. **Exame clínico em odontologia.** São Paulo: Panamed, 1985. 319 p.

GIAMPIETRO, P. F. et al. The need for more accurate and timely diagnosis in Fanconi anemia: a report from the International Fanconi Anemia Registry. **Pediatrics,** Evanston, v. 91, p.1116-1120, 1993.

GLANZ, A.; FRASER, F. C. Spectrum of anomalies in Fanconi anemia. **J Med Genet.**, London, v. 19, p.412-416, 1982.

GLUCKMAN, E.; DEVERGIE, A.; DUTREIX, J. Radiosensitivity in Fanconi anemia, application to the conditioning regimen for bone marrow transplantation ?. **Br J Haematol.**, Oxford, v.54, p.431-440, 1983.

GONZÁLEZ, M. et al. Cuantificación de plomo, cadmio y cromo mediante sialoquímica. **Salud Pública Mex.**, Cuernavaca, v.39, n.3, p.179-86, mai/jun.1997.

GREWAL, S.S.; et al. Successful hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi anemia from an unaffected HLA-genotype-identical sibling selected using preimplantation genetic diagnosis. **Blood,** New York, v.103, p.1147-1151, 2004.

GUYTON, A.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica.** 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.,1997. 613p.

HAGERMAN, D. A.; WILLIAMS, G. P. Some features of Fanconi's anemia. **New Eng J Med.**, Waltham, Mass, v. 329, p.1168,1993.

HARRISON, T. R. et al. **Harrison medicina interna.** 14.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1998. 2118p.v.2.

JOENJE, H. et al. Complementation analysis in Fanconi anemia: assignment of the reference FA-H patient to group A. **Am J Hum Genet.**, Chicago, v. 67, p.759-762, 2000.

JOENJE, H. et al. Evidence for at least eight Fanconi anemia genes **Am J Hum Genet.**, Chicago, v. 61, p.940-944, 1997.

JOENJE, H.; PATEL, K. J. The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. **Nat Rev Genet.**, London, v. 2, p.446-457, 2001.

JOHO, J. P.; MARECHAUX, S.C. Microdontia: A Specific Tooth Anomaly: Report of Case. **Journal of Dentistry for children**, Chicago, v.46, n.6, p.486, Nov./Dec., 1979.

KALK, W. W; et al. Sialometry and sialochemistry: diagnostic tools for Sjögren's syndrome. **Ann Rheum Dis.**, London, v. 60, n. 12, p.1110-6, 2001.

KERVILER, E. de et al. The clinical and radiological features of Fanconi's anaemia. **Clin Radiol.**, Edinburgh, v. 55, p.340-345, 2000.

KOUBIK, A. C. G. de A. **Estudo comparativo entre as idades cronológicas, óssea e dentária em pacientes portadores de anemia de Fanconi.** Curitiba, Paraná, 2004. Dissertação de Mestrado em Odontologia: Estomatologia. Setor de Ciências da Saúde. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

KRASSE, B. **Risco de cárie – Um guia prático para avaliação e controle.** 2.ed., São Paulo: Quintessence Books, 1988. p.41-43.

KUTLER, D. I. et al. A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). **Blood**, New York, v. 101, n.4, p.1249-1256, Feb. 2003a.

KUTLER, D. I. et al. Human papillomavirus DNA and p53 polymorphisms in squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients. **J Natl Cancer Inst.**, Bethesda, v. 95, p.1718–21, 2003c.

KUTLER, D.I. et al. High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with fanconi anemia. **Arch of Otolaringol Head Neck Surg.**, Chicago, v.129, n.1, p.106-13, Jan. 2003b.

KWEE, M. L. et al. An atypical case of Fanconi anemia in elderly sibs. **Am J Med Genet.**, New York, v. 68, p.362-366,1997.

LAMEY, P.J.; LEWIS, M.A.O. Oral medicine in practice: salivary gland disease. **Br Dent J.**, London, v. 168, p.237-243, Mar.1990.

LEITE, K. R. M.; LOPES, L. H. C. Campo de cancerização e clonalidade. In: PARISE JR, O. **Câncer de boca: aspectos básicos e terapêuticos.** São Paulo: Sarvier, 2000. p.29-33.

LEVITUS, F. C. et al. Heterogeneity in Fanconi anemia: evidence for 2 new genetic subtypes. **Blood**, New York, v.103, n.7, p.2498-2503, 2004.

LIMA, A. A. S. **Avaliação sialométrica e sialoquímica de indivíduos submetidos à radioterapia da região de cabeça e pescoço.** Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 1999, 194f. Tese de Doutorado em Odontologia: Estomatologia clínica. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

LONGMAN, L. P. et al. The clinical assessment of oral dryness is a significant predictor of salivary gland hypofunction. **Oral diseases**, Houndmills, v. 6, n. 6, p.366-70, Nov. 2000.

LOPES, M.E. et al. Salivary characteristics of diabetic children. **Braz Dent J.**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p.26-31. 2003.

LOWY, D. R., FRAZER, I. H. Chapter 16: Prophylactic human papillomavirus vaccines. **J Natl Cancer Inst Monogr.**, Bethesda, v. 31. p.111–6, 2003.

LOWY, D. R.; GILLISON, M. L. A new link between Fanconi anemia and Human Papillomavirus – associated malignancies. **J Nat Cancer Institute.**, Oxford, v.95, n.22, p.1648-1650, Nov. 2003.

LUGON, R. et al. In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 559 p.

LUNDGREN, T. et al. Saliva composition in children and young adults with Papillon-Lefèvre syndrome. **J Clin Periodontol.**, Copenhagen, v. 23, n.12. p.1068-1072. Dec.1996.

MERRIMAN, M.; MORA, J.; McGAUGHRAN, J. Fanconi anemia and primary characters: first case. **Ophthalmic Genetics**, Amsterdam, v. 23, n. 4, p.253-5, 2002.

MILLER, O.; REIS GONÇALVES, R. **Laboratório para o clínico**. 8.ed. São Paulo: Atheneu, 1995. p.66-87.

MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia: processos gerais**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 320 p.

MOURA, S. A.B. de. **Análises clínica, sialométrica e sialoquímica em pacientes portadores da síndrome do ardor bucal**. João Pessoa, Paraíba, 2004.141f. Tese do Doutorado: Estomatologia. Programa integrado de pós-graduação em odontologia. Universidade Federal da Paraíba / Universidade Federal da Bahia.

NAVAZESH, M. et al. Comparison of whole saliva flow rates and mucin concentrations in healthy Caucasian young and aged adults. **J Dent Res.**, Washington, v. 71, n. 6, p.1275-8, 1992.

NEDERFORS, T. Xerostomia and hyposalivation. **Adv Dent Res.**, Washington, v.14, p.48-56, Dec. 2000.

NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.705p.

NEWBRUN, E. **Cariologia**, 2.ed. São Paulo: Santos, 1988. 326p.

NOKES, D. et al. Has oral fluid the potential to replace serum for the evaluation of population immunity levels?: a study of measles, rubella and hepatitis B in rural Ethiopia. **Bull World Health Organ.**, Geneve, v. 79, n. 7, p.588-595, Jul. 2001.

NOWZARI, H.; et al. Aggressive periodontitis associated with Fanconi's Anemia. A case report. **J Periodontol.**, New York, v.72, n.11, p.1601-06, Nov.2001.

OBA, I. T. et al. Detection of hepatitis A antibodies by ELISA using saliva as clinical samples. **Rev Inst Med Trop S Paulo.**, São Paulo, v. 42, n. 4, p.197-200. jul./ago.2000.

OLIVEIRA, H. P. de. **Hematologia Clínica**. 3.ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1990.

OLIVEIRA, I. C. S., HAUFF, S. D. Anemia de Fanconi: a importância do diagnóstico precoce. **Arq Cat Méd.**, Florianópolis, v.25, n.3, p.242-6, jul/set, 1996.

- OTAN, F. et al. Recurrent aphtous ulcers in Fanconi's anaemia: a case report. **Int J Paediatr Dent.**, Oxford, v.14, n.3, p.214-217, May. 2004.
- PALACÍN, P. S. et al. Bone age delay and hypoplastic thumbs in a five year-old boy. **An Pediatr.**, Barcelona, v. 58, n. 1, p.89-90, 2003.
- PANKHURST, C. L. et al. Diagnosis and management of the dry mouth: part I. **Dental Update**, Guildford, v. 23, n. 2, p.56-62, Mar. 1996.
- PARADISO, C. **Líquidos e eletrólitos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2001.162p.
- PASQUINI, R. et al. Carcinoma de células escamosas em língua pós-transplante de medula óssea por anemia de Fanconi. **Rev Bras Hematol Hemoter.**, São José do Rio Preto, v.25, n.4, p.239-246, 2003.
- PASQUINI, R. Transplante de Medula óssea em anemias aplásticas/ Bone marrow transplantation for aplastic anemia. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.33, n.3, p.219-31, jul/set, 2000.
- PASQUINI, R., ZANIS NETO, J. Anemia de Fanconi. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P., PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e prática**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.p.170-179.
- PEREIRA -PINTO, L. et al. **Patologia básica**: sinopse. Natal: Editora da UFRN, 1997. p.155-154.
- PEREL, Y. et al. Oesophageal atresia, VACTERL association: Fanconi's anaemia related spectrum of anomalies. **Arch Dis Child.**, London, v. 78, n. 4, p.375-376, Apr.1998.
- PINDBORG, J.J. et al. **Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa**. 2.ed. London: Springer, 1997.p.01-16. [World Health Organization].
- PITA, M. T. et al. Tratamento da anemia aplástica. Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. **Projeto Diretrizes**, Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, Jul. 2001.
- PUPO, D. P. et al. A proposal for a practical method of sialometry. **Rev Bras Otorrinolaringol.**, Rio de Janeiro, v.68, n.3, p.219-222, mar/abr. 2002.
- REY, L. **Dicionário de termos técnicos de medicina e saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.825p.
- RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 559 p.
- RIELLA, M. C; PECOITS FILHO, In: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 559 p.
- RODRIGUES; CAMARGO. In: MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M. **Patologia: processos gerais**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 320 p.
- ROSENBERG, P. S.; GREENE, M. H.; ALTER, B. P. Cancer incidence in persons with Fanconi anemia. **Blood**, New York, v.101, n.3, p.822-826, Feb. 2003.

- ROSENDORFF, J. et al. Fanconi anemia: another disease of unusually high prevalence in the Afrikaans population of South Africa. **Am J Med Genet.**, New York, v. 27, p.793-797, 1987.
- RUUD, E; WESENBERG, F. Microcephalus, medulloblastoma and excessive toxicity from chemotherapy: an unusual presentation of Fanconi anaemia. **Acta Paediatr.**, Stockholm, v.90, n.10, p.580-583, 2001.
- SAGASETA DE ILURDOZ, M. et al. Anemia de Fanconi. consideraciones actuales. **An Sist Sanit Navar.**, Pamplona, v.26, n.1, p.63-78, apr. 2003.
- SANTOS, F.; SELESNICK, S.H. ; GLASGOLD, R.A. Otologic manifestations of Fanconi anemia. **Otol Neurotol.**, New York, v.23, n.6, p.873-875, 2002.
- SCHROEDER, T. M.; ANSCHUTZ, F.; KNOPP, A. Spontane chromosomenaberrationen bei familiaerer panmyelopathie. **Humangenetik**, Berlim, v. 1, p.194-196,1964.
- SCHULER D; KISS A; FABIÁN F. Chromosome studies in Fanconi's anemia. **Orv Hetil.**, Budapest, v. 110, n. 13, p.713-20,1969.
- SHAFER, W.G.; HINE,M,K;;LEVY,B.M. **Tratado de Patologia Bucal**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. p.377-442.
- SHAHAM, M. et al. Transfection of normal human and Chinese hamster DNA corrects diepoxybutane-induced chromosomal hypersensitivity of Fanconi anemia fibroblasts. **Proc Nat Acad Sci USA**, Washington, v. 84, p.5853-5857,1987.
- SHIP, J. A.; FISCHER, D. J. The relationship between dehydration and parotid salivary gland function in young and older healthy adults. **J Gerontol.: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, Washington, v. 52, n. 5, p.M310-M319, Sept. 1997.
- SONIS, S.T.; FAZIO, R.C.; FANG,L. **Princípios e Prática de Medicina Oral**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 387p.
- SOUZA, R. M. de; LEHN, C. N.; DENARDIN, O. V. P. Níveis sérios e salivar de imunoglobulina A em portadores de câncer da boca e orofaringe. **Rev Assoc Med Brás.**, São Paulo, v. 49, n. 1 p.40-44, jan/mar. 2003.
- SREEBNY, L.M. et al. Saliva: its role in health and disease. **Int Dent J.**, London, v.42, n.4, p.291-304, Aug.1992.
- STRECKFUS, C. F.; BIGLER, L. R. Salivary glands an saliva: saliva as a diagnostic fluid. **Oral Diseases**, Houndmills, v. 8, n. 3 p.69-76. 2002.
- STUCHELL, R,N.; MANDEL, I.D.; BAURMASH,H. Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. **J Oral Pathology.**, Copenhagen, v. 13, p.303-309. 1984.
- SUDDICK, R.P.; HYDE, R.J., FELLER, R.P. Saúde bucal, água e eletrólitos salivares. In: MENAKER, L. MORHART, R.E.; NAVIA, J.M. **Cáries dentárias: bases biológicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984, p.118-131.
- TARZIA, O. **Halitose**. 2.ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1996. p.116-123.
- TEN CATE, A. R. **Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.296-321.

- TENOVUO, J. et al. Antimicrobial Factors in Saliva: Ontogeny and Relation to Oral Health. **J Dent Res**, Washington, v.66, p.475-479, 1987.
- TENOVUO, J.; LAGERLÖF, F. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. 2.ed. São Paulo: Livraria Santos, 1995. p.17-43.
- THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV. **Cariologia clínica**. 2.ed. São Paulo: Santos, 2001. 421p.
- TIPPING, A. J. et al. Molecular and genealogical evidence for a founder effect in Fanconi anemia families of the Afrikaner population of South Africa. **Proc Nat Acad Sci USA**, Washington, v. 98, p.5734-5739, 2001.
- TISCHKOWITS, M.D.; HODGSON, S.V. Fanconi anaemia. **J Med Genet.**, London, v.40, p.1-10. 2003.
- TOMMASI, F.A.; LIMA, A.A.S.de. In: TOMMASI. **Diagnóstico em patologia bucal**. 3.ed. São Paulo: Pancast, 2002. 347-357.
- TORRES, S. R., et al. Eficácia de um questionário sobre xerostomia para detecção de hipossalivação. **Revista APCD**, Araçatuba, v. 56, n.3, mai/jun. 2002.
- TRIOLA, M.F. A Distribuição Normal de Probabilidade. In: **Introdução à Estatística**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e científicos. Editora S. A., 1999. p.113-142.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA. Sistema de Bibliotecas. **Normas para apresentação de trabalhos**. Curitiba: Ed. da UFPR, 2000.
- VENKITARAMAN, A. R. Connecting Fanconi's anaemia to breast cancer predisposition. **Lancet**, Minneapolis, v. 360, n. 9343, p.1344, Feb. 2002.
- VILARDELL LATORRE, E. Uso terapéutico de los andrógenos. **JANO EMC.**, Barcelona.v.61, n.1409, p.66-72, nov.2001.
- VISSINK, A. et al. Treatment of hyposalivation. **Ear Nose Throat J.**, Cleveland, v. 67, p.179-185, Mar. 1988.
- WAJNRAJCH, M. P. Et al. Evaluation of growth and hormonal status in patients referred to the International Fanconi Anemia Registry. **Pediatrics**, Evanston, v. 107, p.744-54, 2001.
- WALTON, A. G. et al. Sialochemistry in juvenile idiopathic arthritis. **Oral Dis.**, Houndmills, v. 8, n. 6, p.287-90, 2002.
- WANG, X. Z.; D'ANDREA, A. D. The interplay of Fanconi anemia proteins in the DNA damage response. **DNA Repair.**, Amsterdam, v. 3, n. 8/9, p.1063-69, 2004.
- WEYNE, S. de C.; HARARI, S.G. In: BARATIERI, L.N. et al. **Odontologia Restauradora: Fundamentos e possibilidades**. São Paulo: Santos.2001. p.01-29.
- WHELTON, H. Introduction the anatomy and physiology of salivary glands. In: EDGAR, W. M.; O'MULLANE, D. M. **Saliva and oral health**. 2.ed. London: British Dental Association, 1996. p.1-8.
- WILLIAMS, W.J.; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.; RUNDLES, W. **Hematologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976.174p.

WINTROBE, W et al. **Hematologia Clínica**. Rio de Janeiro: Manole Ltda., 1998. p.1020-1021. v.I.

WINTROBE, W et al. **Hematologia Clínica**. Rio de Janeiro: Manole Ltda. 1998. p.2143-2144. v. II,

XIA D.; DENG D.; WANG S. Alterations of nitrate and nitrite content in saliva, serum, and urine in patients with salivary dysfunction. **J Oral Pathol Med.**, Copenhagen, v. 32, n. 2, p.95-9. Feb.2003.

YALMAN, N. et al. The effect of bone marrow transplantation on systemic and oral healthy in Fanconi's aplastic anemia. **J Clin Pediat Dent.**, Birmingham, v.25, n.4, p.329-332, 2001.

ZANIS NETO, J. **Transplante de medula óssea em anemia de Fanconi escalonando doses decrescentes de ciclofosfamida**. Curitiba, Paraná, 1999, 128f. Tese de Doutorado de Medicina Interna do Departamento de Clínica Médica, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

ZANIS NETO, J. **Transplante de medula óssea em anemia de Fanconi**. Curitiba, Paraná, 1992. 70f. Dissertação de Mestrado em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS – GRADUAÇÃO
MESTRADO DE ESTOMATOLOGIA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa científica sobre a qualidade e a quantidade da saliva dos portadores de Anemia de Fanconi. Para isso é necessário apenas coletar uma amostra de saliva. As informações existentes neste documento são para que você entenda perfeitamente os objetivos deste estudo e saiba que a sua participação é importante e espontânea. Se durante a leitura deste documento houver alguma dúvida você deve fazer perguntas para que possa entender perfeitamente do que se trata. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte da pesquisa, assine ao final deste documento, que está em duas vias, sendo uma delas sua e a outra é do pesquisador responsável.

1. INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto de Pesquisa:

Análise sialométrica e das concentrações salivares de cálcio, amilase, uréia e proteínas totais dos portadores de anemia de Fanconi

Pesquisadora responsável : **Tatiana Maria Folador Mattioli**

Telefone para contato: (041) 9111-7891

Pesquisador orientador : **Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima**

Telefone para contato: (041) 3301637 / 99517616

Endereço: **Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Rua Imaculada Conceição nº1155 – Prado Velho
80215-910 Curitiba - PR**

1.1 INTRODUÇÃO

O objetivo desta pesquisa é avaliar a qualidade e a quantidade da saliva dos portadores da Anemia de Fanconi. Alterações na saliva são capazes de produzir inúmeras sensações bucais desagradáveis, como por exemplo a sensação de “boca seca”; dificuldade de mastigação, deglutição e fonação; ardência bucal; mal hálito; gosto desagradável; sangramento gengival; placa bacteriana; tártaro; cáries dentárias; mobilidade dentária e até mesmo perda dos dentes.

1.2 FINALIDADE DA PESQUISA

A finalidade principal desta pesquisa é promover saúde bucal a fim de elevar a qualidade de vida e promoção do bem estar dos pacientes portadores da Anemia de Fanconi, respeitando a dignidade e os direitos da pessoa humana. Sabendo quais são as alterações de sua saliva, podemos, com tratamento odontológico, é possível prevenir e evitar desconforto como dores, cáries e sensação de “boca seca”, gengivite, sangramentos, inflamação, entre outros.

1.3 PROCEDIMENTOS

Cada indivíduo que for participar do estudo será contatado e questionado quanto a possibilidade da participação. Uma vez aceita, será preenchida uma ficha padronizada contendo seus dados pessoais, informações a respeito do seu estado de saúde geral e familiar, condições bucais e história da doença atual e os tratamentos que estão sendo feitos.

Coleta da saliva

Para a obtenção das amostras da saliva, cada paciente é inicialmente sentado em uma cadeira e orientado a O paciente deverá mascar um garrote estéril de 1 cm prezo a um fio dental para estimular a produção de saliva. Este látex deverá ser mascado pelo paciente continuamente durante 6 minutos. Toda saliva produzida durante o primeiro minuto de estimulação será desprezada, devendo o paciente degluti-la ou cuspi-la. Feito isso, as amostras passarão a ser depositadas no coletor universal. O tubo teste contendo a amostra de saliva será acondicionado em um isopor contendo gelo no seu interior até que seja iniciada as análises bioquímicas no laboratório da PUCPR. Você será examinado com o uso de luvas descartáveis, seguindo as normas de biossegurança vigentes determinadas pelo protocolo de biossegurança da PUCPR. Para elucidar a pesquisa, talvez seja necessário realizar fotografias, mas estas só serão feitas com sua autorização. Sua identidade será preservada.



1.4 RISCO , BENEFÍCIOS e DESCONFORTO

De acordo com a metodologia exposta acima, acreditamos que a técnica de coleta empregada não seja capaz de produzir qualquer desconforto, dano ou risco aos indivíduos. Muito pelo contrário, os indivíduos que estarão beneficiando a si mesmo e aos outros portadores da Anemia de Fanconi com as descobertas das alterações da saliva. Assim os cirurgiões dentistas irão analisar a necessidade de cuidados especiais e encontrar soluções para prevenir ou tratar as manifestações orais da Anemia de Fanconi.

1.5 CUSTO

Você não terá gasto nenhum com a pesquisa.

1.6 PARTICIPAÇÃO

Caso você queira desistir de participar da pesquisa, poderá fazê-lo em qualquer tempo e momento que desejar.

Os pacientes participantes da pesquisa serão informados e acompanhados pela pesquisadora Tatiana M.

FoladorMattioli, cirurgiã dentista, formada pela PUCPR, com registro profissional no CRO-PR nº 14.188, residente em Curitiba-PR , telefone: 91117891.

Durante o decorrer da pesquisa surgir alguma dúvida ou precise de alguma orientação a mais, utilize o telefone acima, ou contate o Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima no telefone 330-1637 ou 99517616.

1.7 PRIVACIDADE E CONFIDENCIALIDADE

Você tem o compromisso dos pesquisadores de que sua imagem e identidade serão mantidas em absoluto sigilo. Nos casos das fotografias, estas somente serão realizadas e expostas em trabalhos científicos com sua autorização.

2. CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

Eu , (Pai/Mãe/Tuto) do (a) menor portador (a) do RG:, fui devidamente informado dos objetivos da pesquisa, de forma clara e detalhada pela pesquisadora Tatiana M. Folador Mattioli, e concordo em participação de meu filho (a). Estou consciente e recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual meu filho (a) estará participando, dos desconfortos ou riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações obtidas durante o estudo, serão fornecidas a mim e foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência / tratamento.

Tenho total conhecimento de que não terei gastos com esta pesquisa.

A pesquisadora certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Neste consentimento dou pleno direito para uso a favor do ensino e da divulgação em periódicos científicos sem a divulgação da identidade de meu filho, respeitando o código de ética profissional.

Curitiba, de de

.....
Assinatura do Pai / Mãe/ Tutor Legal

.....
Data e Hora

.....
Nome em letra forma do Pai/ Mãe/ Tutor Legal

.....
Parentesco

.....
Assinatura do Paciente do Estudo (se apropriado)

.....
Data

.....
Nome do Paciente em letra de forma

.....
Pesquisadora : Tatiana Maria Folador Mattioli (Data e Hora)

**APÊNDICE 2 - ANÁLISE SIALOMÉTRICA E DAS CONCENTRAÇÕES DE
CÁLCIO, AMILASE, URÉIA E PROTEÍNAS TOTAIS DE
INDIVÍDUOS PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI**



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO DE ESTOMATOLOGIA

Amostra	
Data	
Hora	

ORIENTADOR: **Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima**

MESTRANDA: **Tatiana Maria Folador Mattioli**

ANÁLISE SIALOMÉTRICA E DAS CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO, AMILASE, URÉIA E PROTEÍNAS TOTAIS DE INDIVÍDUOS PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI

IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:

Nome:

Idade : anos (...../...../.....) Sexo M F

Cor: melanoderma feoderma xantoderma leucoderma

Estado civil : Solteiro Casado Outro Profissão: Escolaridade

Naturalidade: Nacionalidade:.....

Endereço:

Telefone:

Nome do acompanhante:

HISTÓRIA MÉDICA:

.....
.....
.....
.....

TRATAMENTO e MEDICAMENTOS EM USO:

.....
.....
.....

HISTÓRIA ODONTOLÓGICA:

.....
.....
.....

EXAME CLÍNICO INTRA ORAL:

.....
.....
.....

APÊNDICE 3 - CÁLCULOS ESTATÍSTICOS

Descriptives	GRUPO		Statistic	Std. Error		
IDADE		1 Mean	10,67647059	1,151392699		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	8,333944528 13,01899665		
		5% Trimmed Mean	10,0751634			
		Median	8			
		Variance	45,07397504			
		Std. Deviation	6,713715443			
		Minimum	2			
		Maximum	31			
		Range	29			
		Interquartile Range	5,75			
		Skewness	1,563369526	0,403053021		
		Kurtosis	2,264833777	0,787898035		
		2 Mean	10,67647059	1,151392699		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	8,333944528 13,01899665		
		5% Trimmed Mean	10,0751634			
		Median	8			
		Variance	45,07397504			
		Std. Deviation	6,713715443			
		Minimum	2			
		Maximum	31			
		Range	29			
		Interquartile Range	5,75			
		Skewness	1,563369526	0,403053021		
		Kurtosis	2,264833777	0,787898035		
		Y1		1 Mean	0,515764706	0,053299996
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	0,407325048 0,624204363
5% Trimmed Mean	0,499705882					
Median	0,4575					
Variance	0,096590246					
Std. Deviation	0,310789713					
Minimum	0,034					
Maximum	1,357					
Range	1,323					
Interquartile Range	0,44625					
Skewness	0,685886522			0,403053021		
Kurtosis	0,283800369			0,787898035		
2 Mean	0,810382353			0,088309091		
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound			0,630716156 0,99004855		
5% Trimmed Mean	0,779006536					
Median	0,757					
Variance	0,265148849					
Std. Deviation	0,514926062					
Minimum	0,155					
Maximum	2,124					
Range	1,969					
Interquartile Range	0,8225					
Skewness	0,880940643			0,403053021		
Kurtosis	0,130835711			0,787898035		
Y2				1 Mean	4,570029412	0,342233652
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	3,873749812 5,266309012
		5% Trimmed Mean	4,560686275			
		Median	4,32			
		Variance	3,982211666			
		Std. Deviation	1,995547961			
		Minimum	0			
		Maximum	9,02			
		Range	9,02			
		Interquartile Range	3,21			
		Skewness	-0,010724688	0,403053021		
		Kurtosis	-0,079493736	0,787898035		
		2 Mean	7,109705882	0,665047073		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	5,75665744 8,462754325		
		5% Trimmed Mean	6,927875817			
		Median	6,67			
		Variance	15,0377787			
		Std. Deviation	3,877857488			
		Minimum	0			
		Maximum	17,13			
		Range	17,13			
		Interquartile Range	4,9475			
		Skewness	0,612342716	0,403053021		
		Kurtosis	0,494182639	0,787898035		
		Y3		1 Mean	36,40852941	5,931237264
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	24,34133646 48,47572236
5% Trimmed Mean	32,41933007					
Median	26,96					
Variance	1196,105566					
Std. Deviation	34,58475916					
Minimum	0					
Maximum	162,45					
Range	162,45					
Interquartile Range	38,88475					
Skewness	1,924745734			0,403053021		
Kurtosis	4,609154534			0,787898035		
2 Mean	45,94029412			2,830255227		
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound			40,18209656 51,69849167		
5% Trimmed Mean	45,37460784					
Median	42,085					
Variance	272,3517181					
Std. Deviation	16,50308208					
Minimum	21,15					
Maximum	81,93					
Range	60,78					
Interquartile Range	26,9125					
Skewness	0,452556945			0,403053021		
Kurtosis	-0,603837537			0,787898035		
Y4				1 Mean	0,334735294	0,048263542
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	0,236542379 0,43292821
		5% Trimmed Mean	0,314699346			
		Median	0,311			
		Variance	0,079198564			
		Std. Deviation	0,281422395			
		Minimum	0			
		Maximum	1,11			
		Range	1,11			
		Interquartile Range	0,43025			
		Skewness	0,759473462	0,403053021		
		Kurtosis	0,477975678	0,787898035		

2 Mean	0,449705882	0,057854087
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	0,332000857
	Upper Bound	0,567410908
5% Trimmed Mean		0,428813725
Median		0,4165
Variance		0,113801244
Std. Deviation		0,3373444
Minimum		0
Maximum		1,364
Range		1,364
Interquartile Range		0,49275
Skewness	0,819888458	0,403053021
Kurtosis	0,454821699	0,787898035

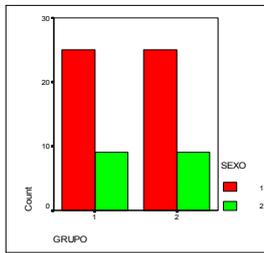
Tests of Normality

Y1	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov		df	Sig.
		Statistic			
Y1	1	0,128759616		34	0,16645
	2	0,174442558		34	0,1021
Y2	1	0,083825592		34	0,20000
	2	0,079312921		34	0,20000
Y3	1	0,153058394		34	0,04213
	2	0,113160652		34	0,20000
Y4	1	0,118161002		34	0,20000
	2	0,107013188		34	0,20000

* This is a lower bound of the true significance.
 a Lilliefors Significance Correction

GRUPO * SEXO Crosstabulation

GRUPO		SEXO		Total
		1	2	
GRUPO	1 Count	25	9	34
	% within GRUPO	73,52941176	26,47058824	100
2	Count	25	9	34
	% within GRUPO	73,52941176	26,47058824	100
Total	Count	50	18	68
	% within GRUPO	73,52941176	26,47058824	100



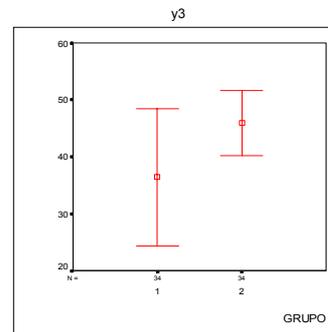
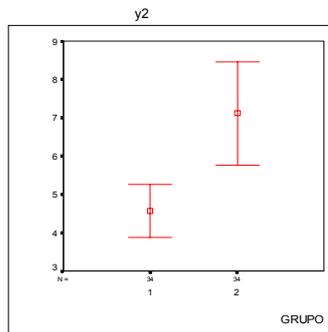
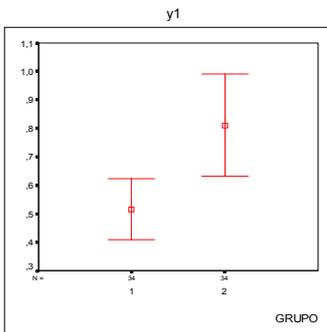
T-Test

Group Statistics

Y1	GRUPO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Y1	1	34	0,515764706	0,310789713	0,053299996
	2	34	0,810382353	0,514926062	0,088309091
Y2	1	34	4,570029412	1,995547961	0,342233652
	2	34	7,109705882	3,877857488	0,665047073
Y3	1	34	36,40852941	34,58475916	5,931237264
	2	34	45,94029412	16,50308208	2,830255227
Y4	1	34	0,334735294	0,281422395	0,048263542
	2	34	0,449705882	0,3373444	0,057854087

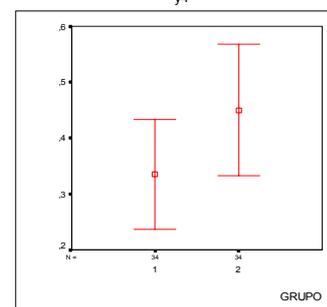
Independent Samples Test

Y1	Equal variances	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Y1	Equal variances	5,338743063	0,02399068	-2,856278108	66	0,00573	-0,29462	0,103147	-0,5005581	-0,08868
	Equal variances not assumed			-2,856278108	54,22612272	0,00606	-0,29462	0,103147	-0,501396	-0,08784
Y2	Equal variances	10,72990102	0,001681838	-3,395570154	66	0,00116	-2,53968	0,747938	-4,0329832	-1,04637
	Equal variances not assumed			-3,395570154	49,33238181	0,00136	-2,53968	0,747938	-4,0424584	-1,03689
Y3	Equal variances	6,846543126	0,01099078	-1,450381036	66	0,15169	-9,53176	6,571904	-22,652994	3,589465
	Equal variances not assumed			-1,450381036	47,28736335	0,15355	-9,53176	6,571904	-22,750609	3,68708
Y4	Equal variances	1,152957937	0,286840966	-1,525976245	66	0,13179	-0,11497	0,075342	-0,2653964	0,035455
	Equal variances not assumed			-1,525976245	63,94453928	0,13195	-0,11497	0,075342	-0,2654867	0,035455



Mann-Whitney Test

Y1	GRUPO	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Y1	1	34	28,61764717	973,0000038
	2	34	40,38235474	1373,0000061
Total		68		
Y2	1	34	27,33823586	929,5000191
	2	34	41,66176605	1416,500046
Total		68		
Y3	1	34	28,16176414	957,4999809
	2	34	40,83823395	1388,499954
Total		68		
Y4	1	34	31,0735302	1056,500027
	2	34	37,92647171	1289,500038
Total		68		



Test Statistics

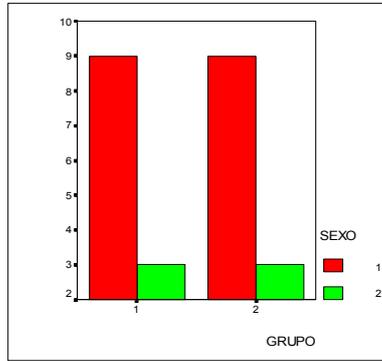
	Y1	Y2	Y3	Y4
Mann-Whitney U	378	334,5	362,5	461,5
Z	-2,453180987	-2,98674785	-2,643252062	-1,43200141
Asymp. Sig. (2-t)	0,01416	0,00282	0,00821	0,15214

a Grouping Variable: GRUPO

resultados amilase

GRUPO * SEXO Crosstabulation

GRUPO		SEXO		Total
		1	2	
1	Count	9	3	12
	% within GRU	75	25	100
2	Count	9	3	12
	% within GRU	75	25	100
Total	Count	18	6	24
	% within GRU	75	25	100



Descriptives

Y5	GRUPO	Statistic	Std. Error
1	Mean	761,5916667	8,845658226
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	742,1225042
		Upper Bound	781,0608292
	5% Trimmed Mean	764,1285185	
	Median	759,865	
	Variance	938,9480333	
	Std. Deviation	30,64225895	
	Minimum	680,9	
	Maximum	796,62	
	Range	115,72	
	Interquartile Range	36,0875	
	Skewness	-1,580633367	0,637302005
2	Kurtosis	4,196453891	1,232246474
	Mean	759,0025	2,316860181
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	753,9031251
		Upper Bound	764,1018749
	5% Trimmed Mean	759,05	
	Median	761,16	
	Variance	64,41409318	
	Std. Deviation	8,025839095	
	Minimum	745,63	
	Maximum	771,52	
	Range	25,89	
	Interquartile Range	14,8925	
Skewness	-0,229804475	0,637302005	
Kurtosis	-1,107187317	1,232246474	

Tests of Normality

Y5	GRUPO	Kolmogorov-Smirnov Statistic	df	Sig.
1	1	0,279017375	12	0,01050
	2	0,189298942	12	0,20000

* This is a lower bound of the true significance.
a Lilliefors Significance Correction

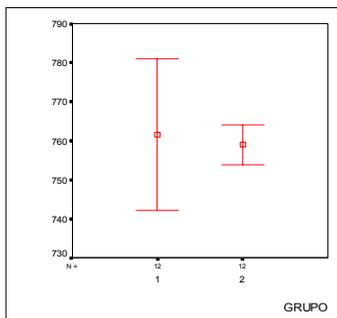
T-Test

Group Statistics

Y5	GRUPO	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
1	1	12	761,5916667	30,64225895	8,845658226
	2	12	759,0025	8,025839095	2,316860181

Independent Samples Test

Y5	Levene's Test for Equality of Variances	F	Sig.	t-test for Equality of Means		95% Confidence Interval of the Difference				
				t	df	Sig. (2-tail)	Mean Difference	Lower	Upper	
1	Equal variances	3,574292826	0,071924749	0,283153398	22	0,779707	2,589167	9,144042	-16,374416	21,55275
	Equal variances not assumed			0,283153398	12,5021832	0,781693	2,589167	9,144042	-17,245594	22,42393



Mann-Whitney Test

Y5	GRUPO	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1	1	12	13,25	159
	2	12	11,75	141
	Total	24		

Test Statistics

Y5	Mann-Whitney Z	Asymp. Sig. (2-t)
1	63	-0,52338352
2	0,600707393	

b Grouping Variable: GRUPO

**ANEXO 1 - AVALIAÇÃO SIALOQUÍMICA E SIALOMÉTRICA DOS INDIVÍDUOS
PORTADORES DE ANEMIA DE FANCONI**



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Curitiba, 20 de agosto de 2003.

Of. 150/2003

Ref. “Avaliação Sialoquímica e Sialométrica dos indivíduos portadores de anemia de fanconi.”

Prezado (a) Pesquisador (es),

Venho por meio desta informar a Vossa Senhoria que o Comitê de Ética em pesquisa do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde PUCPR, que no dia 20 de agosto do corrente ano aprovou o Projeto Intitulado “Avaliação Sialoquímica e Sialométrica dos indivíduos portadores de anemia de fanconi”, pertencente ao Grupo III, sob o registro no CEP nº 133 e será encaminhado ao CONEP para o devido cadastro. Lembro ao senhor (a) pesquisador (a) que é obrigatório encaminhar relatório anual parcial e relatório final a este CEP.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Emilio José Scheer Neto.
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo Sr.
Antônio Adilson Soares de Lima