



FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

**Artigo de Revisão Bibliográfica  
Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

**“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA DIÁLISE ATRAVÉS DE TESTES  
SALIVARES”**

---

Ana Catarina Bastos Oliveira

**Orientador:**

**Prof. Doutor Filipe Poças de Almeida Coimbra**



**Artigo de Revisão Bibliográfica  
Mestrado Integrado em Medicina Dentária**

**“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA DIÁLISE ATRAVÉS DE TESTES  
SALIVARES”**

Ana Catarina Bastos Oliveira

**Orientador:**

**Prof. Doutor Filipe Poças de Almeida Coimbra**

Universidade do Porto  
Faculdade de Medicina Dentária

*Dissertação de Revisão Bibliográfica*

*Área Científica: Medicina Oral*

**“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA DIÁLISE ATRAVÉS DE TESTES  
SALIVARES”**

**Estudante**

**Nome Completo:** Ana Catarina Bastos Oliveira

**Nº de Estudante:** 071301049

**Correio eletrónico:** ana.cb.oliveira@hotmail.com

**Orientador:**

**Nome:** Prof. Doutor Filipe Poças de Almeida Coimbra

**Grau académico:** Doutorado

**Título profissional:** Médico Dentista

**Instituição a que está vinculado:** FMDUP

## *Dedicatórias*

Aos meus pais,

Pelo apoio e paciência ao longo destes anos de Faculdade.

Ao meu irmão João,

Pela alegria contagiante e os momentos de felicidade proporcionados.

Ao meu avô e à minha avó,

Pelas ajudas dadas, pela confiança, pela lição de vida  
e por todos os dias que estivemos juntos.

À minha restante família e amigos,

Pela compreensão nos momentos de desânimo e pela força para ultrapassar os obstáculos.

Ao meu namorado Marlo,

Pela constante presença na minha vida.

## *Agradecimentos*

Ao Prof. Doutor Filipe Poças de Almeida Coimbra,  
Pelo tempo e disponibilidade cedida para a realização deste trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Otília Adelina Pereira Lopes,  
Pelo auxílio na escolha do tema e pelo esforço concedido para a execução desta monografia.

Às minhas amigas Ana Sofia, Catarina, Liliana, Mónica e Susana,  
Pela dedicação, pela amizade e pela paciência despendida ao longo destes anos.

## *Lista de Abreviaturas*

**IRC:** Insuficiência Renal Crónica

**FMDUP:** Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

**CKD:** Chronic Kidney Disease

**NKF KDOQI:** The National Kidney Disease Outcomes Quality Initiative

**TFG:** Taxa de filtração glomerular

**HD:** Hemodiálise

**DP:** Diálise Peritoneal

**AGE's:** Advanced glycation end-products

**Kt/Vureia:** Índice de remoção de ureia durante a Diálise

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Nitritos

**NO:** Óxido Nítrico

**NADH:** Nicotinamide adenine dinucleotide (forma reduzida)

**NAD<sup>+</sup>:** Nicotinamide adenine dinucleotide (forma oxidada)

**Cu (I):** Ião cobre no primeiro estado de oxidação

**Cu (II):** Ião cobre no segundo estado de oxidação

## Índice

---

I-	<b>Resumo .....</b>	<b>3</b>
II-	<b>Abstract .....</b>	<b>5</b>
III-	<b>Introdução .....</b>	<b>7</b>
IV-	<b>Materiais e Métodos .....</b>	<b>10</b>
V-	<b>Desenvolvimento .....</b>	<b>12</b>
	<b>1. Disfunção renal.....</b>	<b>12</b>
	<b>2. Diálise .....</b>	<b>12</b>
	<b>3. Saliva.....</b>	<b>14</b>
	<b>4. Comparação entre os parâmetros salivares e plasmáticos nos dialisados.....</b>	<b>16</b>
	4.1.Nitritos (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ).....	16
	4.2.Ácido úrico .....	17
	4.3.Ureia.....	17
	<b>5. Aplicação de testes salivares para avaliação da eficácia da diálise .....</b>	<b>18</b>
	<b>6. Métodos de avaliação das substâncias na saliva .....</b>	<b>21</b>
VI-	<b>Discussão.....</b>	<b>25</b>
VII-	<b>Conclusão .....</b>	<b>29</b>
VIII-	<b>Bibliografia.....</b>	<b>31</b>

## **I – Resumo**

## **I – Resumo**

---

**Introdução:** Os pacientes com disfunção renal crónica têm muitas alterações fisiológicas associadas que se refletem na composição sanguínea. A Insuficiência Renal Crónica (IRC) é uma patologia caracterizada pela perda lenta, evolutiva e irreversível da função dos rins. A diálise é uma terapia de suporte artificial aplicada em casos avançados de IRC. A saliva foi proposta como meio de avaliação da eficácia da diálise, uma vez que as variações da composição do plasma causadas por este tratamento se refletem no fluido salivar. Estabeleceram-se três metabolitos para avaliar a função renal através da saliva, os nitritos, o ácido úrico e a ureia.

**Objetivos:** Avaliar se a eficácia da diálise pode ser analisada através de um estudo salivar dos pacientes submetidos à diálise.

**Material e Métodos:** Foram utilizados estudos relacionados com o tema encontrados através dos motores de busca PUBMED, e MEDLINE e da base de dados da biblioteca da FMDUP.

**Desenvolvimento:** Nos artigos utilizados são propostos vários processos enzimáticos e não-enzimáticos para avaliar a quantidade de metabolitos na saliva. Estes métodos colorimétricos têm como base a cromatografia de papel, em que pela intensidade da cor se pode avaliar a concentração das substâncias na saliva.

**Conclusões:** As técnicas descritas na literatura podem ser usadas para monitorizar os valores dos nitritos, ácido úrico e ureia na saliva e correlacionar com a eficácia da diálise.

**Palavras-Chave:** IRC, Saliva, Diálise, Hemodiálise, Diálise Peritoneal, Ácido Úrico, Ureia, Nitritos.

## **II - Abstract**

## II - Abstract

---

**Introduction:** Patients with chronic renal failure have biochemical changes that are reflected in serum composition. Chronic Kidney Disease (CKD) is accompanied by slow, progressive and irreversible alterations in kidney function. Dialysis is a renal replacement therapy applied in advanced cases of CKD. The analysis of saliva has been proposed as a mean of assessing the effectiveness of dialysis because variations in serum composition during this treatment are reflected in the saliva. Most characteristic are the salivary changes occurring in the concentration of nitrites, uric acid and urea.

**Objectives:** The aim of this present work is to review published data on the reliability of salivary biochemical parameters to assess dialysis efficiency.

**Material and Methods:** Studies related to this issue were found through the search engines PUBMED, MEDLINE and the FMDUP's library database.

**Development:** In many revised papers various enzymatic and non-enzymatic methods are recommended to assess the amount of nitrites, uric acid and urea in the saliva. These colorimetric methods are based on chromatographic paper data and the color intensity reflects the concentration of the substances in saliva.

**Conclusions:** The proposed techniques can be used to monitor the contents of different metabolites in saliva and thus evaluate the results of dialysis.

**Keywords:** CKD, Saliva, Dialysis, Hemodialysis, Peritoneal Dialysis, Uric Acid, Urea, Nitrites.

## **III - Introdução**

### III – Introdução

---

A Insuficiência Renal Crónica (IRC) é uma patologia caracterizada pela perda lenta, evolutiva e irreversível da função dos rins. A sua etiologia e evolução devem-se principalmente à diabetes *mellitus*, à hipertensão arterial e à glomerulonefrite <sup>[1,3]</sup>.

Apesar de uma grande controvérsia, foi estabelecido pela *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (NKF KDOQI) <sup>[4]</sup> que são Insuficientes Renais Crónicos (IRC) todos os indivíduos com lesão renal estrutural ou funcional presente há mais de três meses e/ou cuja taxa de filtração glomerular (TFG) é <60 mL/min/1.73m<sup>2</sup> há mais de 3 meses. Posto esta definição, foram estabelecidos cinco estadios para esta condição patológica <sup>[4]</sup>:

- Estadio 1: TFG  $\geq 90$  mL/min/1.73m<sup>2</sup>
- Estadio 2: TFG 60 – 89 mL/min/1.73m<sup>2</sup>
- Estadio 3: TFG 30 – 59 mL/min/1.73m<sup>2</sup>
- Estadio 4: TFG 15 – 29 mL/min/1.73m<sup>2</sup>
- Estadio 5: TFG <15 mL/min/1.73m<sup>2</sup> ou insuficiência renal tratada por diálise

Com o decorrer do processo patológico, o número de unidades funcionais do rim (nefrónios) diminui, o que conseqüentemente provoca a diminuição da taxa de filtração glomerular – volume de líquido filtrado para o espaço de *Bowman* por unidade de tempo. Como resultado, há um aumento da quantidade de produtos tóxicos do metabolismo presentes no sangue, causando uremia <sup>[2,3,5]</sup>. Os pacientes urémicos para conseguirem manter a homeostasia do corpo têm de fazer diálise, peritoneal ou hemodiálise, ou transplante renal <sup>[2,5]</sup>. Segundo a Sociedade Portuguesa de Nefrologia existem cerca de 14. 000 pacientes Portugueses em que a doença se encontra no estadio 5, estimando-se que em 2025 esta população atinja os 25.000 pacientes <sup>[6]</sup>.

A diálise causa desequilíbrios entre o número de substâncias pró-oxidantes e antioxidantes, levando a uma exposição contínua dos pacientes ao stress oxidativo - a formação de produtos de oxidação é superior à capacidade antioxidante celular <sup>[5,7,8]</sup>.

Atualmente há um grande interesse em obter um método fiável, indolor, não invasivo e rápido de obter informação acerca da eficácia da diálise, isto é, de verificar se a terapia aplicada a cada paciente está a ser efetiva na remoção dos metabolitos tóxicos como a ureia, creatinina, bicarbonato, ácido úrico, cálcio, fósforo, sódio e potássio <sup>[9,10]</sup>. Como o estudo destes parâmetros

na atualidade é maioritariamente realizado através do exame sanguíneo, a sua concentração é fácil de mensurar. A verificação destes dados clínicos permite avaliar a qualidade da diálise e proporciona informação clínica importante sobre a eficácia da técnica usada neste tratamento [11,12].

A saliva foi proposta por vários autores como sendo um fluido onde se poderia avaliar a eficácia da diálise, uma vez que as variações da composição do plasma causadas por este tratamento se refletem no fluido salivar. As concentrações salivares dos biomarcadores diminuem durante a diálise o que sugere que os testes salivares podem ser usados para avaliar a eficácia do tratamento [9,10].

Após a realização de vários estudos desde os anos 60, estabeleceram-se três metabolitos para avaliar a função renal através da saliva, os nitritos, o ácido úrico e a ureia [9,10].

Esta dissertação tem como objetivo avaliar se a eficácia da diálise pode ser analisada através de um estudo salivar dos pacientes submetidos a esta terapia.

## **IV - Materiais e Métodos**

## IV - Materiais e Métodos

Para a realização deste artigo foram utilizados estudos relacionados com o tema encontrados através dos motores de busca PUBMED, MEDLINE e da base de dados da biblioteca da FMDUP.

Foram excluídos artigos cuja população estudada era inferior a 12 indivíduos. Também foram recusados os artigos que incluía população pediátrica.

**Tabela I:** Estudos utilizados diretamente relacionados com o tema abordado.

<b>Artigo</b>	<b>Ano do estudo</b>	<b>Pacientes</b>
Shannon IL <i>et al</i>	1977	12 em Hemodiálise
Akai T <i>et al</i>	1983	15 em Hemodiálise
Sein K <i>et al</i>	1987	50 em Hemodiálise
Kho H, <i>et al</i>	1999	82 em Hemodiálise
Bots C <i>et al</i>	2007	94 em Hemodiálise
Walt D <i>et al</i>	2007	19 em Hemodiálise
Blicharz T <i>et al</i>	2008	43 em Hemodiálise
Bibi G <i>et al</i>	2008	12 em Diálise Peritoneal 11 em Hemodiálise
Tomás I <i>et al</i>	2008	50 em Hemodiálise
Cardoso E <i>et al</i>	2009	154 em CRF
Klasner S <i>et al</i>	2010	Estudo laboratorial
Bahaa A <i>et al</i>	2011	60 em Hemodiálise
Raimann J <i>et al</i>	2011	33 em Hemodiálise 1 em Diálise Peritoneal

## **V - Desenvolvimento**

## V - Desenvolvimento

---

### 1. Disfunção renal

Os pacientes com disfunção renal crónica têm muitas alterações fisiológicas associadas que se refletem na composição sanguínea <sup>[11,12]</sup>. Os indivíduos têm em circulação concentrações elevadas de produtos de degradação de proteínas, de compostos nitrogenados e hormonas polipeptídicas. Em termos gerais os pacientes com IRC têm alterações a nível endócrino, hematológico, dermatológico, imunológico, cardiovascular, neuromuscular e gastrointestinal <sup>[5,9,11]</sup>. Em termos orais, cerca de 90% dos pacientes com IRC sofre de uma ou mais alterações nos tecidos duros e moles da cavidade oral <sup>[1,5]</sup>. As alterações podem ser hipossialia, alterações de paladar, hálito urémico, inflamação e/ou equimoses na mucosa, doença periodontal, ulcerações orais e hipoplasia do esmalte <sup>[4,5,8]</sup>.

Os desequilíbrios na homeostasia corporal aumentam o risco para patologias de origem cardiovascular o que consequentemente aumenta a taxa de morbilidade e de mortalidade inerente a estes pacientes <sup>[11,14]</sup>.

As terapias aplicadas para a estabilização da insuficiência renal são por isso determinantes na qualidade de vida dos pacientes. Assim, é de extrema importância a aplicação de um tratamento adequado e individualizado.

### 2. Diálise

A diálise é uma terapia de suporte artificial aplicada em casos avançados de insuficiência renal. Os objetivos do seu uso são a diminuição da concentração de substâncias tóxicas acumuladas por défice da função renal e eliminação do excesso de fluidos corporais. Desta forma tenta-se restaurar a homeostasia corporal do paciente <sup>[11,14]</sup>.

Na hemodiálise (HD) o stress oxidativo é atribuído a vários fatores. Uma das causas é a produção de espécies reativas de oxigénio na membrana de diálise pela ativação dos leucócitos polimorfonucleares, sendo a sua intensidade determinada por vários fatores como o tempo de duração da terapia, a causa primária da falência renal, a intensidade da inflamação crónica, o tipo de dieta e toxinas ambientais <sup>[5,7,8,9]</sup>. Outras origens para o problema são a promoção da peroxidação lipídica e a redução da quantidade de antioxidantes no plasma, como a vitamina E e C e o ácido úrico, e ainda a redução da capacidade antioxidante total <sup>[15]</sup>.

Na diálise peritoneal (DP), o aumento do stress oxidativo é resultado da combinação de dois fatores: a acumulação de glicose no fluido dialítico peritoneal (PDF) e o aumento dos produtos finais da glicação (AGE's) resultantes da degradação das proteínas não enzimáticas. Os AGE's possuem estruturas complexas e têm capacidade de estabelecer ligações com polipeptídeos. Estas ligações aumentam a atividade oxidativa e promovem a acumulação de proteínas plasmáticas ou intersticiais não glicosiladas, o que agrava o risco do desenvolvimento de aterosclerose <sup>[14]</sup>. A progressiva degradação da permeabilidade da membrana peritoneal induz também a produção de radicais oxidativos <sup>[14]</sup>.

Na HD, o decréscimo das substâncias tóxicas é causado pela filtração do sangue através de uma membrana artificial <sup>[16]</sup>, enquanto na DP o fluido sanguíneo é filtrado através de uma membrana fisiológica, a membrana peritoneal <sup>[17,18]</sup>. Ambas as modalidades podem ser instituídas continuamente ou de forma intermitente, sendo a dose ajustada de acordo com as características do paciente e o tipo de terapia a realizar <sup>[13,17,19]</sup>.

A HD é um tratamento mais efetivo na remoção de pequenas moléculas ao contrário da DP que é mais efetiva na remoção de moléculas de alto peso molecular <sup>[20]</sup>.

As duas vertentes deste tipo de tratamento devem ser monitorizadas, e como tal, desde cedo se tentou desenvolver o método mais fiável para a realização desta tarefa. O conceito teórico da eficácia da diálise é baseado no balanço da quantidade de solutos durante a sessão de tratamento <sup>[11,12]</sup>. O índice mais utilizado a nível mundial para avaliar a terapia de substituição renal é a dose da diálise que se define por remoção de solutos (K) durante um determinado tempo (t) <sup>[18,21]</sup>. Gotch F <sup>[22]</sup> desenvolveu um método de quantificação da diálise baseado na ureia, que permitia adequar a dose da diálise a cada paciente e avaliar o seu impacto nos resultados do tratamento <sup>[22]</sup>. Esta forma de quantificação era realizada em laboratório através de amostras sanguíneas onde se determinava a eficácia da diálise tendo em conta valores tabelados:

- $Kt/V_{ureia} \leq 0.8$ : Insucesso terapia
- $Kt/V_{ureia} > 0.9$ : Sucesso terapia

Atualmente preconiza-se que um  $Kt/V_{ureia}$  entre 1 e 1,2 é aceitável e só pacientes que se encontram dentro deste intervalo têm a sua taxa de morbilidade reduzida <sup>[22]</sup>.

Este método de avaliação da diálise está no entanto dependente da recolha de amostras sanguíneas, o que para muitos pacientes não colaborantes, como crianças e idosos, é causa de grande transtorno emocional <sup>[10,22]</sup>. As anemias, que contribuem muito para a morbilidade destes

pacientes, podem ser agravadas pelo aumento de colheitas sanguíneas, o que também se revela uma desvantagem para a análise do sangue <sup>[10,22,23]</sup>. Conscientes destas realidades vários autores ao longo dos anos foram sugerindo outros métodos para a avaliação da eficácia da diálise.

### 3. Saliva

A saliva foi um dos fluídos corporais proposto como meio para monitorização da terapia artificial de substituição renal <sup>[24]</sup>. Ao longo dos anos a saliva foi ganhando importância como meio de avaliação da homeostasia corporal, sendo para verificar a existência de patologias sistémicas, para monitorizar o resultado de tratamentos administrados ou para avaliar a progressão de doenças sistémicas. Isto pois é um fluido cujo método de recolha é fácil, não-invasivo, rápido e indolor <sup>[10, 22, 23, 24,25, 26,27]</sup>.

A saliva é um fluido exócrino heterogéneo excretado pelas glândulas salivares <sup>[10,28]</sup>. Nestas glândulas encontram-se diferentes tipos de células, as células acinares, as células do sistema ductal e as células mioepiteliais, que exercem funções diferentes. As células acinares excretam a saliva, sendo por isso responsáveis pelo tipo de saliva secretado em cada glândula. As células ductais são classificadas em três tipos: intercalares, estriadas e secretoras. As células intercalares não participam na secreção salivar ao contrário das estriadas e secretoras que modificam a concentração dos diferentes eletrólitos na saliva. As células mioepiteliais, quando estimuladas, contraem provocando a saída do fluido salivar para a cavidade oral <sup>[22,23,28,29]</sup>.

As glândulas parótidas são constituídas por células acinares serosas, as glândulas sublinguais e *minor* têm células acinares mucosas que produzem muco e imunoglobulinas. Por último, as glândulas submandibulares têm na sua composição células acinares serosas e mucosas <sup>[28,29]</sup>.

Os agregados de diferentes células vão criando ductos estriados que formam a glândula. É ao longo destes ductos que a composição da saliva vai sendo alterada pela absorção de cloreto de sódio, potássio, proteínas e fatores de crescimento provenientes do plasma <sup>[10,28,29]</sup>.

A heterogeneidade da composição salivar deve-se às diferentes moléculas que a compõe, nomeadamente, proteínas (como as imunoglobulinas), glicoproteínas, pequenas moléculas orgânicas (como a ureia e ácido úrico), eletrólitos (como o sódio, o potássio, os fosfatos e o bicarbonato) e compostos transportados do sangue. Em condições não-patológicas, cada uma destas substâncias é expressa em baixas concentrações e tem funções específicas <sup>[8,28,29,30,31]</sup>. A água é o principal composto da saliva, representando cerca de 99% da sua composição <sup>[28,29]</sup>.

O fluido salivar total é constituído por fluidos provenientes da mucosa orofaríngea, componentes do fluido crevicular e restos alimentares [28,29]. O fluido crevicular, segundo Chiappin S *et al* [23], é considerado um transudado do plasma, pois nele são secretados vários produtos contidos no plasma sanguíneo [23,32,33].

A concentração salivar das diferentes substâncias é dependente da quantidade de fluido excretado, não sendo a saliva considerada um ultrafiltrado sanguíneo [34].

No plasma sanguíneo, as concentrações dos diferentes compostos associados a alterações patológicas estão bem determinadas. O mesmo não acontece na saliva uma vez que a quantidade e o tipo de substâncias implicadas numa desordem sistémica têm uma expressão muito variável decorrente de variações fisiológicas [10,15]. Consequentemente não se estabeleceram até então valores de referência para a composição salivar de indivíduos saudáveis, encontrando-se na literatura valores muito díspares das mesmas substâncias em estudos clínicos semelhantes.

Fisiologicamente os eletrólitos passam da via sanguínea para a saliva [10,23,28,29]. Isso é proporcionado pela alta permeabilidade dos vasos sanguíneos que circundam as glândulas salivares permitindo que as moléculas atravessem as membranas basais das células com facilidade [10,11,23,34]. As membranas existentes entre a circulação sanguínea e o interior das células dos ductos estriados permitem a passagem das substâncias do plasma para a saliva por três meios [23,29]:

1. Transporte paracelular através de junções comunicantes entre células secretoras. Nestes casos as substâncias transportadas são de baixo peso molecular e encontram-se em concentrações muito baixas na saliva comparativamente às do plasma;
2. Transudação de compostos plasmáticos para o fluido crevicular;
3. Transporte seletivo através das membranas celulares: difusão passiva de moléculas lipofílicas ou difusão ativa através dos canais proteicos.

As alterações da homeostasia corporal refletem-se na composição do sangue que por sua vez influencia a constituição salivar. A concentração de diferentes substâncias na saliva é sempre proporcional à concentração sanguínea das mesmas em estado livre ou não-ligado. Em algumas situações a concentração salivar dos componentes é superior à sanguínea mas a proporcionalidade mantém-se [24,27,29]. Foi com base neste conhecimento da fisiologia das glândulas salivares que propuseram a saliva como meio de avaliação da eficácia da diálise.

As alterações bioquímicas e os parâmetros imunológicos inerentes à IRC são refletidos na saliva, e havendo uma correlação positiva alta ( $0.8 \leq r < 1$ ) entre os valores encontrados no sangue e no fluido salivar pode-se instituir uma análise fiável para avaliação do estado fisiológico de um indivíduo [9,10,23,25,27,32,34,35].

#### 4. Comparação entre os parâmetros salivares e plasmáticos nos dialisados

Nos pacientes urémicos há um sem número de substâncias cuja concentração sanguínea está alterada por inadequação de depuração renal [2,3,6,7,9,10,14]. É uma condição patológica muito associada à evolução da patologia do rim.

A diálise agrava este quadro uma vez que o sangue ao atravessar as membranas biocompatíveis gera uma força de cisalhamento que origina e aumenta a quantidade de produtos oxidativos [13]. Ao longo dos anos foram surgindo diferentes tipos de membranas cuja compatibilidade é maior, não se conseguindo no entanto eliminar por completo a formação destes produtos [7,17].

Durante o tratamento de diálise, ocorrem muitas modificações na composição e quantidade de fluido salivar. Os nitritos, o ácido úrico e a ureia são três metabolitos cujas concentrações estão alteradas nos pacientes com IRC [11,14,22,36].

##### 4.1. Nitritos ( $NO_2^-$ )

O óxido nítrico (NO) é um gás solúvel, responsável pelo controlo do tónus muscular, produzido pelas células endoteliais, macrófagos e neurónios [37]. Contribui para o stress oxidativo uma vez que é produzido pelo aumento do fluxo sanguíneo e pelo aumento do stress de cisalhamento na HD [38]. Em indivíduos que estão a fazer este tipo de tratamento, para além desta via de produção de NO, há que considerar a ingestão de produtos com esta substância. O NO é uma molécula altamente instável na presença de oxigénio, e em locais como na cavidade oral, reage formando dióxido de azoto, nitratos e nitritos [37,39]. A quantidade de nitritos varia diretamente com o a quantidade da sua ingestão [37,39,40]. Os nitratos são absorvidos no trato gastrointestinal, concentrados no plasma e secretados na saliva através das glândulas salivares *major* (parótida, sub-mandibular e sub-lingual) e *minor* [37,41]. Esta secreção é realizada por transporte ativo [38,42]. Os níveis de nitritos na saliva são 10 a 20 vezes superiores aos detetados no plasma. Em pacientes dialisados, os níveis de nitritos são superiores aos fisiológicos. Apesar de todas as implicações clínicas que esta situação possa traduzir, os níveis elevados de nitritos

são benéficos em termos orais pois diminuem a suscetibilidade a infeções nos tecidos moles e duros<sup>[40]</sup>.

#### 4.2. Ácido úrico

O ácido úrico, produto final da degradação das purinas, é um ácido orgânico fraco<sup>[36,43]</sup>. É um fator de risco para a evolução da patologia do rim na população em geral e faz parte da primeira linha de defesa nos fluidos extracelulares contra o stress oxidativo<sup>[44]</sup>. Bahaa A *et al*<sup>[36]</sup> acrescentam que em pacientes com IRC a diminuição da concentração de ácido úrico no plasma é um indicador de diminuição de dano renal. Sendo um antioxidante, quando está presente no plasma a concentração de nitritos e nitratos diminui<sup>[36]</sup>. O ácido úrico é um metabolito endógeno excretado pelo rim ou eliminado pela máquina de diálise. Estes metabolitos das purinas são responsáveis por distúrbios no metabolismo da Vitamina D e Calcitriol, que contribuem para o estado de imunossupressão encontrado em pacientes hemodialisados. Além disto, há relatos de associação entre o ácido úrico, a falta de apetite e a perda de peso em pacientes no estado final de progressão da doença renal<sup>[36]</sup>.

A concentração de ácido úrico varia inversamente com a quantidade de saliva produzida e é excretado em diferentes concentrações pelas glândulas salivares: glândula parótida: 1.7 – 4.0 mg/100 mL; glândulas submandibulares: 1.3 – 3.3 mg/100 mL<sup>[26]</sup>. O seu transporte para estas glândulas dá-se por difusão passiva, ou seja, a favor do gradiente de concentração<sup>[10,16,26]</sup>.

#### 4.3. Ureia

A ureia, principal produto final da degradação das proteínas, é uma substância com elevado interesse clínico uma vez que representa um parâmetro para a avaliação do funcionamento renal. Além disto, dá informação sobre o estado nutricional dos pacientes em diálise. Variações muito grandes nos níveis de ureia são indicadoras de má nutrição<sup>[45]</sup>. A concentração salivar de ureia em indivíduos saudáveis é de 3.3 mmol/L e 2.2 mmol/L para saliva não-estimulada e estimulada, respetivamente<sup>[8]</sup>.

A passagem da ureia plasmática para as glândulas salivares é realizada através de difusão passiva<sup>[35,37,41]</sup>. A concentração deste metabolito na glândula é independente do fluxo salivar, mas está, segundo Cardoso E *et al*<sup>[26]</sup>, aproximadamente igual à concentração plasmática<sup>[26]</sup>.

## 5. Aplicação de testes salivares para avaliação da eficácia da diálise

Com a descoberta de diferentes formas de avaliação de substâncias a nível salivar, verificou-se a oportunidade de avaliar se é possível detetar a evolução da doença renal através de marcadores na saliva. Isto porque o fenótipo da doença é bem conhecido, assim como os efeitos dos marcadores sanguíneos<sup>[9]</sup>. Assim, alguns autores decidiram pôr em prática várias pesquisas para determinar a eficácia destes testes salivares na avaliação da progressão da doença renal crónica<sup>[9,10,15,16,25,27,33,34,46]</sup>.

Walt D *et al*<sup>[25]</sup> decidiram verificar quais as substâncias mais fiáveis para realizar a monitorização da doença renal através da saliva<sup>[25]</sup>. No seu estudo incluíram diversas proteínas, iões, ácidos nucleicos, enzimas e consideraram ainda o pH. Recolheram saliva antes e após a diálise e correlacionaram os valores de cada substância estudada. Concluíram que o ácido úrico e os nitritos seriam as substâncias que apresentavam melhor consistência para avaliar o êxito do tratamento, uma vez que de todas as estudadas eram as que apresentavam um maior decréscimo da concentração ao longo do processo<sup>[25]</sup>. Walt D *et al*<sup>[25]</sup> alegam que a análise combinada do ácido úrico e os nitritos é suficiente para detetar a necessidade de tratamento por diálise em doentes renais crónicos. No mesmo estudo concluem que a monitorização dos pacientes através destes testes é segura<sup>[25]</sup>. Noutro estudo realizado por Blicharz T *et al*<sup>[10]</sup> verificaram-se resultados concordantes com os anteriormente obtidos<sup>[10]</sup>. Na investigação utilizaram 43 amostras de saliva de pacientes em Hemodiálise regular. Concluíram que através do método que desenvolveram conseguiram obter um método semi-qualitativo que permitia avaliar a eficácia da diálise através da medição em simultâneo da concentração de nitritos e ácido úrico<sup>[10]</sup>.

O ácido úrico está em concentração superior no plasma em indivíduos com insuficiência renal crónica pois como é um antioxidante contrabalança o estado pró-oxidativo gerado pela IRC (Tabela II). Esta substância não apresenta uma concentração salivar e plasmática igual, mas ambas encontram-se correlacionadas positivamente ( $r=0.86$  segundo Bahha T *et al*)<sup>[9]</sup>.

A concentração de nitratos existente na cavidade oral é dependente da quantidade de produto existente na circulação sanguínea, mas sobretudo da quantidade de nitratos ingeridos<sup>[39,41,42]</sup>. Estima-se que cerca de 25% dos nitratos de origem exógena seja expresso na saliva através da sua passagem para as glândulas salivares<sup>[10]</sup>. Na cavidade oral os nitratos ingeridos são transformados em nitritos pelas bactérias orais<sup>[41,42,47]</sup>. Em 1987 Spiegelhalder B *et al*<sup>[34]</sup> consideraram que a medição dos nitratos salivares podiam providenciar um índice válido convencional para estudos epidemiológicos<sup>[34]</sup>.

**Tabela II:** Concentração de ácido úrico no plasma e na saliva de pacientes saudáveis e com IRC

	Pacientes Saudáveis		Pacientes com IRC	
	Saliva não estimulada	Plasma sanguíneo	Saliva não estimulada	Plasma sanguíneo
<b>Bahha A et al</b> <sup>[9]</sup>	1.24±0.38µmol/L	2.58±0.76µmol/L	1.63±0.51µmol/L	3.33±0.39µmol/L
<b>Blicharz T et al</b> <sup>[10]</sup>	160µmol/L	*	202 µmol/L	*
<b>Bem-Zvi I et al</b> <sup>[16]</sup>	*	*	2.98µmol/L	6.24µmol/L

\* O estudo não contemplava este valor.

Vários autores relatam diferentes valores para a concentração de nitritos na saliva de indivíduos saudáveis, dependentes do tipo de dieta alimentar que cada população efetua (Tabela III).

**Tabela III:** Concentração de nitritos na saliva em indivíduos saudáveis

<b>Blicharz T et al</b> <sup>[19]</sup>	75.2µmol/L
<b>Tenovuo J et al</b> <sup>[42]</sup>	30-210 µmol/L
<b>Ferguson D et al</b> <sup>[47]</sup>	70.7µmol/L

Na diálise, tanto os nitratos como os nitritos são removidos do sangue, pelo que se preconiza que a avaliação dos NO<sub>2</sub><sup>-</sup> seja um marcador seguro para avaliar a eficácia do tratamento imposto <sup>[10]</sup>. Isto porque após o tratamento, a quantidade de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> salivar desce bruscamente para valores entre 1 e 40 µmol/L, ou seja para valores inferiores aos registados em alguns estudos para a população saudável (Tabela III) <sup>[10]</sup>.

Outro marcador que tem sido utilizado para avaliação da eficácia da diálise é a ureia. Este produto de degradação das proteínas desde sempre foi usado para avaliar em meio sanguíneo a eficácia da diálise. Epstein *et al* <sup>[14]</sup>, num estudo realizado em 1980, concluíram que a maior produção de tártaro em pacientes com insuficiência renal crónica era decorrente o aumento da concentração de potássio, fosfato, cálcio e ureia no sangue e na saliva <sup>[14]</sup>.

Desde os anos 20 que vários autores propõem a correlação entre a concentração de ureia salivar e sanguínea uma vez que não são iguais nos dois fluidos (Tabela IV) <sup>[46]</sup>. Sein K *et al* <sup>[48]</sup> correlacionaram positivamente as concentrações salivares e sanguíneas de ureia antes e depois

**Tabela IV:** Concentração de ureia na saliva e no plasma de pacientes saudáveis e pacientes com IRC

	Paciente Saudáveis		Pacientes com IRC	
	Saliva não-estimulada	Plasma sanguíneo	Saliva não-estimulada	Plasma sanguíneo
<b>Battino M <i>et al</i></b> [32]	40-240 µmol/L	*	*	*
<b>Cardoso E <i>et al</i></b> [26]	5.36±1.43mmol/L	5.53±1.40 mmol/L	17.86±5.98mmol/L	19.00±6.61 mmol/L
<b>Tomás I <i>et al</i></b> [35]	7.56±3.93 µmol/L	5.51±1.04 mmol/L	17.03±18.48 µmol/L	18.8±17.88 mmol/L
<b>Bots CP <i>et al</i></b> [11]	5.7 mmol/L	5.0 mmol/L	*	*
<b>Bibi G <i>et al</i></b> [15]	*	*	*	193.1±18.3 µmol/L

\*O estudo não contemplava este valor.

das sessões de Hemodiálise (Tabela V), entrando em concordância com os resultados obtidos por Akai T *et al* [49]. No plasma a quantidade de ureia presente é proporcional à quantidade de proteínas existentes [26,11]. Como na IRC a quantidade de proteínas no plasma é superior decorrente da menor excreção de urina, a concentração salivar de ureia também é superior relativamente aos indivíduos saudáveis (Tabela VI).

**Tabela V:** Correlação entre a concentração de ureia no plasma e na saliva

Estudo	Correlação obtida (r)
Cardoso E <i>et al</i> [26]	0.91
Shannon IL <i>et al</i> [46]	0.95
Raimann J <i>et al</i> [27]	0.63
Akai T <i>et al</i> [49]	0.93
Sein K <i>et al</i> [48]	0.99

A ureia salivar, assim como a ureia sanguínea, é um indicador irrefutável da função renal. No entanto, há uma desvantagem quando se usa este indicador para avaliar a função dos rins. Na cavidade oral, ocorre a degradação de ureia por via enzimática originada pelas bactérias orais produtoras de urease (maioritariamente *Streptococcus*) [26,27].

Tomás I *et al* [35], num estudo realizado em 28 indivíduos, concluíram que a concentração de ureia após uma sessão de hemodiálise decresce até cerca de 60% relativamente à concentração pré-dialítica (Tabela VI). A eficácia deste tratamento pode segundo estes autores ser determinada através de testes salivares uma vez que a ureia passa proporcionalmente da circulação sanguínea para as glândulas salivares por difusão passiva [35].

**Tabela VI:** Concentração salivar de ureia antes e após sessões de Hemodiálise

	Pré- Dialítica	Pós-Dialítica
<b>Ben-Zvi I <i>et al</i></b> <sup>[16]</sup>	9.34µmol/L	1.38µmol/L
<b>Bots C <i>et al</i></b> <sup>[11]</sup>	24.7±7.0 mmol/L	10.5±3.4 mmol/L
<b>Shannon IL <i>et al</i></b> <sup>[46]</sup>	99.55 µmol/L	52.94 µmol/L

## 6. Métodos de avaliação das substâncias na saliva

Diferentes autores propõem métodos de deteção das substâncias na saliva. Consoante o composto a analisar e o objetivo da sua utilização são indicados pelos cientistas distintas formas de dispositivos.

Em várias investigações clínicas, que testaram a capacidade de avaliar a eficácia da diálise através de amostras salivares, foram usadas técnicas com base em métodos colorimétricos. A análise do ácido úrico neste sistema é semi-quantitativa uma vez que o resultado da reação química é lido no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 546nm, o que nos permite posteriormente calcular a concentração de ácido úrico na saliva. O ácido úrico é transformado pela uricase em alantoína e peróxido de hidrogénio, que por sua vez oxida o cromogénio (4 aminofenazona/ESPT) dando origem a um composto vermelho. A intensidade da cor é proporcional à concentração de ácido úrico presente na amostra <sup>[9,15,16,50]</sup>.

Walt D *et al* <sup>[25]</sup> desenvolveram um método de avaliação do ácido úrico também baseado na cromatografia de papel através do método do quelato bicinconinato de sódio. Neste processo o contacto do ácido úrico com a tira de teste, promove a redução do Cu (II) a Cu (I) que forma o quelato bicinconinato de sódio. Forma-se então um precipitado de coloração violeta que consoante a intensidade de cor reflete uma concentração diferente. Estas fitas de papel têm uma escala de cor padronizada que faz a ligação entre uma determinada concentração de ácido úrico e um dos tons da escala <sup>[25]</sup>. Blicharz T *et al* <sup>[10]</sup> utilizaram este mesmo método para avaliar a eficácia da diálise através da medição da concentração de ácido úrico <sup>[10]</sup>.

Foi também desenvolvido por Walt D *et al* <sup>[25]</sup> um método de avaliação da concentração de nitritos que posteriormente foi implementado por Blicharz T *et al* <sup>[10]</sup> no seu estudo. Usou-se a Cromatografia de papel tendo com base a reação de Griess. Nesta reação quando uma amostra de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> entra em contacto com o papel reage com o ácido cítrico impregnado transformando os nitritos em ácido nitroso. Este reage com a sulfanilamida formando um diazoto composto que por sua vez reage com cloridrato de N-(1-naftil)etilenodiamina. Ocorre então a produção de uma

substância vermelho, cuja intensidade varia consoante a concentração de nitritos que se encontra na amostra.

Cardoso VF *et al* <sup>[51]</sup> desenvolveram ainda um microdispositivo biológico que mede a concentração de ácido úrico na saliva instantaneamente. Estes autores propuseram apesar de não terem comprovado no estudo que o dispositivo também podia ser usado na medição de ureia na saliva <sup>[51]</sup>. É um dispositivo baseado no método de deteção colorimétrica pela absorção ótica da mistura entre as amostras salivares e o reagente para o ácido úrico <sup>[51]</sup>. Este protótipo é composto por duas matrizes, uma fluídica e outra elétrica, conjugadas num único chip. Para a medição do ácido úrico, coloca-se o dispositivo em contacto com a amostra de saliva depois de esta ser misturada com um reagente adequado para o metabolito. Este método baseia-se nas medições do espectrofotómetro ótico e incorpora um sistema de mistura com base na corrente acústica, que aumenta a reação dos líquidos, devido ao aquecimento e agitação das partículas. Os fluidos absorvem as ondas acústicas geradas pelo material piezoelétrico, que provoca agitação do fluido. A corrente acústica é fornecida por uma película de PVDF  $\beta$ -piezoelétrico depositado sob a matriz fluídica. Além disso, nesta matriz estão incorporados componentes eletrónicos para a deteção, leitura e processamento do sinal <sup>[51]</sup>.

Ao longo dos anos foram desenvolvidas técnicas para a medição da ureia na saliva. Em 1977, Shannon IL *et al* <sup>[46]</sup> mediram a concentração de ureia na saliva através do método colorimétrico diacetil-monoxima. Neste forma-se o cromogéneo designado diazina (púrpura) que é doseado através do espectrofotómetro, dando assim os valores da ureia na saliva. Porém, este método pode dar falsos resultados uma vez que sofre reações com outros compostos nitrogenados da saliva <sup>[46]</sup>. Assim, o método enzimático usado por Akai T *et al* <sup>[49]</sup> em 1983 revela-se mais específico. Estes autores aplicaram a cromatografia de papel para medição da ureia na saliva. O papel tem urease que cliva a ureia em amónia e dióxido de carbono. A amónia reage com a água convertendo-se num composto de hidróxido de amónio que aumenta o pH da solução. A alteração do pH leva a uma alteração de cor da solução que é dependente da concentração de ureia na saliva <sup>[49]</sup>. Em 2011, Raimann JG *et al* <sup>[27]</sup> aplicaram este teste para a doença crónica renal e obteve resultados significativos <sup>[27]</sup>.

Outros autores <sup>[11,48]</sup> propuseram ainda outro método enzimático para a medição deste eletrólito. Para isso usaram a enzima urease acoplada ao glutamato desidrogenase. Nesta reação, a ureia degrada-se em amónio e dióxido de carbono. Por sua vez a amónia reage com o  $\alpha$ -cetoglutarato para oxidar o NADH a NAD<sup>+</sup>. A diminuição da concentração de NADH, que é obtida por medições no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 340 nm, é proporcional

à concentração de ureia na amostra. Segundo os autores, esta forma de avaliação da ureia na saliva é melhor que as outras pois elimina as interferências causadas pelas desidrogenases e pela amónia presentes nas amostras <sup>[11,48]</sup>.

## **VI - Discussão**

## VI - Discussão

---

Vários autores <sup>[9,26,27,35,46,48,49]</sup> demonstraram ao longo dos anos que a correlação entre as concentrações de ureia, ácido úrico e nitritos no plasma e na saliva é positiva e alta ( $0.8 \leq r < 1$ ), o que permite a aplicabilidade de testes salivares na monitorização dos tratamentos de diálise.

A utilização de medições das concentrações de determinados metabolitos para avaliar a eficácia da hemodiálise está bem documentada, especialmente com o uso da ureia como fator de mensuração. Apesar da quantidade de indivíduos utilizados em cada estudo ser muito díspar, pode-se verificar que há evidência científica suficiente para concluir que os testes salivares são efetivos e um bom indicador do estado fisiológico de cada paciente.

Pelo contrário, a determinação da eficácia da diálise peritoneal através da saliva está pouco descrita. O primeiro estudo em que se avaliaram as alterações salivares oxidativas em pacientes em DP foi em 2008. Apesar de a amostra ser pequena, os autores sugeriram que a monitorização do ácido úrico salivar é suficiente para avaliar estado oxidativo dos pacientes com IRC e pacientes em diálise peritoneal <sup>[15]</sup>.

A saliva utilizada para realizar os testes nos diferentes estudos apresentados é a saliva total composta, uma vez que é de fácil coleta e nesta, como também na recolhida do fluido crevicular, são expressas os metabolitos provenientes do sangue.

Apesar de haver marcadas alterações no nível proteico salivar após a HD, estas não são decorrentes de função anormal das glândulas salivares, uma vez que a excreção de albumina e IgA na saliva mantém-se dentro dos parâmetros normais <sup>[14]</sup>.

Os métodos testados em laboratório e em amostras populacionais mostram que há fatos científicos comprovados para usar os testes colorimétricos como meio de avaliação da eficácia da diálise, tanto durante o tratamento como após o mesmo. Raimann J *et al* <sup>[27]</sup> acrescentam ainda que a aplicação das tiras de papel para medição da ureia é eficaz na confirmação de casos de suspeita de doença renal <sup>[27]</sup>. Akai T *et al* <sup>[49]</sup>, em 1983, foram os pioneiros na implementação deste método. Do seu estudo concluíram que o procedimento é simples podendo por isso ser aplicado de forma rotineira para detetar anormalidades na função dos rins. Isto porque durante a experimentação que realizaram encontraram uma correlação de 0.93 entre a concentração plasmática e salivar de ureia. Este parâmetro é muito importante pois só assim se pode garantir a fiabilidade dos resultados dos testes <sup>[49]</sup>. Outros autores obtiveram resultados semelhantes ao longo dos anos <sup>[15,35,46,48]</sup>. O método enzimático proposto por Sein K *et al* <sup>[48]</sup> e posteriormente usado por Bots CP *et al* <sup>[11]</sup> é, segundo os mesmos, mais fiável pois não é influenciado pelas

condições das amostras. De qualquer forma, independentemente do teste utilizado obtiveram-se resultados semelhantes.

A Cromatografia de papel pode também ser aplicada às outras duas substâncias estudadas: os nitritos e o ácido úrico.

Walt D *et al* <sup>[25]</sup> em 2007 desenvolveram uma forma de avaliar a concentração de nitritos. Através dos testes desenvolvidos concluiu que os mesmos eram efetivos na sua função e podiam ser usados (ainda que em conjunto com a avaliação da concentração de ácido úrico) para monitorizar o tratamento implementado a cada paciente <sup>[25]</sup>. No ano seguinte um estudo laboratorial e em humanos foi feito para testar este método de medição da concentração de metabolitos. Neste estudo Blicharz T *et al* <sup>[10]</sup> determinaram que os nitritos seriam bons candidatos para monitorizar a eficácia da diálise uma vez que durante o processo terapêutico os nitritos e nitratos são totalmente removidos da corrente sanguínea <sup>[10]</sup>. Em 2010, Klasner SA *et al* <sup>[33]</sup> fizeram um estudo experimental onde utilizaram saliva artificial. Nestas amostras avaliaram o método da cromatografia de papel, concluindo que este procedimento é útil para avaliar a concentração de nitritos em alguns fluidos corporais como a urina e a saliva <sup>[33]</sup>. Há no entanto um senão associado a este tipo de método que está relacionado com a diferença de concentrações pré-dialíticas de nitritos na saliva. Este fato prende-se com vários fatores do quotidiano de cada individuo e da própria condição da doença renal. No entanto verifica-se que a redução na concentração pós-dialítica deste eletrólito é representada por uma regressão linear. Daí ser possível estabelecer uma fiabilidade para a aplicação destes testes <sup>[33]</sup>.

A saliva nos indivíduos com patologia renal tem concentrações altas de ácido úrico. Em indivíduos que estão em tratamento através de hemodiálise os níveis de ácido úrico diminuem após as sessões, o que é em termos clínicos desejável pois diminui o risco de desenvolvimento de patologias cardiovasculares. A cromatografia de papel foi testada para este metabolito <sup>[9,10,15]</sup>.

As fitas de papel incluem na sua composição químicos que detetam o ácido úrico providenciando um formato ideal para satisfazer os requisitos dos testes de diagnóstico. Este novo teste diagnóstico é útil para reduzir o número de análises sanguíneas em pacientes com anemias e pacientes pediátricos. Para além de monitorizar o tratamento da diálise, avaliando se as concentrações de metabolitos estão dentro dos valores padrão para o decorrer do tratamento num tempo determinado, a cromatografia de papel é ainda útil para avaliar a evolução da doença renal progressiva dos estadios 1 a 4 da classificação NKF KDOQI <sup>[4]</sup>. Segundo Blicharz T *et al* <sup>[10]</sup> este teste de diagnóstico é uma ferramenta válida quando avaliado em conjunto com a cromatografia de papel dos nitritos, pois bastam dois metabolitos analisados para avaliar a

necessidade de tratamento do indivíduo. Estes autores preconizam ainda que o método em que se baseou este teste é tão eficaz como o método enzimático pela uricase porque apesar do bicinconinato não ser tão específico, as interferências a nível salivar não são significativas <sup>[10]</sup>. Bahaa A *et al* <sup>[9]</sup> no ano de 2011 implementaram o método anteriormente descrito para medições qualitativas de ácido úrico e concluíram que as suas alterações ao longo da diálise podem ser monitorizadas na saliva <sup>[9]</sup>.

O teste de diagnóstico através da Cromatografia de papel permite uma medição semi-quantitativa da concentração dos diferentes metabolitos analisados. É um método não-invasivo, rápido e seguro <sup>[10, 22, 23, 24,25, 26,27]</sup>. Para além disso, permite aos pacientes em IRC que fazem diálise peritoneal e aos que estão no estadio 4 da classificação de NKF KDOQI <sup>[4]</sup> fazerem a monitorização dos seus níveis de nitritos, ácido úrico e ureia em casa <sup>[15]</sup>. Isto permite controlar a necessidade de tratamento assim como determinar a implementação da terapia de diálise. Também durante a terapia de diálise pode realizar-se a monitorização pela saliva, facilitando o controlo do tratamento <sup>[10,15]</sup>.

A desvantagem deste método de avaliação são os fatores locais salivares, como a atividade enzimática da urease, que podem adulterar os resultados expressos pela tira de papel, levando à existência de falsos positivos <sup>[27]</sup>.

Em 2009, Cardoso VF *et al* <sup>[51]</sup> propuseram um método diferente para avaliar a quantidade de ácido úrico nos fluidos corporais. No sistema testado verificou-se que, ao contrário da cromatografia de papel, as medições não influenciam os fluidos utilizados na amostra. Os autores referem que é um método fácil, de rápida execução e com resultados fiáveis <sup>[51]</sup>. É um método promissor para avaliar as quantidades de ácido úrico e ureia, apesar de o trabalho não ter sido desenvolvido no sentido de quantificar a concentração de ureia <sup>[51]</sup>.

## **VII - Conclusão**

## **VII - Conclusão**

---

Ao longo das últimas décadas tem sido defendida afincadamente a possibilidade de avaliar a eficácia da terapia de substituição renal através de amostras salivares. Apesar de haver estudos que indicam que esta hipótese é coerente e possível de ser verdadeira, ainda não há estudos suficientes para poder concluir a sua efetividade quanto à DP.

Posto isto, propõe-se a realização de novas experimentações em humanos com amostras maiores ( $n > 30$ ) para verificar se os resultados obtidos são estatisticamente significativos. Isto aplica-se principalmente a indivíduos que realizem diálise peritoneal pois o número de estudos realizados até então é muito reduzido.

No entanto, as técnicas utilizadas através da cromatografia de papel podem ser usadas para monitorizar os valores dos diferentes metabolitos e aferir assim a eficácia da diálise assim como a necessidade de realizar exames auxiliares de diagnóstico mais específicos.

## **VIII - Bibliografia**

## VIII - Bibliografia

---

1. Álamo S, Esteve C, Pérez M<sup>a</sup>. Dental considerations for the patient with renal disease. *J Clin Exp Dent* 2011; 3 (2): 112-9.
2. Cerveró A, Bagán J, Soriano J, Roda P. Dental management in renal failure: Patients on dialysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13 (7): 419-26.
3. Proctor R, Kumar N, Stein A, Moles D, Porter S. Oral and dental aspects of Chronic Renal Failure. *J Dent Res* 2005; 84 (3): 199-206.
4. Hogg R, Furth S, Lemley K, Portman R, Schwartz G, Coresh J, et al. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics*. 2003 Jun;111(6 Pt 1):1416-21.
5. Chuang S, Sung J, Kuo S, Huang J, Lee S. Oral and dental manifestations in diabetic and nondiabetic uremic patients receiving hemodialysis. *Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 689-95.
6. Vinhas J. Dieta e Doença Renal Crónica. *Revista Fatores de Risco*, 2008; 10: 60-61.
7. Sosa M, Balk E, Lau J, Liangos O, Balakrishnan V, et al. A systematic review of the effect of the Excebrane dialyser on biomarkers of lipid peroxidation. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2825-2833.
8. Miricescu D, Greabu M, Totan A, Didilescu A, Radulescu R. The antioxidant potential of saliva: clinical significance in oral disease. *Ther Pharmacol Clin Toxicol* 2011; 15 (2):139-143.
9. Bahaa A, Raja H. Salivary and plasma analysis of oxidative stress biomarkers in end stage renal failure patients. *J Bagh College Dentistry* 2011; 23 (2): 46-50.
10. Blicharz T, Rissin D, Bowden M, Hayman R, DiCesare C, Bhatia S, et al. Use of colorimetric test strips for monitoring the effect of Hemodialysis on salivary nitrite and uric acid in patients with end-stage renal disease: a proof of principle. *Clin Chem* 2008; 54 (9): 1473-1480.
11. Bots CP, Brand HS, Veerman ECI, Valentijn-Benz M, Henskens YMC, Valentijn RM, et al. Acute effects of Hemodialysis on salivary flow rate and composition. *Clin Nephrol* 2007; 67 (1): 25-31.
12. Locatelli F, Buoncristiani U, Canaud B, Hans Kohler H, Petitclerc T, Zucchelli P. Dialysis dose and frequency. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 285–296.

13. Canaud B, Wabel P, Tetta C. Dialysis Prescription: A Modifiable Risk Factor for Chronic Kidney Disease. *Blood Purif* 2010; 29: 366–374.
14. Martins C, Siqueira W, Oliveira E, Primo L, Nicolau J. Salivary analysis of patients with chronic renal failure undergoing Hemodialysis. *Spec Care Dent* 2006; 26 (5): 205-208.
15. Bibi G, Green Y, Nagler R. Compositional and oxidative analysis in the saliva and serum of Predialysis Chronic Kidney Disease Patients and End-stage renal failure patients on Peritoneal Dialysis. *Ther Apher Dial* 2008; 12 (2):164-70.
16. Ben-Zvi I, Green Y, Nakhoul F, Kanter Y, Nagler R. Effects of Diabetes Mellitus, Chronic Renal Failure and Hemodialysis on serum and salivary antioxidant status. *Nephron Clin Pract* 2007; 105: 114-120.
17. Fleming G. Renal replacement therapy review. *Organogenesis* 2011; 7 (1): 2-12.
18. Debowska M, Waniewski J, Lindholm B. Dialysis adequacy indices for Peritoneal Dialysis and Hemodialysis. *Adv Perit Dial* 2005; 21: 94-97.
19. Klinger A. More intensive Hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: S121–S124.
20. Isselbacher K, Braunwald E, Wilson J, Martin J, Fuaci A, Kasper D. *Harrisons's Principles of internal medicine*. 13<sup>a</sup> Ed. New York: McGraw-Hill; 1994.
21. Beige J, Sharma A, Distler A, Offermann G, Preuschhof L. Monitoring dialysis efficacy by comparing delivered and predicted Kt/V. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 683-87.
22. Gotch F. Urea is the best molecule to target adequacy of Peritoneal Dialysis. *Perit Dial Int* 2000; 20: 58-64.
23. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, Palo E. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin Chim Acta* 2007; 383: 30-40.
24. Mukhopadhyay R. Devices to drool for. *Anal Chem* 2006; 78: 4255-4259.
25. Walt D, Blicharz T, Hayman R, Rissin D, Bowden M, Siqueira W, et al. Microsensor arrays for saliva diagnostics. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1098: 398-400.
26. Cardoso E, Arregger A, Tumilasci O, Elbert A, Contreras L. Assessment of salivary urea as a less invasive alternative to serum determinations. *Scand J Clin Lab Invest* 2009; 69 (3): 330-334.
27. Raimann J, Kirisits W, Gebetsroither E, Carter M, Callegari J, Rosales L, et al. Saliva urea dipstick test: application in chronic kidney disease. *Clin Nephrol* 2011; 76 (1): 23-28.
28. Humphrey S, Williamson T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001; 85: 162-169.

29. Johan K, Martens L. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int* 2005; 150: 119-131.
30. Dodds M, Johnson D, Yeh C. Health benefits of saliva: a review. *J Dent* 2005; 33: 223-233.
31. Moreno E, Margolis H. Composition of human plaque fluid. *J Dent Res* 1988; 67 (9): 1181-1189.
32. Battino M, Ferreiro M, Gallardo I, Newman H, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 189-194.
33. Klasner S, Price A, Hoeman K, Rashaun W, Bell K, Culbertson C. Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva. *Anal Bioanal Chem* 2010; 397: 1821-1829.
34. Mandel I. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 119-125.
35. Tomás I, Marinho J, Limeres J, Santos M, Araújo L, Diz P. Changes in salivary composition in patients with renal failure. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 528-532.
36. Shahbazian H, Zand MA, Ehsanpour A, Khazaali M. Changes in Plasma Concentrations of Hypoxanthine and Uric Acid before and After Hemodialysis. *Iran J Kidney Dis* 2009; 3 (3): 151-55.
37. Faassen E, Bahrami S, Feelisch M, Hogg N, Kelm M, Kim-Shapiro D, et al. Nitrite as regulator of hypoxic signaling in mammalian physiology. *Med Res Rev* 2009; 29 (5): 683-741.
38. Clermont G, Lecour S, Lahet J, Siohan P, Vergely C, Chevet D, et al. Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovas Res* 2000; 47: 618-623.
39. Björne H, Petersson J, Phillipson M, Weitzberg E, Holm L, Lundbe J. Nitrite in saliva increases gastric mucosal blood flow and mucus thickness. *J Clin Invest* 2004; 113: 106-114.
40. Xia D, Liu Y, Zhang CM, Yang SH, Wang SL. Antimicrobial effect of acidified nitrate and nitrite on six common oral pathogens in vitro. *Chin Med J* 2006; 119 (22): 1904-1909.
41. Cingi M, Cingi C, Cingi E. Influence of dietary nitrate and nitrite level of human saliva. *Bull Environ Contam Toxicol* 1992; 48: 83-88.

42. Tenovuo J. The biochemistry of nitrates, nitrites, nitrosamines and other potential carcinogens in human saliva. *J Oral Pathol* 1986; 15 (6): 303-307.
43. So A, Thorens B. Uric acid transport and disease. *J Clin Invest* 2010; 120 (6): 1791-1799.
44. Mekki K, Taleb W, Bouzidi N, Kaddous A, Bouchenak M. Effect of hemodialysis and peritoneal dialysis on redox status in chronic renal failure patients: a comparative study. *Lipids Health Dis* 2010; 9 (93): 1-7.
45. Radomska A, Koncki R, Pyrzyńska K, Głąb S. Bioanalytical system for control of hemodialysis treatment based on potentiometric biosensors for urea and creatinine. *Anal Chim Acta* 2004; 523: 193–200.
46. Shannon I, Feller R, Eknayan G, Suddick R. Human parotid saliva urea in renal failure and during dialysis. *Archs Oral Biol* 1977; 22: 83-86.
47. Ferguson D. Current diagnostic uses of saliva. *J Dent Res* 1987; 66(2): 420-424.
48. Sein K, Arumainayagam G. Correlation between serum urea and salivary urea. *Clin Chem* 1987; 33 (12): 2303-2304.
49. Akai T, Naka K, Yoshikawa C, Okuda K, Okamoto T, Yamagami S, et al. Salivary urea nitrogen as an index to renal function: a test-strip method. *Clin Chem* 1983; 29(10): 1825-1827.
50. Nagler R, Klein I, Zarzhevsky N, Drigues N, Reznick A. Characterization of the differentiated antioxidant profile of human saliva. *Free Radic Biol Med* 2002; 32(3): 268-77.
51. Cardoso V, Catarino S, Martins P, Rebouta L, Lanceros-Mendéz S, Minas G. Biological microdevice with fluidic acoustic streaming for measuring uric acid in human saliva. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2009; 2009: 5879-82.