



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



PEDRO LUCAS UZAM MARQUES

**ANÁLISE DE MARCADORES SALIVARES EM CRIANÇAS COM
HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR INCISIVO (HMI).**

ARAÇATUBA - SP

2025

PEDRO LUCAS UZAM MARQUES

**ANÁLISE DE MARCADORES SALIVARES EM CRIANÇAS COM
HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR INCISIVO (HMI).**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Odontologia,
Campus de Araçatuba, da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
– UNESP, como parte dos requisitos para
a obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Profa Titular Cristina
Antoniali Silva

ARAÇATUBA - SP

2025

Dedico este trabalho à minha família, cuja
presença, apoio e amor tornaram possível a
realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda sabedoria, força e inspiração, por iluminar meu caminho, sustentar-me nos momentos de dificuldade e permitir que eu chegasse até aqui com saúde e perseverança.

Aos meus pais, Regiane Uzam e Whuellington Marques, pelo amor incondicional, pelos ensinamentos de vida e pelo apoio inabalável em cada etapa desta jornada. Vocês são minha base e meu maior exemplo de dedicação e coragem.

Às minhas irmãs, Maria Clara e Ana Helena, por todo incentivo, compreensão e carinho, mesmo nos momentos em que precisei me ausentar ou dedicar-me integralmente aos estudos.

Ao meu namorado, João Victor, por estar ao meu lado em todos os momentos, celebrando minhas vitórias, oferecendo apoio nas dificuldades e acreditando em mim mesmo quando eu duvidava.

À minha professora e orientadora, Cristina Antoniali, pelo conhecimento compartilhado, pela paciência e por acreditar no meu potencial. Sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico e pessoal.

À minha família no geral, pelo apoio, incentivo e palavras de encorajamento ao longo desta trajetória. Cada gesto de carinho e compreensão foi essencial para que eu chegasse até o fim deste ciclo. E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, minha mais profunda gratidão.

Ao Projeto de Extensão Sorriso Feliz, pela oportunidade enriquecedora de vivenciar o contato com o público odontopediátrico e, especialmente, por disponibilizar parte das crianças atendidas para análise, possibilitando minha contribuição para o cuidado e bem-estar delas.

“Educação não transforma o mundo.

Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo”

Paulo Freire

MARQUES, P.L.U. **Análise de marcadores salivares em crianças com Hipomineralização Molar Incisivo (HMI)**. 2025, 25 f. – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2025.

RESUMO

A Hipomineralização Molar Incisivo (HMI) é um defeito qualitativo do desenvolvimento do esmalte dentário, que afeta de um a quatro molares permanentes, com o possível envolvimento de dentes incisivos. Alterações em componentes salivares, como biomarcadores e enzimas, têm sido associadas à presença e à gravidade de doenças bucais. Considerando que a hipomineralização dentária está relacionada ao aumento da concentração de determinadas proteínas salivares, incluindo algumas envolvidas em processos antioxidantes, levantou-se a hipótese de que a HMI poderia modificar os biomarcadores salivares de estresse oxidativo. O objetivo deste estudo foi avaliar parâmetros bioquímicos da saliva de crianças com HMI em comparação àqueles observados em crianças sem a condição (grupo controle). Foram incluídos dois grupos de 15 pacientes, com idades entre 6 e 12 anos, caracterizados da seguinte forma: (1) Grupo HMI – presença de HMI e ausência de lesões de cárie; (2) Grupo Controle – ausência de HMI e de lesões de cárie. As amostras de saliva não estimulada foram coletadas após duas horas de jejum, no período da manhã, utilizando o dispositivo Salivette®. Em seguida, foram realizados experimentos bioquímicos previamente padronizados para a determinação da concentração total de proteínas, pelo método de Lowry, e da capacidade antioxidante total (CAT), pelo ensaio de poder antioxidante redutor do ferro (FRAP). A análise estatística foi conduzida por meio de testes de normalidade (Shapiro-Wilk), seguidos do teste t de Student, considerando-se diferenças significativas quando $p < 0,05$. Os resultados demonstraram que a saliva de crianças com HMI apresenta redução significativa na concentração de proteínas totais, sem diferenças significativas na CAT. Esses achados sugerem que, embora haja alteração na composição proteica salivar, a capacidade antioxidante, avaliada pelo método FRAP, não se encontra modificada. Tal resultado pode indicar que o equilíbrio redox não esteja comprometido ou que outros mecanismos antioxidantes possam estar atuando. Estudos adicionais serão necessários para aprofundar a compreensão desses achados.

Palavras-chave: Saliva; Hipomineralização do esmalte dentário; Estresse oxidativo

MARQUES, P.L.U. **Analysis of salivary markers in children with Molar Incisor Hypomineralization (MIH)**. 2025. 25 pages. – School of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, 2025.

ABSTRACT

Molar-Incisor Hypomineralization (MIH) is a qualitative defect of enamel development that affects one to four permanent molars, with possible involvement of incisors. Alterations in salivary components, such as biomarkers and enzymes, have been associated with the presence and severity of oral diseases. Considering that dental hypomineralization has been related to increased concentrations of certain salivary proteins, including some involved in antioxidant processes, the hypothesis was raised that MIH could modify salivary biomarkers of oxidative stress. The aim of this study was to evaluate biochemical parameters in the saliva of children with MIH compared with those observed in children without the condition (control group). Two groups of 15 patients aged 6 to 12 years were included and characterized as follows: (1) MIH Group – presence of MIH and absence of carious lesions; (2) Control Group – absence of MIH and carious lesions. Unstimulated saliva samples were collected after two hours of fasting, in the morning, using the Salivette® device. Subsequently, previously standardized biochemical experiments were performed to determine total protein concentration by the Lowry method, and total antioxidant capacity (TAC) by the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. Statistical analysis was performed using normality tests (Shapiro–Wilk), followed by Student's *t*-test, with differences considered significant at $p < 0.05$. The results demonstrated that the saliva of children with MIH showed a significant reduction in total protein concentration, with no significant differences in TAC. These findings suggest that although salivary protein composition is altered, antioxidant capacity, as assessed by the FRAP method, is not modified. This result may indicate that the redox balance is not compromised, or that other antioxidant mechanisms may be active. Further studies will be required to deepen the understanding of these findings.

Keywords: Saliva; Dental enamel hypomineralization; Oxidative stress

Este projeto de Pesquisa estava vinculado a um Projeto de Extensão cadastrado no SISPROEC e aprovado pela Pró-Reitoria de Cultura e Extensão da UNESP, com título “Projeto Sorriso Feliz - Fortalecimento da Atenção Primária à Saúde Bucal na Primeiríssima e Primeira Infância na Educação Infantil do Estado de São Paulo - DRSII (Ofício No: Ofício DRS II G no 196/2023, Número de Referência: SES-EXP-2021/87863)”. O projeto de extensão foi conduzido durante 2023-2025, sob coordenação da Profa Dra Cristina Antoniali Silva. O Trabalho de Conclusão de Curso apresentado nesta proposta foi conduzido pelo aluno juntamente com a mestranda Haylla Faria Horta, aluno da Graduação da FOA-UNESP, sob orientação da referida professora. O aluno fez as coletas de amostras de saliva e análises bioquímicas no Departamento de Ciências Básicas.

Financiamento: *O presente estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código Financeiro 001; e a Pró-Reitoria de Extensão e Cultura (PROEC) da UNESP (número 1502 – Projeto Sorriso Feliz – Fortalecimento da Atenção Primária à Saúde Bucal na Primeiríssima e Primeira Infância na Educação Infantil do Estado de São Paulo- DRSII)*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 JUSTIFICATIVA	11
3 OBJETIVOS	11
3.1 Objetivo Geral:	11
3.2 Objetivos Específicos:	11
4 MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1. Grupos experimentais:	11
4.2. Avaliação clínica de crianças de 6 a 13 anos com HMI:	12
4.3. Coleta da saliva:	13
4.4. Análise bioquímica da saliva	13
4.4.1. Análise da Concentração de Proteína Total:	13
4.4.2. Análise da Capacidade Antioxidante Total (TAC):	14
4.5 Análise Estatística	14
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
7 CONCLUSÃO	17
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
9 ANEXOS	19
1 INTRODUÇÃO	

A hipomineralização de esmalte é uma condição qualitativa que afeta principalmente os molares e, ocasionalmente, os incisivos permanentes, sendo chamada de Hipomineralização Molar Incisivo (HMI) quando ocorre nos dentes permanentes. Na dentição decídua, ela afeta principalmente os segundos molares decíduos, sendo então denominada Hipomineralização de Segundos Molares Decíduos (HSMD) (DA SILVA FIGUEIREDO et al., 2017; GOYAL et al., 2019). Não há uma causa específica definida para a HMI, e alguns autores consideram sua causa multifatorial. Ademais, fatores ambientais e congênitos têm sido propostos (ALMULHIM, 2021). Contudo, não existe consenso na literatura sobre como cada fator contribui no desenvolvimento desses defeitos. As hipóteses etiológicas sugerem uma relação com os períodos pré, peri e pós-natal, uma vez que mudanças nas funções dos ameloblastos durante a fase de maturação podem ocorrer entre o final da gestação até os quatro anos de idade (LYGIDAKIS et al., 2021).

Em duas revisões sistemáticas e meta-análises a prevalência do HMI foi de 14,2 % (ZHAO et al., 2018) e 12,9% (SCHWENDICKE et al., 2018). Um estudo conduzido com crianças na Indiana, apontou que 13% das crianças avaliadas apresentaram HMI, ou seja, tinham pelo menos 1 primeiro molar permanente com esse defeito (AHMED et al., 2020). Poucos estudos mostraram a incidência destas alterações no Brasil, que equivalem a 4,9% para HSMD e 40,2% para HMI (SOVIERO et al., 2009; CERQUEIRA SILVA, 2021). Os dentes afetados por estas alterações podem apresentar sensibilidade térmica e mecânica, dificultando assim a escovação dentária. Em casos mais graves, o esmalte friável pode lascas, expondo a dentina e favorecendo o desenvolvimento de cárie dentária (IAPD, 2022). Em crianças com HMI, a probabilidade de encontrar uma criança com HMI e cárie dentária é de 2,1- 4,6 vezes maior, comparada a uma criança com HMI sem cárie dentária (QUINTERO et al., 2022). Portanto, é necessário um controle frequente e uma variedade de tratamentos, especialmente em casos mais graves. Dessa forma, o diagnóstico precoce é essencial para prevenir maiores complicações, como a hipersensibilidade, cárie dentária, inflamação pulpar e dor (LOPES et al., 2021).

A saliva desempenha um papel essencial no equilíbrio dinâmico da cavidade oral e sua coleta pode ser feita por um procedimento fácil, não invasivo, seguro, barato, rápido e indolor (HASSANEEN et al., 2017). Entre todos os pacientes de clínicas odontológicas, os que mais se beneficiam com a praticidade desse método de coleta são os pacientes pediátricos (HASSANEEN et al., 2017). Assim, a saliva tem sido utilizada para detectar doenças sistêmicas e orais, uma vez que contém biomarcadores que podem ser analisados e quantificados (HASSANEEN et al., 2017; MALAMUD et al., 2010; SPIELMAN et al., 2010), entre eles os biomarcadores de estresse oxidativo.

O estresse oxidativo decorre de um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (como a glutatona). A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais é resultante do metabolismo de oxigênio (BARBOSA et al., 2010). A glutatona redutase é uma enzima que está envolvida no sistema antioxidante da glutatona (FERRIER, 2019). Bekes et al. (2020) relataram a presença de glutatona redutase exclusivamente em saliva de pacientes com HMI. A detecção da enzima glutatona redutase na saliva de pacientes com HMI indica possíveis mudanças na composição salivar relacionadas ao estresse oxidativo (BEKES et al., 2020). Não há até o

momento estudos que avaliaram outros biomarcadores de estresse oxidativo na saliva de crianças com HMI.

Diferentes biomarcadores podem ser quantificados na saliva de pacientes com diversas alterações sistêmicas e bucais. Na saliva, o ácido úrico é o antioxidante predominante, com a albumina e o escorbuto fornecendo contribuições menores (SCULLEY; LANGLEY-EVANS 2002). O ácido úrico, antioxidante não enzimático, está aumentado na saliva de crianças com cárie (ARAÚJO et al., 2020, MARTINS et al., 2022). A albumina, que se encontra de forma excessiva no estágio de transição de desenvolvimento do esmalte, pode ligar aos cristais de hidroxiapatita, o que leva a ao desenvolvimento de esmalte poroso e hipomineralizado (MUKHTAR et al., 2022; PEREZ; MANHUM; HUBBARD, 2020). Mukhtar et al. (2022), em um estudo de proteômica, encontraram níveis de albumina super expressados e não degradados no esmalte. Interessantemente, os dentes afetados por HMI mostraram um aumento nas concentrações de albumina.

A partir destes conhecimentos, formulamos a hipótese que a HMI está associada a alterações no perfil bioquímico da saliva de crianças, refletidas em modificações nas proteínas e nos biomarcadores de estresse oxidativo, quando comparadas a crianças sem HMI.

2 JUSTIFICATIVA

A identificação de biomarcadores salivares associados a HMI permitirá um planejamento mais preciso para o manejo e controle dos efeitos dessas condições. Além disso, possibilitará a implementação de estratégias preventivas voltadas à redução de complicações comuns, como hipersensibilidade dentária, maior suscetibilidade à cárie e desgaste do esmalte, contribuindo para uma abordagem clínica mais individualizada e baseada em evidências.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral: Determinar se o HMI altera parâmetros bioquímicos e biomarcadores de estresse oxidativo em saliva de crianças de 6 a 13 anos.

3.2 Objetivos Específicos: Determinar a concentração de proteína total (método de Lowry), e a capacidade antioxidante total (Benzie e Strain) na saliva de crianças com HMI e sem HMI.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos mencionados foram submetidos previamente à avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa - Humanos da Faculdade de Odontologia da UNESP, Campus de Araçatuba, tendo sido aprovados sob o CAAE: 71319123.2.0000.5420. O cálculo do número amostral foi realizado com base em investigações anteriores do nosso grupo, utilizando como variável principal a concentração de ácido úrico salivar e considerando um poder de teste de 80%, por meio do software Open Epi, versão 3.

4.1. Grupos experimentais:

Crianças na faixa etária de 6 a 13 anos foram selecionadas entre as crianças avaliadas no projeto “Sorriso Feliz - Fortalecimento da Atenção Primária à Saúde Bucal na Primeiríssima e Primeira Infância na Educação Infantil do Estado de São Paulo – DRSII” da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, do projeto “Seu Melhor Sorriso” da Secretaria de Saúde do Município de Araçatuba e entre as crianças matriculadas na Bebê Clínica e Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UNESP. Os projetos de extensão mencionados são conduzidos por equipes compostas por professores, alunos de pós-graduação, graduação da FOA-UNESP e cirurgiões-dentistas da secretaria de saúde municipal que avaliam a saúde bucal de crianças matriculadas nas escolas municipais de ensino básico (EMEB) e orientam sobre a importância da higienização/escovação dental. As avaliações foram feitas pela mestrandia Haylla de Faria Horta (HFH) com acompanhamento do aluno Pedro Lucas Uzam Marques (PLUM).

Uma reunião inicial foi realizada com os docentes responsáveis e os responsáveis legais das crianças, com o propósito de apresentar detalhadamente o protocolo do estudo e esclarecer eventuais dúvidas. Durante o encontro, foram distribuídos os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) a todos os pais ou cuidadores. Aqueles que consentiram com a participação das crianças na

pesquisa preencheram e assinaram o TCLE, formalizando a autorização para a inclusão no estudo. As crianças cujos responsáveis não assinaram o termo (critério de exclusão), bem como aquelas com doenças sistêmicas ou em uso de medicação, não foram incluídas na pesquisa. Entretanto, quando necessário, foram encaminhadas para atendimento odontológico. Após a coleta e devolução dos TCLE devidamente assinados, foram realizados os exames clínicos e a definição das amostras de conveniência para a composição dos grupos experimentais. A distribuição das crianças nos respectivos grupos foi realizada conforme apresentado na tabela a seguir:

Tabela 1 - Grupos de crianças que foram avaliadas nessa respectiva pesquisa:

Grupo Controle	Sem HMI e sem cárie (n=15)
Grupo HMI	HMI e sem cárie (n=15)

4.2. Avaliação clínica de crianças de 6 a 13 anos com HMI:

O exame foi realizado em uma cadeira odontológica utilizando espelho, sonda OMS e luz do refletor, após a secagem dos dentes com seringa triplice. Quando o exame foi realizado nas EMEB, as condições foram as mais próximas daquelas encontradas na clínica. Para isso, a criança foi colocada em posição joelho-a-jelho e com ajuda de luz natural ou equipamentos, os dentes foram secos com gaze e a avaliação foi feita utilizando espelho e sonda OMS.

4.3. Coleta da saliva:

Após o diagnóstico clínico, as amostras de saliva foram coletadas e processadas. Se houvesse alguma intercorrência durante a coleta salivar, o procedimento era interrompido e não havia uma nova tentativa. Para minimizar a possível variação devido ao ritmo circadiano, a saliva total não estimulada foi coletada entre 8:00 e 9:30 da manhã, 2 horas de jejum e após a higiene bucal feita com água e escova de dentes sem produtos fluoretados. As amostras salivares foram coletadas durante 5 min utilizando um Salivette® (Sarstedt, Alemanha). Para

isto, as crianças foram colocadas em cadeira, e o rolete de algodão foi colocado abaixo da língua (Figura 1).

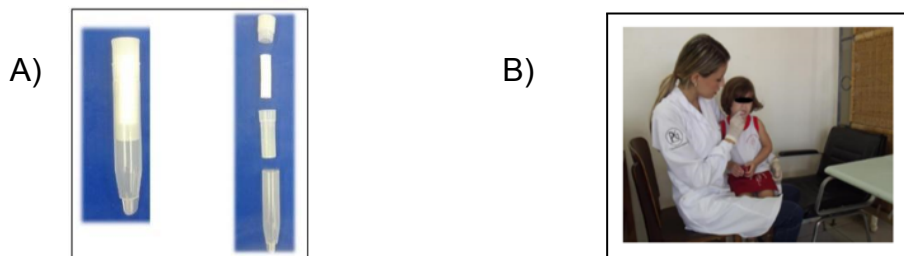


Figura 1 - A) Salivette® e suas partes. Este dispositivo foi utilizado para a coleta de saliva nas crianças avaliadas neste estudo. B) Forma de coleta da amostra salivar (imagem retirada de Silva, 2016).

Após a coleta, as amostras foram mantidas em gelo até a centrifugação no laboratório de pesquisa. As amostras foram centrifugadas a 4000 x RPM durante 10 min, e os sobrenadantes foram fracionados em alíquotas 100-500µL e mantidos a -80°C até o momento das análises bioquímicas descritas abaixo.

4.4. Análise bioquímica da saliva

4.4.1. Análise da Concentração de Proteína Total: A quantificação de proteínas foi realizada em alíquotas de 15 µL de saliva pelo método descrito por Lowry et al. (1951). Para a determinação da concentração de proteínas na saliva, foi utilizada uma curva padrão com diferentes concentrações de albumina de soro bovino (variando de 2 mg/dL a 8 mg/dL). Quando foram detectadas concentrações superiores ao último ponto da curva padrão, as amostras foram diluídas e reavaliadas. Os valores de absorbância foram determinados a 660 nm, e os resultados foram expressos em mg/dL. A concentração de proteína total foi empregada para a normalização dos demais resultados obtidos nas análises bioquímicas.

4.4.2. Análise da Capacidade Antioxidante Total (TAC): A capacidade antioxidante total na amostra de saliva (10 µL) foi determinada por ensaio de poder antioxidante redutor do ferro (FRAP) previamente padronizado por Benzie e Strain

(1996). Este método baseia-se na redução do complexo férrico tripiridil triazina (Fe^{3+} TPTZ) para formar Fe^{2+} em meio ácido. A absorbância da solução será determinada a 593nm, utilizando uma curva padrão de sulfato ferroso e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ /g de proteína.

4.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram comparados entre os grupos por meio de análise estatística, aplicando testes de normalidade (teste de Shapiro-Wilk) seguido do teste t de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estado redox é um conceito fundamental na biologia que se refere ao equilíbrio entre os processos de oxidação e redução no organismo, envolvendo a produção e neutralização de espécies reativas de oxigênio (EROs). Essas espécies, quando produzidas em excesso, podem levar ao estresse oxidativo, uma condição associada a danos celulares e ao desenvolvimento de diversas doenças, incluindo doenças inflamatórias, neurodegenerativas, cardiovasculares e até mesmo câncer (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Para avaliar esse estado no organismo, diversos biomarcadores podem ser analisados na saliva, a qual vem sendo utilizada como um método promissor e não invasivo para monitoramento da saúde. Os biomarcadores de estresse oxidativo na saliva incluem tanto indicadores de dano oxidativo, como produtos da oxidação lipídica e proteica, quanto componentes de sistemas antioxidantes, como a capacidade antioxidante total e o ácido úrico, um antioxidante não enzimático.

A proteína total e o estado redox estão associadas ao fato de que as proteínas desempenham um papel fundamental tanto no equilíbrio oxidativo quanto como alvos do estresse oxidativo. A saliva contém diversas proteínas, incluindo enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), que auxiliam na neutralização de espécies reativas de oxigênio (EROs) e, consequentemente, na manutenção do estado redox equilibrado (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). O presente estudo avaliou a concentração de proteínas totais na saliva de crianças diagnosticadas com HMI. Os resultados

obtidos indicaram uma redução na concentração de proteínas totais na saliva de crianças com HMI em comparação ao grupo controle (Figura 2).

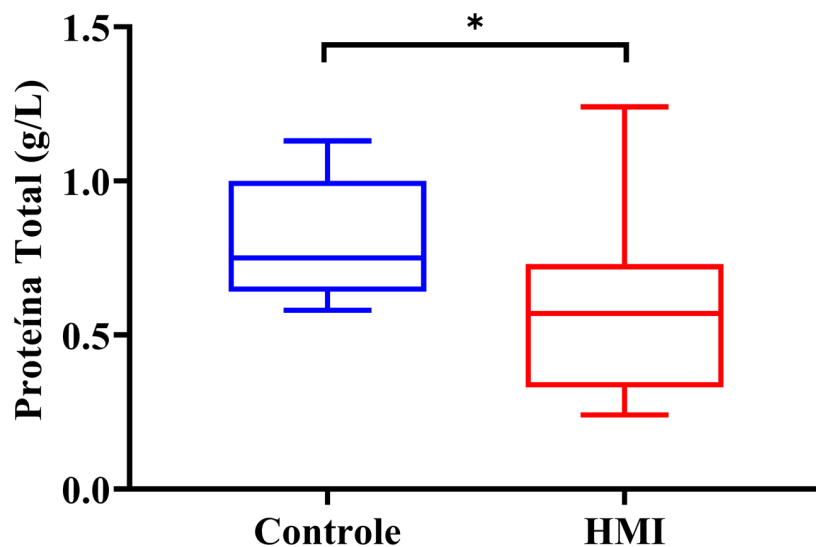


Figura 2. Comparação da concentração de proteína total na saliva de crianças sem HMI (controle) e com HMI. * $p < 0,05$ (Teste Mann-Whitney).

A capacidade antioxidante total reflete a capacidade da saliva de neutralizar radicais livres, funcionando como um parâmetro global da defesa antioxidante do organismo (GÓMEZ-CABRERA et al., 2012). Ela auxilia a manutenção da integridade do esmalte dentário, da mucosa oral e do equilíbrio do microbioma bucal, reduzindo os impactos negativos do estresse oxidativo sobre a saúde bucal e sistêmica (FERREIRA; ABREU, 2007). Na avaliação desse biomarcador salivar, foi observado que a capacidade antioxidante total salivar não apresentou diferenças significativas entre crianças com HMI e crianças do grupo controle (Figura 3).

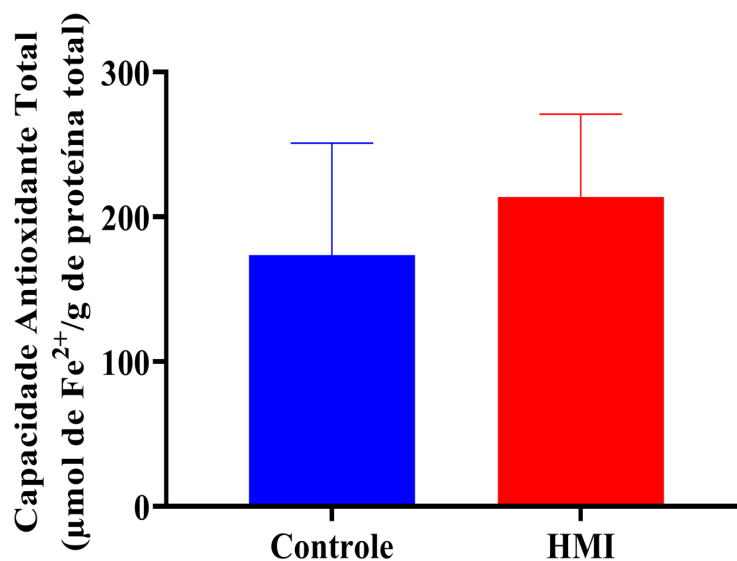


Figura 3. Comparação da capacidade antioxidante total na saliva de crianças sem HMI (controle) e com HMI.

Diante do exposto, os dados obtidos neste estudo mostraram que a saliva de crianças com HMI apresenta alterações em relação à saliva de crianças sem a condição. Observou-se uma diminuição significativa na concentração de proteínas totais, enquanto a capacidade antioxidante total não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

A redução na concentração de proteínas totais pode indicar um comprometimento potencial da defesa antioxidante salivar, uma vez que muitas dessas proteínas desempenham papel importante na neutralização de espécies reativas de oxigênio e na proteção contra danos oxidativos. A ausência de alterações significativas na capacidade antioxidante total sugere que, apesar da menor disponibilidade de proteínas com função antioxidante, outros componentes da saliva podem estar atuando para manter o equilíbrio redox global.

De forma geral, esses achados indicam que, em crianças com HMI, há uma modificação no perfil bioquímico salivar que pode refletir adaptações compensatórias para preservar a homeostase oxidativa. Essa condição, no entanto, merece atenção, pois mudanças persistentes nesse equilíbrio podem, a longo prazo, impactar a saúde oral e sistêmica.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciam que a saliva de crianças com Hipomineralização Molar e Incisivo apresenta uma redução significativa na concentração de proteínas totais, sem alterações estatisticamente significativas na capacidade antioxidante total. Esses achados sugerem que, embora haja diminuição de componentes salivares com potencial função protetora contra o estresse oxidativo, o equilíbrio redox global parece ser mantido, possivelmente por mecanismos compensatórios. A compreensão dessas alterações no perfil bioquímico salivar pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas mais direcionadas, visando minimizar complicações associadas à HMI e preservar a saúde bucal infantil.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED et al., Prevalence of molar-incisor hypomineralization and other enamel defects and associated sociodemographic determinants in Indiana. **J. am. dent. assoc.** v. 15, n. 7, p. 491-501, July 2020.

ALMULHIM, B. Molar and Incisor Hypomineralization. **J Nepal Med Assoc**, v.59, n. 235, p.295-302, 2021.

ARAÚJO, H. C. et al. Carious lesion severity induces higher antioxidant system activity and consequently reduces oxidative damage in children's saliva. **Oxidative med. cell. longev. (Online)**. v. 2020, p. 1-9, Jan. 2020.

BARBOSA, K.B.F. et al., Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. Nutr.**, Campinas, v 23 n 4, p 629-643, jul./ago., 2010.

BEKES, K. et al. Saliva proteomic patterns in patients with molar incisor hypomineralization. **Sci. rep. (Nat. Publ. Group)**. v. 10, n. 1, p. 7560, May 2020.

CERQUEIRA SILVA, R. N. et al. Impact of hypomineralised second primary molar on preschoolers' oral health – related quality of life – a hierarchical approach. **Int. j. paediatr. dent.** Oxford, v. 32, n. 2, p. 194-203, June 2021.

DA SILVA FIGUEIREDO, M. J. Are hypomineralized primary molars and canines associated with molar-incisor hypomineralization? **Pediatr. dent.** Chicago, v. 39, n. 7, p. 445-449, Nov. – Dec. 2017.

FERREIRA, M. S.; ABREU, M. H. Saliva e saúde geral. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial**, v. 48, n. 4, p. 243-249, 2007.

FERRIER, **Denise R. Bioquímica ilustrada**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

GÓMEZ-CABRERA, M. C.; DOMENECH, E.; VIÑA, J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 2, p. 126-131, 2012.

GOYAL, A. et al. Prevalence, defect. Characteristics and distribution of other phenotypes in 3-to 6-year-old children affected with hypomineralised second primary molars. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.** Leeds, v. 20, p. 585-593, May 2019.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2015.

HASSANEEN, M.; MARON, J. L. Salivary diagnostics in pediatrics: applicability, translatability and limitations. **Frontiers in public health**. v. 5, p. 1-8, Apr. 2017.

IAPD FOUNDATIONAL ARTICLES AND CONSENSUS RECOMMENDATIONS. Management of Molar Incisor Hypomineralization, 2022.

LOPES, L. B. et al. Molar-incisor hypomineralization: an umbrella review. **Acta odontol. scand.** Oslo, v. 79, n. 5, p. 359-369, July 2021.

LYGIDAKIS, N. A. et al. Best clinical practice guidance for clinicians dealing with children presenting with molar-incisor-hypomineralisation (MIH): an updated European Academy of Pediatric Dentistry policy document. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.** Leeds, v. 23, n. 1, p. 3-21, Oct. 2021.

MALAMUD, D.; RODRIGUEZ-CHAVEZ, I. Saliva as a Diagnostic Fluid. **Dent. clin. North Am.** Philadelphia, v. 55, n. 1, p. 159-178, Jan. 2011.

MARTINS, J. R. et al. Salivary biomarkers of oxidative stress in children with dental caries: systematic review and meta-analysis. **Arch. oral biol.** v. 139, p. 105432, July 2022.

MUKHTAR, U. et al. Label-free quantitative proteomics reveals molecular correlates of altered biomechanical properties in molar incisor hypomineralization (MIH): an in vitro study. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.** Leeds, v. 23, p. 179-191, Jan. 2022.

PEREZ, V. A.; MANHUM, J. E.; HUBBARD, M. J. Pathogenesis of molar hypomineralisation: aged albumin demarcates chalky regions of hypomineralised enamel. **Frontiers in Physiology.** v. 11, Sept. 2020.

QUINTERO, Y. et al. Association between hypomineralization of deciduos and molar incisor hypomineralization and dental caries. **Braz. dent. j.** Ribeirão Preto, v. 33, n. 4, p. 113-119, June 2022.

SCHWENDICKE, F. et al. Global burden of molar incisor hypomineralization. **J. dent.** Guildford, v. 68, p. 10-18, Jan. 2018.

SCULLEY, D. V.; LANGLEY-EVANS, S. C. Salivary antioxidants and periodontal disease status. **Proc. nutr. soc.** Londres, v. 61, p. 137-143, 2002.

SOVIERO, V. et al. Prevalence and distribution of demarcated opacities and their sequelae in permanente 1st molars and incisors in 7 to 13-year-old Brazilian children. **Acta odontol. scand.** Oslo, v. 67, n. 3, p. 170-175, 2009.

SPIELMAN, N; WONG, D. T. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. **Oral dis.** Houdmills, v. 17, n. 4, p. 345-354, May 2011.

ZHAO, D. et al. The prevalence of molar incisor hypomineralization: evidence from 70 studies. **Int. j. paediatr. dent.** Oxford, v. 28, n. 2, p. 170-179, Mar. 2018.

9 ANEXOS

- ANEXO A: COMITÉ DE ÉTICA

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Alterações salivares associadas à hipomineralização dental em crianças

Pesquisador: Cristina Antoniali Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 71319123.2.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.206.075

Apresentação do Projeto:

A hipomineralização é um defeito qualitativo, que se apresenta em molares e incisivos permanentes, é conhecida clinicamente como Hipomineralização Molar Incisivo (HMI). Quando ocorre na dentição decídua, pode ser observada nos segundos molares decíduos, e muitas vezes, pode englobar primeiros molares decíduos e caninos decíduos, sendo denominada Hipomineralização de Segundos Molares Decíduos (HSMDD). A saliva contém biomarcadores que podem ser analisados e quantificados. A presença da glutatona redutase, uma enzima que participa da desintoxicação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em pacientes com HMI, sugere uma alteração do estresse oxidativo salivar. Estudos prévios de nosso grupo mostraram que a cárie em crianças de 0-3 anos reduz o dano oxidativo salivar ao aumentar a atividade de sistema antioxidante enzimático e não enzimático. Além disto, mostramos também que há uma correlação positiva e forte entre a severidade das lesões de cárie e a capacidade antioxidante total (TAC), e entre severidade de lesão de cárie e atividade de sistema antioxidante não enzimático (ácido úrico, AU) e enzimático (superóxido dismutase, SOD), levando a redução progressiva do dano oxidativo salivar. Mais recentemente demonstramos que a severidade da lesão de cárie leva ao aumento progressivo da atividade de SOD sensível ao cianeto de potássio e consequentemente ao aumento, também progressivo, da biodisponibilidade de óxido nítrico (NO). Considerando que hipomeralização promove aumento da concentração de proteínas salivares, entre elas algumas

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3234

Fax: (18)3636-3203

E-mail: cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.206.075

relacionadas a ação antioxidante, levantamos a hipótese que esta alteração poderia alterar os diferentes biomarcadores salivares de estresse oxidativo. Não encontramos na literatura, até o momento, artigos que avaliaram alterações nos biomarcadores salivares de estresse oxidativo e sua possível correlação com a hipomineralização. O objetivo deste estudo será avaliar parâmetros bioquímicos da saliva de crianças com HSMD e HMI. Serão incluídos neste estudo 5 grupos de 15 pacientes de 0-6 anos de idade e de 6-12, matriculadas nas EMEBs da cidade de Araçatuba e atendidas na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP. O número amostral foi calculado com base em estudos prévios de nosso grupo utilizando como variável primária a concentração de ácido úrico salivar e um poder de teste de 80%, pelo programa Open Epi, versão 3. As amostras de saliva não estimuladas serão coletadas dos pacientes após 2 horas de jejum, no período da manhã. Experimentos bioquímicos, previamente padronizados para amostras de saliva, serão conduzidos para avaliação da concentração total de proteínas, concentração e/ou expressão de albumina, peroxidação de lipídios, proteínas carboniladas, capacidade antioxidante total, ácido úrico, atividade da superóxido dismutase (SOD) total, SOD sensível e insensível ao cianeto de potássio e concentração de nitrito (NO₂⁻) salivar, de cálcio (Ca²⁺), fosfato (PO₄³⁻), e Flúor (F) salivar. Os resultados obtidos serão comparados entre os grupos por análise estatística aplicando teste de multivariância (ANOVA, com pós-teste de Student-Newman-Keuls para dados com distribuição normal ou pós-teste de Tukey, se não houver distribuição normal, (p <0,05), além de correlação de Pearson e Spearman.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a incidência de crianças com HSMD e HMI no município de Araçatuba e possível correlação com as alterações da composição bioquímica e biomarcadores de estresse oxidativo salivar.

Objetivo Secundário:

Quantificar a incidência de crianças de 0-6 anos com HSMD e de 6-12 anos com HMI no município de Araçatuba. Avaliar a associação entre a prevalência de HSMD e HMI e dados colhidos através de questionário sobre: gestação, nascimento, doenças e medicamentos administrados para a criança até os 3 anos. Será também perguntado o comportamento da criança frente às alterações e se há algum parente com esses quadros. Avaliar a hipersensibilidade dentinária causada por HMI/HSMD através de escala (0 a 2) Avaliar a presença de cárie dentária (lesão de dentina) associada à HSMD e HMI Avaliar possíveis alterações bioquímicas na saliva de crianças com HSMD e HMI Avaliar

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3234 **Fax:** (18)3636-3203 **E-mail:** cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.206.075

possíveis alterações de biomarcadores salivares de estresse oxidativo na saliva de crianças com HSMD e HMI

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Essa pesquisa oferece riscos mínimos. Os riscos serão os mesmos de uma consulta odontológica de rotina.

Benefícios:

Além dos benefícios para a ciência, a criança será encaminhada para tratamento clínico especializado na UBS e/ou Faculdade de Odontologia - Campus de Araçatuba UNESP

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

PESQUISA APRESENTA-SE APTA PARA A SUA REALIZAÇÃO.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram adicionados de acordo com a resolução 466/12 DO CNS.

Recomendações:

NÃO HÁ.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

PESQUISA APRESENTA-SE APTA PARA A SUA REALIZAÇÃO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Salientamos que, de acordo com a Resolução 466 CNS, de 12/12/2012 (título X, seção X.1., art. 3, item b, e, título XI, seção XI.2., item d), há necessidade de apresentação de relatórios semestrais, devendo o primeiro relatório ser enviado até 28/01/2014.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2173910.pdf	14/07/2023 16:31:27		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa_PB.pdf	14/07/2023 13:21:53	HAYLLA DE FARIA HORTA	Aceito
TCLE / Termos de	Termo_de_consentimento_livre_e_es	14/07/2023	HAYLLA DE FARIA	Aceito

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193

Bairro: VILA MENDONÇA

CEP: 16.015-050

UF: SP

Município: ARACATUBA

Telefone: (18)3636-3234

Fax: (18)3636-3203

E-mail: cep.foa@unesp.br

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA-CAMPUS DE
ARAÇATUBA/ UNIVERSIDADE
ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO
DE MESQUITA FILHO"



Continuação do Parecer: 6.206.075

Assentimento / Justificativa de Ausência	clarecido.pdf	13:18:57	HORTA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento_do_menor.pdf	14/07/2023 13:18:45	HAYLLA DE FARIA HORTA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	14/07/2023 13:17:59	HAYLLA DE FARIA HORTA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACATUBA, 28 de Julho de 2023

Assinado por:
André Pinheiro de Magalhães Bertoz
(Coordenador(a))

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3234 **Fax:** (18)3636-3203 **E-mail:** cep.foa@unesp.br

Página 04 de 04

- ANEXO B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: “**Alterações salivares associadas à hipomineralização dental em crianças**”

Nome da Pesquisadora: Haylla de Faria Horta

Nome da Orientadora: Cristina Antoniali Silva

1. **Natureza da pesquisa:** a Sra. (Sr.) está sendo convidada (o) a participar desta pesquisa que tem como finalidade avaliar a presença de anomalias dentárias e defeitos qualitativos específicos no desenvolvimento do esmalte que acometem incisivos e primeiros molares permanentes ou decíduos (hipomineralização molar-incisivo), além do acometimento pela cárie dentária e serão avaliados a concentração total de proteínas, concentração e/ou expressão de albumina, peroxidação de lipídeos, proteínas carboniladas, capacidade antioxidante total, ácido úrico, atividade da superóxido dismutase (SOD) total, SOD sensível e insensível ao cianeto de potássio e concentração de nitrito, cálcio, fosfato e flúor salivar.
2. **Participantes da pesquisa:** Serão selecionadas 75 crianças de 0-6 anos, entre as participantes do Projeto de Extensão Sorriso Feliz e de 6-12 anos, entre as atendidas na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo a (o) Sra. (Sr.) permitirá que a pesquisadora realize o exame bucal em seu filho (a), aplique um questionário destinado aos pais e colete saliva da cavidade bucal do seu filho. A (O) Sra. (Sr.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) seu filho(a). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. **Sobre as entrevistas:** Não serão realizadas entrevistas
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas (a coleta de saliva será feita por um método que causa risco mínimo, não invasivo e indolor, utilizando um dispositivo com o nome comercial de SALIVETE®. Este dispositivo contém um pequeno rolo de algodão, que será posicionado na cavidade bucal). Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme resolução n. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde – Brasília – DF. Não haverá riscos e desconfortos para os voluntários da pesquisa. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente à pesquisadora Haylla de Faria Horta, a orientadora Prof. Assoc. Dra. Cristina Antoniali Silva e sua equipe de pesquisa composta pela Prof. Assoc. Dra. Cristiane Duque e Prof. Assoc. Dr. Antonio Hernandes Chaves-Neto, que terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

7. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa a (o) Sra. (Sr.) autorizará que nós da equipe de pesquisa, realizaremos um exame clínico completo no menor, poderá ser realizado encaminhamentos. Além destes benefícios diretos, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre diagnóstico e incidência sobre a hipomineralização molar incisivo (HMI), hipomineralização de segundos molares decíduos (HSMD) e cárie, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa auxiliar o Cirurgião-Dentista no tratamento desta patologia onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
8. **Pagamento:** a Sra. (Sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Obs.: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

Confiro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar desta pesquisa:

Nome do Participante da Pesquisa (Nome da Criança)

Assinatura do Participante da Pesquisa (Responsável pela Criança)

Cirurgião-Dentista Haylla de Faria Horta

Prof. Assoc. Dra Cristina Antoniali Silva

Pesquisadora: Haylla de Faria Horta (31) 99810-1579

Orientadora: Cristina Antoniali Silva

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. André Pinheiro de Magalhães Bertoz

Vice-Coordenador: Profa. Aimée Maria Guiotti

Telefone do Comitê: (18) 3636-3234

E-mail: cep@foa.unesp.br