



Caracterização salivar de crianças e jovens com doença celíaca:
estudo piloto

Aluna: Sofia Reis da Costa
Orientadora: Mestre Maria Teresa Xavier
Coorientadora: Dr.^a Daniela Santos Soares

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Coimbra, 2016

Caracterização salivar de crianças e jovens com doença celíaca:

estudo piloto

Costa S., Soares D., Xavier M.

Afiliação dos Autores

Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Av. Bissaya Barreto, Bloco de Celas

3000-075 Coimbra

Portugal

Tel.: +351 239 484 183

Fax.: +351 239 402 910

Endereço de e-mail: sofia.r.costa92@gmail.com

Índice

Resumo.....	4
Introdução.....	6
1. Definição da doença celíaca.....	6
2. Epidemiologia.....	6
3. Etiopatogénese.....	7
4. Classificação.....	8
5. Aspetos histológicos.....	9
6. Características clínicas.....	9
6.1. Manifestações orais.....	9
6.2. Alterações salivares.....	11
7. Diagnóstico.....	11
8. Abordagem terapêutica.....	13
Materiais e Métodos.....	14
Resultados.....	18
Discussão.....	26
Conclusão.....	29
Agradecimentos.....	30
Bibliografia.....	31
Anexos.....	35

Resumo

Introdução: A doença celíaca consiste numa doença autoimune crónica, que envolve uma resposta inata e adaptativa em indivíduos geneticamente predispostos e que foram expostos ao glúten. A cavidade oral destas crianças e jovens pode apresentar várias manifestações, incluindo alterações salivares.

Pretende-se, com este trabalho, avaliar o fluxo, consistência e pH da saliva não estimulada, assim como o fluxo e capacidade tampão da saliva estimulada de pacientes com diagnóstico de doença celíaca e comparar estes fatores com os obtidos em pacientes saudáveis.

Materiais e Métodos: A saliva estimulada e não estimulada foi colhida por um único operador, a dois grupos de indivíduos com idade pediátrica - um com diagnóstico de doença celíaca e o outro saudável – durante os meses de Abril e Maio de 2016, na consulta de Odontopediatria do Mestrado Integrado de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. De forma a garantir a padronização das condições de colheita salivar recorreu-se ao teste Saliva-check Buffer (GC). Os dados registados foram utilizados para posterior análise estatística.

Resultados: Não se observa associação ($p = 0.192$) entre o fluxo salivar não estimulado, nem entre o tipo de consistência ($p = 0.462$) ou o pH ($p = 1.000$) e os grupos testados. Assim como, não se observa associação ($p = 0.790$) entre o fluxo de saliva estimulada ou a capacidade tampão ($p = 1.000$) e os grupos testados.

Conclusão: No presente trabalho verificou-se que no grupo de doentes celíacos, o fluxo da saliva estimulada encontrava-se diminuído ao contrário da saliva não estimulada. No entanto, não existem diferenças assinaláveis nos parâmetros salivares estudados (fluxo, consistência e pH da saliva não estimulada, fluxo e capacidade tampão da saliva estimulada) entre os pacientes celíacos e os saudáveis.

Palavras-chave: “celiac disease”, “gluten enteropathy”, “glúten sensitive enteropathy”, “coeliac disease”, “celiac sprue”, “nontropical sprue”, “child”, “saliva”, “oral manifestation”.

Abstract

Introduction: Celiac disease is a chronic autoimmune disease, that involves an innate and adaptive response in genetically predisposed individuals and that have been exposed to gluten. The oral cavity of these children and young adults can present several clinical manifestations, including salivary alterations.

The main purpose of this study is to evaluate flow rate, consistency and pH from unstimulated saliva, as well as flow and buffer capacity from stimulated saliva, in patients with celiac disease. The results were compared with control group.

Materials and Methods: The stimulated and unstimulated saliva were collected by a single operator, from two groups with paediatric age – experimental group with diagnosis of celiac disease and control group, during the months of April and May 2016, in Paediatric Dentistry clinic of the Integrated Master in Dentistry at the Faculty of Medicine, Coimbra University. In order to ensure the standardization of saliva sample collection in both groups it was used the Saliva-Check Buffer test (GC). The recorded data was used for further descriptive statistics analysis.

Results: No association was observed between both groups concerning to unstimulated salivary flow rate ($p = 0.192$), consistency ($p = 0.462$), or pH ($p = 1.000$). It was not also observed association between these groups related to stimulated salivary flow rate ($p = 0.790$) nor buffer capacity ($p = 1.000$).

Conclusion: In this study it was observed that in the group of celiac patients the flow of stimulated saliva was decreased unlike the unstimulated saliva. However, there were no significant differences in the salivary parameters (unstimulated saliva pH, flow rate and buffering capacity of stimulated saliva) among celiac patients and healthy ones.

Keywords: "celiac disease", "gluten enteropathy", "gluten sensitive enteropathy", "celiac disease", "sprue celiac", "nontropical sprue", "child", "saliva", "oral manifestation."

Introdução

1. Definição da doença celíaca

A doença celíaca (DC) consiste numa doença autoimune crónica, que envolve uma resposta inata e adaptativa em indivíduos geneticamente predispostos e que foram expostos ao glúten (tem na sua constituição várias proteínas - as gluteínas e as gliadinas são as principais, sendo este último grupo o mais imunogénico)^(1,2,3,4).

Atualmente, para além da DC, existem outras duas grandes formas de distúrbios gastrointestinais relacionadas com a introdução do glúten na dieta - sensibilidade ao glúten não relacionada com a DC (NCGS) e alergia ao glúten⁽¹⁾.

A NCGS refere-se a um espectro de manifestações clínicas semelhantes aos sintomas gastrointestinais e/ou extraintestinais presentes na DC - dor abdominal, diarreia, fadiga e depressão, que resulta da ingestão de glúten ou de outras proteínas relacionadas. Nestes casos não se verificam quaisquer alterações histológicas ou serológicas características⁽¹⁾.

A alergia ao glúten consiste numa resposta imunomediada pela IgE, resultante da hipersensibilidade à fração não-glúten - albumina/globulina, através da ingestão ou inalação de glúten. O espectro clínico inclui características gastrointestinais (dor abdominal, edema e flatulência), respiratórias, anafilaxia induzida por exercício físico (que por sua vez pode desencadear angioedema, dispneia e choque) e urticária⁽¹⁾.

2. Epidemiologia

A DC tem uma prevalência mundial de cerca 1% e em Portugal, de acordo com os valores estimados em 2006, é de 1:134, encontrando-se em concordância com os resultados encontrados em outras populações europeias^(6,7,8,9). Em 1991, Richard Logan, publicou pela primeira vez o conceito de “iceberg celíaco”, referindo-se assim à prevalência da doença⁽¹⁾. Segundo esta teoria, a área situada abaixo da linha de água é representativa do número total de casos não diagnosticados, estimando-se que na Europa por cada caso diagnosticado, existam 5 a 13 por diagnosticar⁽¹⁾.

Verifica-se um aumento da incidência, que pode estar relacionada com a introdução de métodos serológicos de diagnóstico ou com o real aumento de novos casos na população infantil e adulta^(2,6,10).

O género feminino é o mais afetado pela DC, numa proporção de 3:1, podendo ser explicado pelo facto das mulheres serem mais predispostas para o desenvolvimento de anemia ferropénica e para doenças autoimunes^(1,11).

3. Etiopatogénese

A patogénese da DC está dependente da interação da tríade genes-glúten-ambiente^(1,12,13,14).

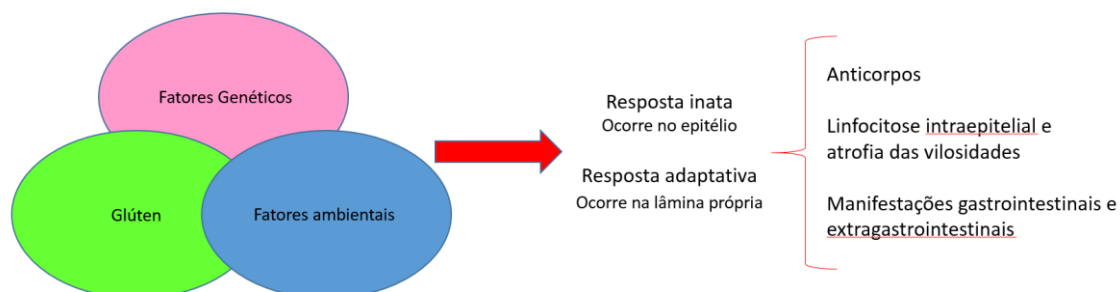


Fig. 1 – Patogénese da doença celíaca (adaptado de Peter H. R. Green *et al*, 2015)⁽¹⁾.

Atualmente sabe-se que os principais genes envolvidos são HLA-DQ2 e HLA-DQ8, sendo que cerca de 30 a 40% da população mundial é portadora de pelo menos um destes alelos^(1,2,12,14). Os indivíduos que não possuem nenhum destes alelos, não irão desenvolver DC e apenas 2 a 5% dos indivíduos que possuem HLA-DQ2 e/ou HLA-DQ8 e que são expostos ao glúten desenvolvem a doença^(1,2,46,47).

Assim existem fatores ambientais a ter em consideração, tais como^(1,2):

- tipo de parto (a cesariana constitui um fator de risco);
- tipo de aleitamento (a amamentação produz um efeito protetor);
- idade da exposição ao glúten (pensa-se que a introdução de glúten na dieta entre os 4 e os 6 meses de idade tem um efeito protetor, pois neste período existe uma tolerância do sistema imunitário aos antígenos do intestino, e deve ocorrer, preferencialmente, durante o período de amamentação);
- quantidade de glúten ingerida (a introdução de glúten na dieta deve ser feita de forma gradual);
- infeções do trato gastrointestinal (estas levam ao aumento da permeabilidade da barreira epitelial da mucosa intestinal, ao aumento da produção de enzimas tTG e ao aumento de interferon);
- alterações da microbiota intestinal (que podem ser causadas por antibióticos).

O glúten contém proteínas solúveis em álcool, que são mal digeridas no trato gastrointestinal humano, uma vez que são resistentes à ação das endopeptidases^(1,3). Assim, nos doentes celíacos, os fragmentos de glúten parcialmente digeridos passam através da barreira epitelial da mucosa intestinal, quando a permeabilidade desta está aumentada, constituindo o agente patogénico⁽¹⁾. Tanto a resposta adaptativa como a inata são estimuladas pela presença destes fragmentos⁽¹³⁾.

É na lâmina própria do intestino que ocorre a resposta adaptativa, uma vez que as enzimas transglutaminases (tTG) vão ativar os fragmentos de glúten e vão permitir a sua apresentação às células T CD4⁺(1,3,13,40,45). Isto leva à libertação de citocinas inflamatórias o que resulta em alterações histológicas na mucosa intestinal como linfocitose intraepitelial e atrofia das vilosidades(1,12,13,40,43). A ativação dos linfócitos T CD4⁺ conduz à expansão clonal das células B que por sua vez produzem anticorpos AGA, EMA e anti-tTG(13,40). Também os macrófagos, células dendríticas e células B, que expressam o HLA-DQ2 e/ou o HLA-DQ8 na sua superfície, irão ligar-se aos fragmentos de glúten(1,13,40,44).

A resposta inata ocorre na componente epitelial da mucosa do intestino delgado e leva a um aumento da produção de citocinas, em particular a IL-5, conduzindo ao aumento da proliferação de macrófagos e de células dendríticas. Isto resulta na diferenciação de linfócitos intraepiteliais em células T CD8⁺ citotóxicas que expressam o marcador celular NK-G2D, o que promove a ativação da cascata de mediadores inflamatórios. Ocorrem assim, alterações intestinais como atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas(1).

4. Classificação

Segundo as *guidelines* da “European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition” (ESPGHAN) existem várias classificações, considerando a mais relevante a que distingue(1,2,39,38):

- **clássica** – tem início entre os 6 e os 24 meses de idade após introdução do glúten na dieta; caracterizada por sintomatologia gastrointestinal, nomeadamente dor e distensão abdominal, diarreia, vómitos, anorexia e obstipação; serologia positiva; lesões histológicas intestinais do tipo 2 e 3 segundo a classificação de Marsh;
- **atípica** – atinge principalmente jovens e adultos; caracterizada por sintomatologia extraintestinal; serologia positiva; lesões histológicas do tipo 1 a 3 de Marsh;
- **assintomática** – atinge principalmente os adultos; caracterizada por ausência de sintomatologia; serologia positiva; lesões histológicas do tipo 1 a 3 de Marsh;
- **latente** – atinge principalmente os adultos; caracterizada por ausência de sintomatologia; serologia pode ser negativa ou positiva; sem lesões histológicas a nível intestinal;
- **potencial** – atinge principalmente os adultos; caracteriza-se por ausência de sintomatologia; serologia positiva; ausência de lesões histológicas reveladas pela biópsia a nível intestinal.

Em 2011 o painel “International Celiac Disease Symposium”, em Oslo, definiu ser mais apropriado referir a DC como “clássica” e “sintomática” de forma a que os sintomas extraintestinais não sejam esquecidos⁽¹⁾.

5. Aspetos histológicos

A classificação de Marsh permite dividir as características histológicas observadas na mucosa do intestino do paciente celíaco em três grandes grupos, sendo estes a linfocitose intraepitelial, a hiperplasia das criptas e a atrofia das vilosidades^(1,2,3,15).

Tabela I – Classificação de Marsh⁽¹⁶⁾.

Fase 0	Mucosa pré-infiltrativa; mucosa do intestino apresenta aspeto normal
Fase 1	Aumento do número de linfócitos intraepiteliais superior a 30/100 enterócitos
Fase 2	Hiperplasia das criptas de Lieberkuhn, aumento da profundidade sem redução da altura das vilosidades
Fase 3	Atrofia das vilosidades de forma parcial ou total

6. Características clínicas

As crianças apresentam geralmente manifestações gastrointestinais, enquanto que os adultos apresentam outro tipo de manifestações como a anemia ferropénica (12 a 20%) e a osteoporose (40 a 50%)^(1,12). Menos de 50% dos adultos com DC apresentam sintomas gastrointestinais e apenas um pequeno grupo de crianças, cerca de um terço, apresenta sintomatologia da DC clássica, sendo que a maioria apresenta sintomatologia extraintestinal ou é assintomática, o que dificulta o diagnóstico^(2,6,17,18).

Tabela II – Caracterização sistémica da DC.

Características gastrointestinais	Características extraintestinais
Dor abdominal recorrente ^(1,2,3,13,15)	Alterações do crescimento ⁽²⁾
Distensão abdominal ⁽²⁾	Atraso no crescimento ^(2,15)
Diarreia persistente ou intermitente ^(1,2,13,15)	Dermatite herpetiforme ^(1,2)
Náuseas ou vómitos persistentes ^(2,15)	Estomatite aftosa recorrente ⁽²⁾
Obstipação crónica ⁽²⁾	Atraso da puberdade ⁽²⁾
Flatulência ⁽²⁾	Alterações ósseas ⁽²⁾
Anorexia ^(2,15)	Osteoporose ^(1,2)
	Anemia ferropénica ^(1,2,13,15)
	Fadiga ⁽²⁾
	Fraqueza ⁽²⁾
	Doenças hepáticas ^(1,2)
	Alterações neurológicas ⁽¹⁾
	Artrite ⁽¹⁾

6.1. Manifestações orais

Os defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) e a estomatite aftosa recorrente (EAR) são as manifestações orais mais comuns e bem documentadas na literatura^(17,7,8,9,41).

Adicionalmente, outras alterações orais como glossite atrófica, queilite angular, atraso na erupção dentária, microdontia, líquen plano, cárie dentária e disfunção das glândulas salivares também se encontram descritas^(6,18,19,20,41).

Os DDE são normalmente encontrados nos incisivos e molares permanentes, sendo geralmente simétricos e bilaterais^(7,8,19,20,21). Para a sua ocorrência formulou-se duas teorias: uma defende que são provocados por déficit de cálcio associado ao déficit de vitamina A e D (causada pela má absorção intestinal) durante a amelogenese e a outra descreve que o processo imunológico induzido pelo glúten, entre os 6 meses e os 7 anos de idade, afeta a atividade dos ameloblastos^(7,8,18,21,22).

Um sistema de classificação para os DDE, foi proposto por Aine, agrupando a hipomineralização, hipoplasia e a sua associação numa classificação de 5 categorias^(8,11).

Tabela III - Classificação dos DDE segundo Aine⁽¹¹⁾.

Grau 0	Sem defeito
Grau 1	Defeitos na coloração do esmalte: opacidades únicas ou múltiplas de cor creme, amarelo ou castanho com margens definidas ou difusas, uma parte ou toda a superfície do esmalte sem brilho
Grau 2	Defeitos estruturais leves: superfície áspera, com sulcos horizontais; podem ser encontradas opacidades e descolorações; uma parte ou toda a superfície do esmalte sem brilho
Grau 3	Defeitos estruturais evidentes: parte ou totalidade da superfície do esmalte áspera, sulcos horizontais profundos com largura variável ou grandes sulcos verticais; grandes opacidades de diferentes cores e/ou fortes descolorações
Grau 4	Defeitos estruturais severos: forma do dente alterada, ponta das cúspides pontiagudas e/ou bordos incisais com desgaste irregular e ásperos, margem das lesões bem definidas; a lesão pode estar fortemente descolorada

A EAR pode afetar qualquer idade e ambos os géneros, sendo mais frequentes em crianças, adolescentes e género feminino⁽¹²⁾. As úlceras têm, geralmente, uma forma redonda ou oval bem demarcada com uma superfície central necrótica e com um halo eritematoso, atingindo mais frequentemente os lábios, palato e mucosa^(12,15). Clinicamente podem caracterizar-se em três formas: *minor* (é a mais comum; pequenas úlceras que cicatrizam em 10 a 14 dias), *major* (úlceras maiores do que as *minor* que cicatrizam até 6 semanas) e herpetiforme (lesões múltiplas que podem coalescer e durar 7 a 10 dias)⁽¹⁷⁾. A causa exata para o aumento da incidência de aftas recorrentes em doente celíacos não é conhecida, mas pensa-se estar relacionada com trauma, stress, alterações hormonais, alergias, défices de ferro, ácido fólico e vitamina B12 e com ocorrência de infecções^(7,11,22).

Pacientes celíacos não apresentam maior suscetibilidade à cárie dentária, o que pode dever-se às restrições alimentares na dieta imposta a estas crianças e jovens^(3,11). Foram

demonstrados níveis de *Streptococcus* e de *Lactobacillus* significativamente mais baixos em doentes celíacos comparativamente com pacientes que não têm DC^(22,36).

6.2. Alterações salivares

O fluxo salivar é influenciado pela hidratação e posição corporal, exposição à luz, estimulação prévia da produção salivar, ritmo cardíaco, tamanho das glândulas salivares e consumo de drogas. Dawes C. *et al* demonstraram que um indivíduo saudável, aquando de estimulação salivar através da mastigação de uma pastilha elástica, produz 6 ml de saliva no primeiro minuto e que nos 15 minutos seguintes o fluxo decresce para 1 ml/min⁽¹⁹⁾.

Em relação ao fluxo salivar nos doentes celíacos, não há consenso na literatura - alguns estudos referem estar diminuído, outros não registam qualquer alteração. Esta ambiguidade de resultados é também relatada em relação ao pH e à capacidade tampão. Nestes pacientes, a composição proteica também pode estar alterada, nomeadamente a concentração do total de proteínas, albumina, IgA, IgM, amílase e mieloperoxidase^(7,11,15,19).

De acordo com Mina *et al* e Lenander-Luminkari *et al*, as diferenças da composição proteica salivar são significativas entre doentes celíacos que não iniciaram o tratamento e doentes celíacos que têm uma dieta sem glúten⁽¹⁹⁾. Esta diferença já não se verifica entre doentes celíacos que iniciaram o tratamento e pacientes que não têm DC⁽¹⁹⁾. Lenander-Luminkari *et al* defendem que doentes celíacos que têm uma dieta sem glúten produzem menores quantidades de albumina, IgA e IgM aquando da estimulação salivar comparativamente com pacientes que não têm DC^(14,19).

7. Diagnóstico

O diagnóstico de DC é feito através da análise serológica e histológica em conjunto com a resposta do indivíduo à exposição ao glúten^(14,25,42,49).

A avaliação de anticorpos IgA, EMA e tTG é altamente sensível e específica para o diagnóstico de DC (superior a 90%)^(10,12,18,42). No entanto o diagnóstico feito a partir do anti-EMA é bastante dispendioso, sendo necessário recorrer à imunofluorescência e requer avaliação microscópica⁽¹⁾.

Aquando da avaliação dos anti-IgA, deve-se ter sempre em conta o valor total de IgA no indivíduo, uma vez que 1 em 40 pacientes com DC apresenta défice de IgA, sendo que nestes casos se deve avaliar os anti-IgG^(1,18,48,49).

A realização dos testes serológicos é menos fiável em crianças com menos de 3 anos^(10,18).

Tabela IV– Testes serológicos no diagnóstico da DC⁽¹⁾.

Teste	Significado
TTG IgA	Teste de primeira linha altamente sensível e específico
EMA IgA	Teste altamente específico, no entanto depende do operador
Gliadina IgG	Pode estar aumentado em pacientes celíacos com déficit de IgA
TTG IgG	Pode estar aumentado em pacientes celíacos com déficit de IgA
Anti-Gliadina IgA e IgG	Teste menos sensível e específico do que o da pesquisa de TTG
Total de IgA	Permite a identificação de pacientes com déficit de IgA

Atualmente, as *guidelines* da ESPGHAN sugerem que a biópsia deve ser evitada na população pediátrica com sintomatologia da DC, sendo que nestes casos o diagnóstico é feito pelos testes serológicos e pesquisa dos alelos HLA-DQ2 e HLA-DQ8^(1,2).

Assim, em crianças sintomáticas com valores de anti-IgA e tTG dez vezes superiores aos considerados normais, a probabilidade de se verificar atrofia das vilosidades é muito alta⁽²⁾. Nestas situações, o diagnóstico de DC não necessita de biópsia, bastando a obtenção de resultados positivos de HLA-DQ2 e/ou HLA-DQ8 e de anti-EMA⁽²⁾.

Em cerca 10% dos casos, os resultados serológicos e os histológicos são inconsistentes⁽¹⁾. Os pacientes seronegativos são aqueles que apresentam alterações histológicas concordantes com o diagnóstico de DC, mas que não apresentam alterações serológicas significativas⁽¹⁾. No entanto, nestes casos é necessário excluir outras causas para a ocorrência de alterações histológicas na mucosa do intestino⁽¹⁾. Quando as alterações serológicas são concordantes com o diagnóstico de DC, mas não estão associadas a alterações histológicas da mucosa do intestino, define-se o indivíduo como potencial doente celíaco, devendo ser regularmente monitorizado⁽²⁾.

Como condições associadas à DC existem a diabetes mellitus tipo 1, doença de Addison, síndrome de Down, síndrome de Williams, síndrome de Turner, síndrome de Sjögren, doença autoimune do fígado e da tireóide. Assim, pacientes com estas patologias que não têm diagnóstico de DC são considerados doentes de risco^(1,2,3,11).

As *guidelines* da “Celiac Disease Committee of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition” (NASPGHAN) além de recomendarem que se realize testes serológicos aos grupos de risco, também recomendam a sua realização em familiares de primeiro grau de doentes celíacos, pois estes apresentam um risco de desenvolvimento de DC 5 a 10% superior ao da população geral^(2,8,13).

Atendendo a que os meios de diagnóstico atualmente preconizados são considerados invasivos, começam a surgir na literatura formas alternativas através da observação de manifestações orais, da análise de parâmetros salivares e da realização de esfregaços da mucosa oral^(19,20).

8. Abordagem terapêutica

A remoção do glúten da dieta é o único tratamento disponível para a DC, sendo que só deve ser iniciada após o estabelecimento do diagnóstico^(18,22,25). A monitorização do progresso clínico, apoio regular do nutricionista e suplementação nutricional de ferro, ácido fólico e cálcio, devem fazer parte do plano de tratamento destes pacientes^(1,2,15).

A maioria dos doentes celíacos reporta uma rápida melhoria clínica com o início do tratamento e passam a ser assintomáticos após algumas semanas⁽²⁾.

No futuro, novas formas de tratamento da DC poderão incluir o recurso a substâncias que permitam a regulação da permeabilidade intestinal, imunoterapia, modificações genéticas para o surgimento de grãos livres de glúten e desenvolvimento de enzimas que degradem o glúten⁽³⁾.

A monitorização da *compliance* do paciente ao tratamento pode ser feita através da avaliação dos anti-tTG e EMA^(1,2). Isto é especialmente importante em adolescentes que apresentam períodos de pouca adesão à dieta⁽²⁾.

A DC não controlada aumenta o risco de desenvolvimento de outras doenças autoimunes (dermatite herpetiforme, diabetes mellitus tipo 1, alterações da tiróide e défice de IgA), adenocarcinomas e linfomas no intestino, alterações linfoproliferativas extraintestinais como o linfoma não Hodgkin de células B, cancro (o risco de desenvolvimento de carcinomas nos pacientes celíacos é duas vezes superior ao risco da população geral), endocrinopatias, osteoporose, fraturas ósseas, infertilidade e alterações psíquicas^(14,21,22).

Objetivo

Pretende-se, com este trabalho, avaliar o fluxo, consistência e pH de saliva não estimulada, assim como o fluxo e capacidade tampão de saliva estimulada de pacientes com diagnóstico de DC, comparando estes fatores com os obtidos em pacientes saudáveis.

A hipótese nula deste trabalho é que não existem diferenças estatisticamente significativas entre o fluxo, consistência e pH da saliva não estimulada e fluxo e capacidade de tampão da saliva estimulada do grupo constituído por crianças e jovens celíacos e do grupo constituído por crianças e jovens saudáveis.

Materiais e Métodos

Para a pesquisa bibliográfica, efetuada na base de dados PubMed/Medline e EBSCOhost, foram utilizadas as seguintes palavras chave: “celiac disease”, “gluten enteropathy”, “gluten sensitive enteropathy”, “coeliac disease”, “celiac sprue”, “nontropical sprue”, “child”, “saliva”, “oral manifestation” conjugadas com os operadores booleanos “AND” e “OR”, dos quais são termos MeSH: “celiac disease”, “child”, “saliva” e “oral manifestation”.

Na seleção dos artigos foram definidos como critérios de inclusão: estudos clínicos com todo o tipo de desenho experimental, metanálises, revisões de literatura e sistemáticas, desde Janeiro de 2005 até Dezembro de 2015, redigidos em português ou inglês com resumo disponível online.

Complementarmente foram colhidas saliva estimulada e não estimulada por um único operador, a um grupo de estudo de sete crianças e jovens com diagnóstico de DC e a um grupo controlo de sete crianças e jovens saudáveis, durante os meses de Abril e Maio de 2016 (tabela V). A colheita salivar e o registo foram realizados após autorização e assinatura do consentimento informado pelos pais/tutores (Anexo 1), sendo esta colheita salivar complementada com o preenchimento das histórias clínicas médica e dentária (Anexo 2).

Tabela V – Critérios de inclusão e exclusão para a seleção das crianças e jovens observados.

	Grupo de estudo	Grupo controlo
Critérios de inclusão	Idade pediátrica A cumprir dieta sem glúten	Idade pediátrica
Critérios de exclusão	Outras patologias sistémicas associadas	Patologia sistémica Medicação

De forma a garantir a padronização das condições de colheita salivar das crianças e jovens com DC e saudáveis, recorreu-se ao teste Saliva-check Buffer (GC) (Anexo 3). Esta colheita salivar foi realizada durante a consulta de Odontopediatria do Mestrado Integrado de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Todas as recolhas foram feitas com o auxílio do teste acima referido e segundo o protocolo descrito pelo fabricante, encontrando-se divididas nos seguintes passos:

Passo 1 – Fluxo de saliva não estimulada

Com uma compressa, puxou-se gentilmente o lábio inferior e avaliou-se o tempo de formação de gotículas de saliva (Fig. 2):

- menos de 60 segundos, considera-se que o fluxo salivar está normal;
- mais do que 60 segundos, considera-se que o fluxo salivar está diminuído.



Fig. 2 – Avaliação do fluxo de saliva não estimulada.

Passo 2 – Consistência da saliva não estimulada

Avaliação visual da viscosidade da saliva que pode ser (Fig. 3):

- normal – aspeto claro;
- aumentada:
 - aspeto espumoso e pegajoso;
 - aspeto espumoso e borbulhante.



Fig. 3 – Avaliação da consistência da saliva não estimulada.

Passo 3 – pH da saliva não estimulada

Para determinação do valor do pH utilizou-se a escala colorimétrica do teste e pediu-se à criança para cuspir para um copo onde se mergulhou uma banda de análise. Ao fim de 10 segundos, analisou-se e comparou-se a alteração de cor com as cores referenciadas pelo fabricante (Fig. 4).

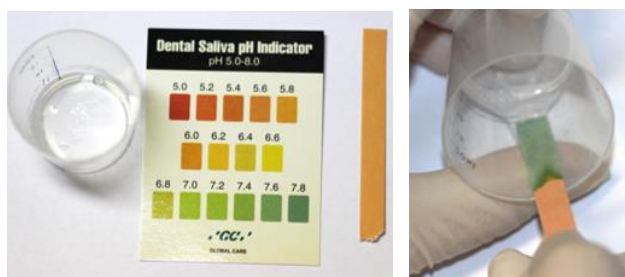


Fig. 4 – Avaliação do pH da saliva não estimulada.

Passo 4 – Fluxo de saliva estimulada

Pediu-se à criança ou jovem para mastigar uma porção de parafina e após 30 segundos cuspir para um copo, devendo continuar a mastigar por mais 5 minutos e cuspir a cada 20 segundos para o mesmo copo. De seguida mediu-se a quantidade total de saliva obtida (Fig. 5):

- menor do que 3,5ml - considera-se que o fluxo salivar está muito diminuído;
- entre 3,5 e 5,0ml - considera-se que o fluxo salivar está diminuído;
- maior do que 5,0ml, considera-se que o fluxo salivar está normal.



Fig. 5 – Avaliação do fluxo da saliva estimulada.

Passo 5 – Capacidade tampão da saliva estimulada

Com uma pipeta recolheu-se a saliva obtida no passo 4 e colocou-se uma gota em cada local de análise da capacidade tampão (3 locais) da tira do teste. Após 2 minutos comparou-se a mudança de cor observada com o indicador que acompanha o teste (Fig. 6 e Tabela VI).

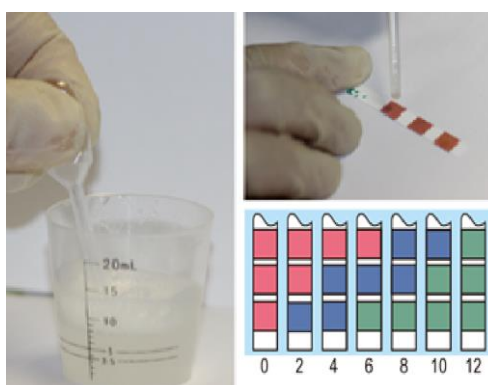


Fig. 6 – Avaliação da capacidade tampão da saliva estimulada.

Tabela VI – Interpretação dos resultados da capacidade tampão da saliva estimulada.

Pontos	Capacidade Tampão
0 – 5	Muito baixa
6 – 9	Baixa
10 - 12	Normal/alta

A análise dos dados foi feita de forma descritiva, optando-se por estatísticas apropriadas: para variáveis qualitativas usaram-se proporções das respostas e para as variáveis quantitativas a média e a mediana.

Os dados registados foram utilizados para posterior análise estatística, recorrendo ao teste exato de Fisher para testar a associação entre variáveis qualitativas, através do programa IBM® SPSS v20®, usando um nível de significância de 5% (0,05).

Resultados

Da pesquisa inicial, resultante da conjugação das palavras-chave, identificaram-se 175 referências, a partir das quais, e após a aplicação de critérios de inclusão e a análise do conteúdo científico do resumo disponível online, obtiveram-se 43 referências. A estas, adicionaram-se 7 publicações obtidas por pesquisa cruzada, perfazendo um total de 50 artigos analisados (Anexo 3).

Os resultados da avaliação do fluxo salivar, consistência e pH de saliva não estimulada, assim como o fluxo salivar e capacidade tampão de saliva estimulada de pacientes com diagnóstico de DC e pacientes saudáveis encontram-se nas tabelas e gráficos abaixo apresentados.

Foram observadas sete crianças e jovens com diagnóstico de DC (grupo de estudo) na consulta de Odontopediatria do Mestrado Integrado de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra nos meses de Abril e Maio de 2016. Do total desta amostra, cinco são do género feminino e dois do género masculino. O valor médio das idades é de 13,06 anos que coincide com mediana (Tabela VII e Gráfico 1).

Tabela VII – Caracterização geral do grupo de estudo.

Variáveis	Resultados
Número de total de crianças e jovens com DC observadas	7
Género feminino	5
Género masculino	2
Média das idades	13,06
Mediana das idades	13
Número total de crianças sinalizadas com manifestações orais de DC	3

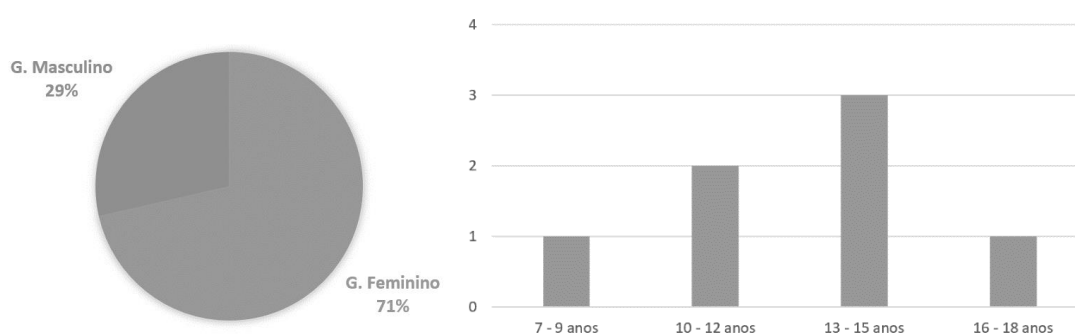


Gráfico 1 – Caracterização do grupo de estudo: género e idade.

Já no grupo de crianças e jovens saudáveis (grupo controlo), três são do género feminino e quatro do género masculino. O valor médio das idades desta amostra é 8,89 anos (Tabela VIII e Gráfico 2).

Tabela VIII - Caracterização geral do grupo controlo.

Variáveis	Resultados
Número de total de crianças e jovens com DC observadas	7
Género feminino	3
Género masculino	4
Média das idades	8,89
Mediana das idades	7,83

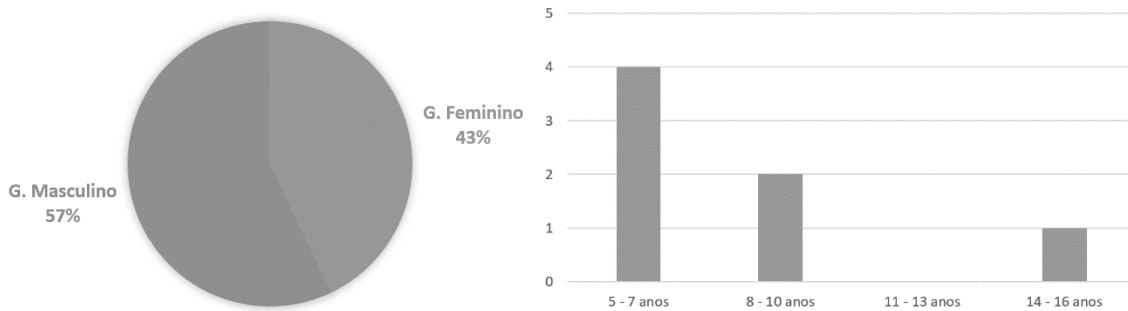


Gráfico 2 - Caracterização geral do grupo controlo: género e idade.

Das crianças observadas, três apresentam a doença do tipo clássica, três do tipo atípica e uma do tipo assintomático (Gráfico 3).

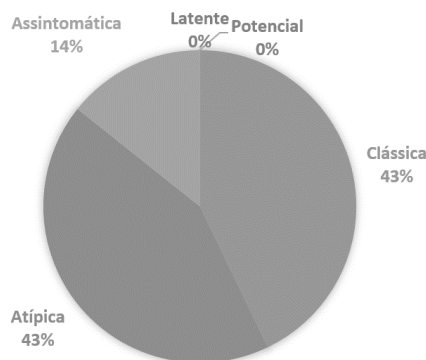


Gráfico 3 – Caracterização do grupo de estudo: tipo de doença.

No grupo com DC e idades iguais ou superiores a 12 anos, a maioria destes jovens não a apresenta na forma clássica (Tabela IX).

Tabela IX – Caracterização do grupo de estudo: tipo de DC e a idade.

	Clássica	Atípica	Assintomática	Latente	Potencial
< 12 anos	1	1	0	0	0
≥ 12 anos	2	2	1	0	0

De uma forma geral, o diagnóstico de DC foi tardio (em quatro crianças e jovens, este foi feito entre os 10 e 12 anos de idade) (Gráfico 4).

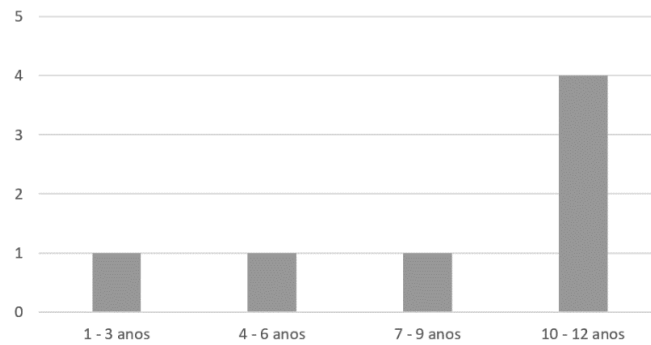


Gráfico 4 – Caracterização do grupo de estudo: idade de diagnóstico da DC.

A partir da análise da saliva não estimulada recolhida ao grupo de estudo, verifica-se que o fluxo é considerado normal em 100% da amostra (Gráfico 5). A saliva formada tem uma aparência aquosa e clara, considerando-se assim, que a sua consistência é do tipo normal (Gráfico 6).

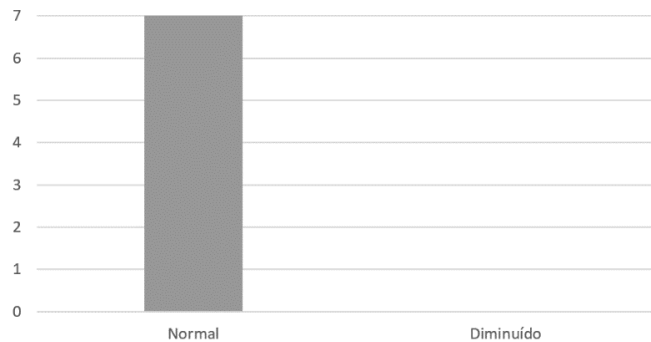


Gráfico 5 – Caracterização do fluxo da saliva não estimulada do grupo de estudo.

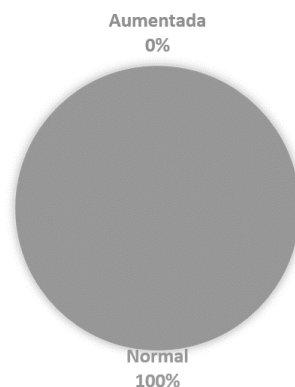


Gráfico 6 – Caracterização da consistência da saliva não estimulada do grupo de estudo.

Já a partir da análise da saliva não estimulada recolhida ao grupo controlo, verifica-se que o fluxo é considerado normal em quatro crianças ou jovens e considerado diminuído em apenas três (Gráfico 7). A consistência da saliva é do tipo normal em cinco pacientes e aumentada em duas crianças (sendo que numa é do tipo espumoso e pegajoso e noutra é do tipo espumoso e borbulhante) (Gráfico 8).

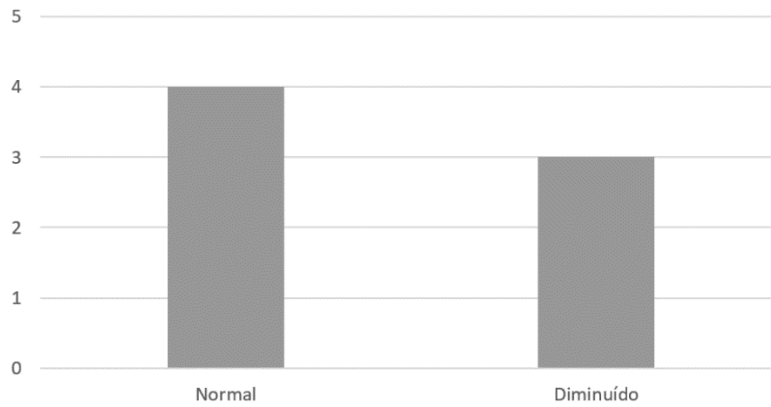


Gráfico 7 - Caracterização do fluxo da saliva não estimulada do grupo controlo.

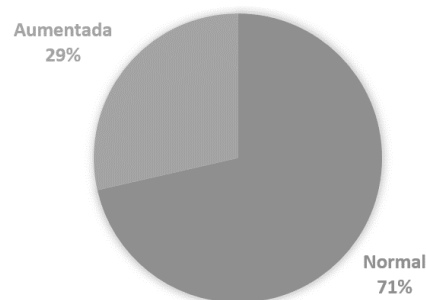


Gráfico 8 - Caracterização da consistência da saliva não estimulada do grupo controlo.

Não se observa associação ($p = 0.192$) entre o perfil de fluxo salivar não estimulado e os grupos testados (Gráfico 9), tal como entre o perfil da consistência da saliva não estimulada e os grupos testados ($p = 0.462$) (Gráfico 10).

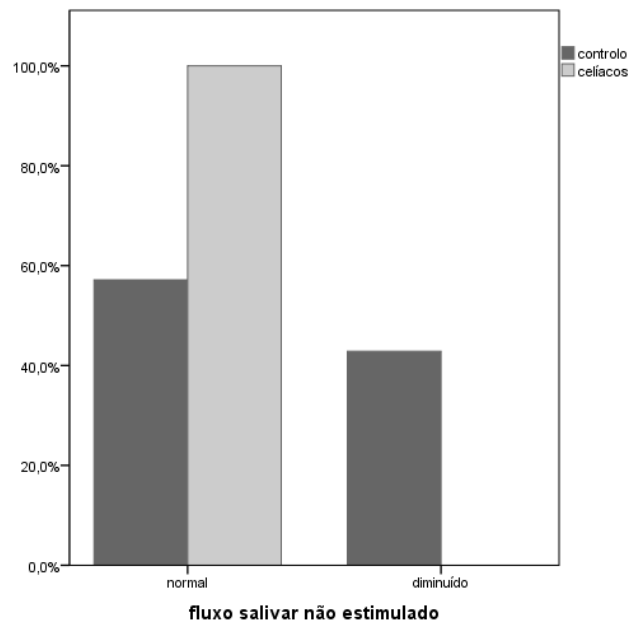


Gráfico 9 – Comparação do fluxo da saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo.

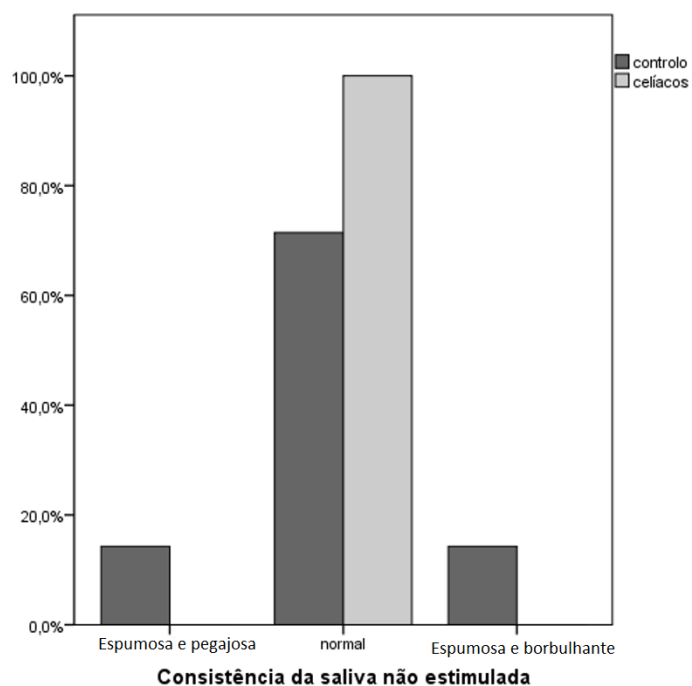


Gráfico 10 – Comparação da consistência da saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo.

Verifica-se que a maioria das crianças e jovens com diagnóstico de DC apresenta um pH de 7,6 (Tabela X).

Tabela X – Caracterização do pH da saliva não estimulada do grupo de estudo.

pH	Nº de crianças e jovens com DC	pH	Nº de crianças e jovens com DC
6.0	1	7.6	3
6.8	1	7.8	1
7.0	1		

Relativamente ao grupo controlo, a tabela XI descreve os pH encontrados nessa amostra.

Tabela XI - Caracterização do pH da saliva não estimulada do grupo controlo.

pH	Nº de crianças e jovens saudáveis	pH	Nº de crianças e jovens saudáveis
6.4	1	7.6	2
6.8	1	7.8	1
7.0	2		

Não se observa associação ($p = 1.000$) entre o pH de saliva não estimulada e os grupos testados (Gráfico 11).

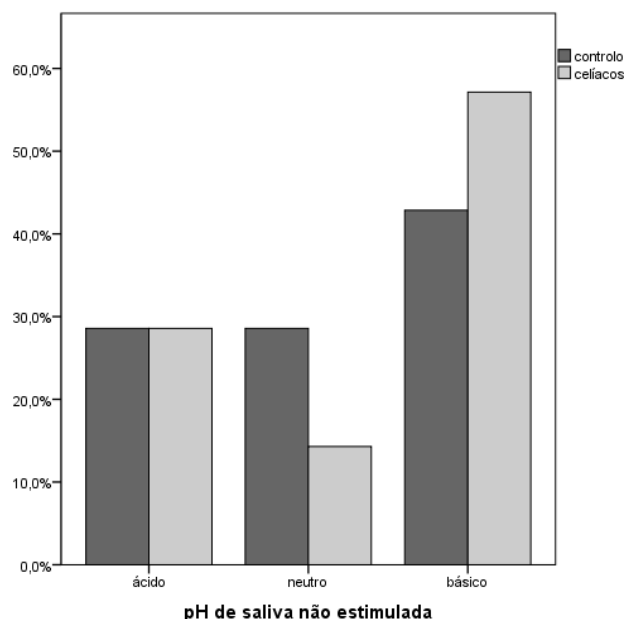


Gráfico 11 – Comparação do pH de saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo.

A partir da análise da saliva estimulada recolhida ao grupo de estudo, regista-se que 43% da amostra apresenta um fluxo salivar muito diminuído (< 3,5ml), 29% um fluxo salivar normal (> 5ml) e 28% um fluxo salivar diminuído (Gráfico 12). A capacidade tampão desta saliva é de 12 (normal/alta) em 6 indivíduos e é de 2 (muito baixa) numa criança (Tabela XII).

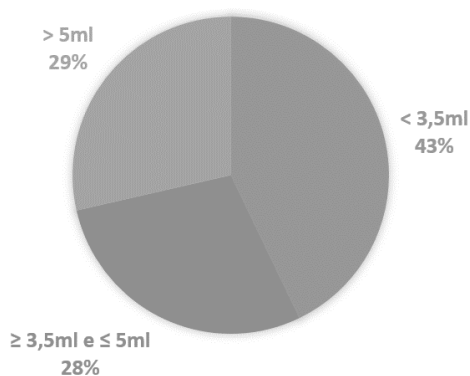


Gráfico 12 – Caracterização do fluxo da saliva estimulada do grupo de estudo.

Tabela XII – Caracterização da capacidade tampão da saliva estimulada do grupo de estudo.

Pontos (cores)	(RRR)	(RRB)	(RBB)	(BBB)	(BBG)	(BGG)	(GGG)
Nº de crianças e jovens com DC	0	2	4	6	8	10	12
	0	1	0	0	0	0	6

Já a partir da análise da saliva estimulada recolhida do grupo controlo, verifica-se que 12% apresenta um fluxo salivar muito diminuído (< 3,5ml), 38% um fluxo salivar diminuído ($\geq 3,5$ ml e ≤ 5 ml) e 50% um fluxo salivar normal (> 5ml) (Gráfico 13). A capacidade tampão desta saliva é de 6 (baixa) numa criança, é de 10 (normal/alta) numa criança e de 12 (normal/alta) em 5 crianças e jovens (Tabela XIII).

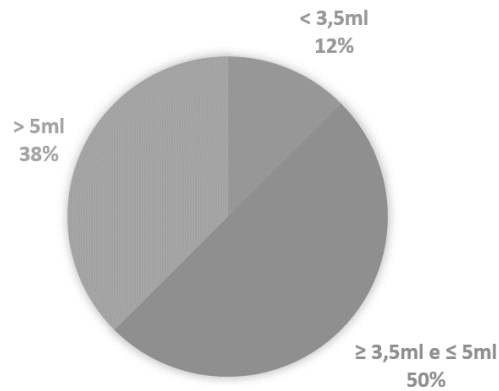


Gráfico 13 - Caracterização do fluxo da saliva estimulada do grupo controlo.

Tabela XIII - Caracterização da capacidade tampão da saliva estimulada do grupo de controlo.

Pontos (cores)	(RRR)	(RRB)	(RBB)	(BBB)	(BBG)	(BGG)	(GGG)
	0	2	4	6	8	10	12
Nº de crianças e jovens saudáveis	0	1	0	1	0	1	5

Não se observa associação ($p = 0.790$) entre o fluxo de saliva estimulada e os grupos testados (Gráfico 14). Assim como, não se observa associação ($p = 1.000$) entre a capacidade tampão da saliva estimulada e os grupos testados (Gráfico 15).

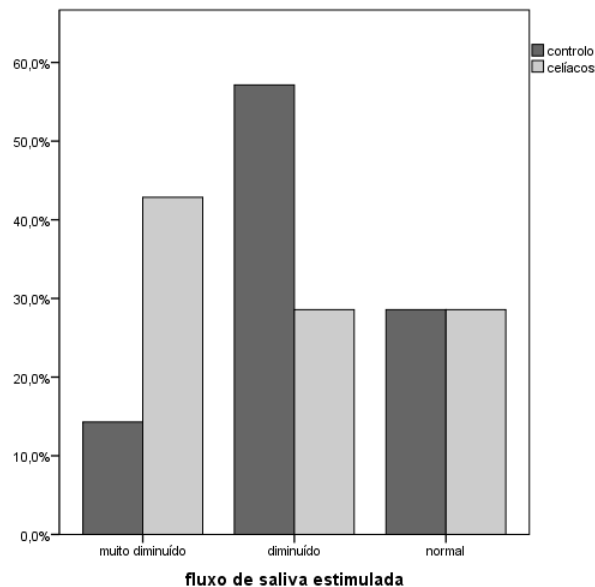


Gráfico 14 – Comparação do fluxo da saliva estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo.

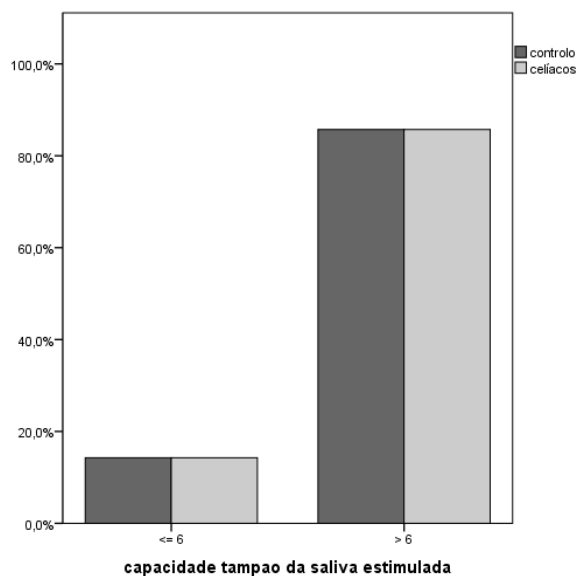


Gráfico 15 – Comparação da capacidade tampão da saliva estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo.

Estes resultados permitem-nos confirmar a hipótese nula – não existem diferenças estatisticamente significativas entre o fluxo, consistência e pH da saliva não estimulada e fluxo e capacidade tampão da saliva estimulada do grupo constituído por crianças e jovens celíacos e do grupo constituído por crianças e jovens saudáveis.

Discussão

As complicações associadas ao desenvolvimento de DC fazem com que o diagnóstico precoce seja crucial na população pediátrica⁽²⁹⁾.

É crescente e de primordial necessidade desenvolver um método de diagnóstico de DC que seja simples e inócuo e com elevada sensibilidade e especificidade⁽²⁶⁾.

A saliva é um biofluido oral com várias funções, tais como a digestão oral, lubrificação dos tecidos, proteção microbiana, manutenção da integridade dentária e homeostasia. Cerca de 99% do conteúdo salivar é água, sendo que o restante 1% representa os componentes orgânicos e inorgânicos. As proteínas (que integram os componentes orgânicos) são ricas em prolina, amilase, mucinas, lisozimas, IgA, lactoferrina, peroxidase, estaterinas, histatinas, metaloproteases da matriz, glicoproteínas e lipoproteínas, entre outras. A colheita salivar apresenta inúmeras vantagens relativamente a outros fluidos nomeadamente o sangue, tratando-se de um método pouco invasivo, particularmente útil na população com idade pediátrica, com baixos custos associados ao processamento e armazenamento das amostras e menor risco de contaminação. Permite ainda fornecer dados clínicos relevantes e informação celular relativa a compostos biologicamente ativos, que poderão ser usados para avaliar e monitorizar o cumprimento da dieta e o decurso da doença^(23,27,28).

A colheita passiva de saliva através de um coletor é a forma mais fácil de recolha e pensa-se que não altera a análise da mesma⁽¹³⁾. Já a colheita realizada com o paciente a cuspir para um copo, faz com que a saliva recolhida tenha 14 vezes mais bactérias o que afeta a análise da mesma⁽¹³⁾. A estimulação salivar através do ácido cítrico altera também a análise da saliva recolhida⁽¹³⁾. Já a mastigação com um cubo de parafina é provavelmente o ato mais fidedigno de recolha salivar⁽¹³⁾. Segundo o estudo realizado por Ilze Maldupa *et al*, o teste Saliva Check Buffer da GC é de grande rigor, sendo o seu uso bastante representativo^(35,50).

O despiste da DC através da análise salivar foi recentemente descrito na literatura como bastante vantajoso, promissor e aliciante para a população infanto-juvenil^(31,32,33). Existe no entanto, sempre a referência à necessidade de complementar estes resultados com a biópsia intestinal^(29,33,34).

De uma forma geral, pensa-se que as alterações provocadas pelo glúten não afetam o fluxo da saliva estimulada, nem o seu pH, contudo a sua composição (total de proteínas e concentração de albumina, IgA, IgM, amilase e de mieloperoxidase) pode estar alterada^(6,15,24,31). Num estudo feito por Paulo Cesar da Silva *et al* em 2008, o paciente celíaco apresentava um fluxo de saliva diminuído e sensação de boca seca⁽¹⁵⁾. No entanto, existem muitos fatores que não se encontram padronizados na maioria dos estudos como o tipo de saliva produzida, momento e tipo de recolha salivar, composição e fonte salivar (glândulas

salivares major ou minor) e condição psicológica podendo todas estas condições influenciar os resultados⁽⁴⁾. Lahteenoja *et al* também verificaram que os pacientes celíacos referiam sensação de boca seca e Ertekin V *et al* comprovaram que 58% dos pacientes celíacos apresentam xerostomia^(6,24).

Silvia Mina *et al* não observaram alterações significativas do fluxo salivar, nem da capacidade tampão entre a amostra de pacientes celíacos e pacientes saudáveis⁽¹⁹⁾. Também Sibel Acar *et al* em 2012, verificaram que o fluxo salivar, capacidade tampão e pH salivar são semelhantes quer na amostra de pacientes celíacos quer na amostra de pacientes saudáveis, corroborando os resultados obtidos neste estudo⁽²²⁾.

Num estudo de Silvia S. Mina *et al* registou-se que, apesar do volume total da saliva dos pacientes celíacos não estar alterado, os componentes inorgânicos, como a concentração de cálcio, a relação cálcio/fósforo e a capacidade tampão estavam diminuídos, comparativamente com os do grupo controlo^(19,30,31).

A literatura consultada não distingue a análise da saliva estimulada e não estimulada, ao contrário do presente trabalho onde se avaliou estes itens separadamente. Assim, a saliva não estimulada teve um fluxo e consistência (aparência aquosa e clara) normal em 100% do grupo de estudo e um pH de 7,6 em 42% do mesmo grupo. A saliva estimulada apresenta um fluxo diminuído (< 5ml) em 71% do grupo de estudo e uma capacidade tampão normal/alta (12) em 6 indivíduos do grupo de estudo, sendo considerada muito baixa (2) em apenas um paciente celíaco.

Não se observou associação entre o pH, o perfil de fluxo e a consistência da saliva não estimulada e os grupos testados ($p = 1.000$, 0.192 , $p = 0.462$, respetivamente). O mesmo se verificou em relação ao fluxo e à capacidade tampão da saliva estimulada ($p = 0.790$, 1.000).

Lenander-Lumikari *et al* reportaram que a concentração total de proteínas encontra-se elevada nos pacientes celíacos que não cumprem a dieta, comparativamente com os indivíduos saudáveis^(31,32). Nina S. *et al* verificaram que pacientes celíacos que seguem uma dieta livre de glúten, aquando da estimulação salivar, secretam níveis baixos de amilase, mieloperoxidase IgA e IgM, comparativamente com os indivíduos saudáveis^(14,,19,30,32).

Tem-se feito várias tentativas para usar a deteção de anticorpos tTG na saliva como despiste de DC^(29,30,34) e monitorização da adesão à dieta sem glúten^(29,30,31,33). Em pacientes celíacos que estão a cumprir a dieta, a quantidade deste anticorpo na saliva tende a diminuir drasticamente, sendo que a sua presença indica uma má adesão à terapêutica^(29,30,37).

Futuramente será relevante analisar a presença de anticorpos, concentração total proteica e avaliação enzimática nos dois tipos de saliva – estimulada e não estimulada, bem como em

pacientes diagnosticados com DC que não cumpram a dieta, de forma complementar ao presente estudo.

Como limitações deste trabalho tem-se o facto de não existir um padrão de avaliação salivar na bibliografia analisada, sendo que na maioria dos estudos não é especificado se os resultados são obtidos através da análise de saliva estimulada ou não estimulada

Acresce às limitações inerentes de um estudo piloto, a dificuldade referente ao próprio teste Saliva-check Buffer (GC), onde a correta identificação da alteração de cor registada em alguns parâmetros (avaliação do pH da saliva não estimulada e da capacidade tampão da saliva estimulada) ser bastante ambígua e dependente da avaliação do operador.

Conclusão

Com a execução deste trabalho, pode ser concluído que:

- no grupo de doentes celíacos o fluxo da saliva estimulada encontrava-se diminuído ao contrário da saliva não estimulada;
- não existem diferenças assinaláveis nos parâmetros salivares estudados (fluxo, consistência e pH da saliva não estimulada, fluxo e a capacidade tampão da saliva estimulada) entre os pacientes celíacos e saudáveis.

Embora não deva ser usado como método de rastreio, o teste Saliva-check Buffer para avaliação das propriedades salivares, a par da identificação de outras manifestações orais concomitantes, pode ser vantajoso como método complementar para o diagnóstico da DC e consequentemente referência para o médico assistente.

Agradecimentos

À Dr.^a Teresa Xavier e à Dr.^a Daniela Soares, orientadora e coorientadora, respetivamente, deste trabalho, pela paciência, apoio e dedicação mostrada ao longo deste ano letivo.

Ao Prof. Doutor Francisco Caramelo pela disponibilidade, participação e paciência mostrada ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Às Dr.^{as} Joana Cruz, Cátia Colaço e Beatriz Martinho e às minhas colegas Bárbara Cunha, Rita Torres Almeida e Ana Sofia Cardoso por todo o companheirismo e disponibilidade em me darem conselhos para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, por me ouvirem e por me darem conselhos para a realização deste trabalho.

Aos pais/tutores e crianças e jovens observados para a realização deste estudo na Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

Bibliografia

1. Green PH, Lebowitz B, Greywoode R. Celiac disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(5):1099-1106.
2. Leivers C, Martin G, Gasparetto M, Shelley H, Valente M. Coeliac disease. *Paediatrics and Child Health*. 2014;24(11):481-4.
3. Maloney WJ, Raymond G, Hershkowitz D, Rochlen G. Oral and dental manifestations of celiac disease. *N Y State Dent J*. 2014;80(4):45-8.
4. Helmerhorst EJ, Zamakhchari M, Schuppan D, Oppenheim FG. Discovery of a novel and rich source of gluten-degrading microbial enzymes in the oral cavity. *PloS one*. 2010;5(10):e13264.
5. Fernandez-Feo M, Wei G, Blumenkranz G, Dewhirst FE, Schuppan D, Oppenheim FG, et al. The cultivable human oral gluten-degrading microbiome and its potential implications in coeliac disease and gluten sensitivity. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(9):386-94.
6. Ertekin V, Sümbüliü MA, Tosun MS, Selimoğlu MA, Kara M, Kiliç N. Oral findings in children with celiac disease. *Çölyak hastalığı olan çocuklarda oral bulgular*. 2012;42(4):613-7.
7. Cantekin K, Arslan D, Delikan E. Presence and distribution of dental enamel defects, recurrent aphthous lesions and dental caries in children with celiac disease. *Pak J Med Sci*. 2015;31(3):606-9.
8. El-Hodhod MA, El-Agouza IA, Abdel-Al H, Kabil NS, Bayomi KA. Screening for celiac disease in children with dental enamel defects. *ISRN Pediatrics*. 2012;2012:1-7.
9. Bramanti E, Cicciu M, Maticena G, Costa S, Magazzu G. Clinical Evaluation of Specific Oral Manifestations in Pediatric Patients with Ascertained versus Potential Coeliac Disease: A Cross-Sectional Study. *Gastroenterology research and practice*. 2014;2014:1-9.
10. Brusca I, Carroccio A, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R, Barrale M, et al. The old and new tests for celiac disease: which is the best test combination to diagnose celiac disease in pediatric patients? *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(1):111-7.
11. Carvalho FK, de Queiroz AM, Bezerra da Silva RA, Sawamura R, Bachmann L, Bezerra da Silva LA, et al. Oral aspects in celiac disease children: clinical and dental enamel chemical evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol*. 2015;119(6):636-43.
12. Ferraz EG, Campos Ede J, Sarmiento VA, Silva LR. The oral manifestations of celiac disease: information for the pediatric dentist. *Pediatric dentistry*. 2012;34(7):485-8.
13. Pastore L, Campisi G, Compilato D, Lo Muzio L. Orally based diagnosis of celiac disease: current perspectives. *J Dent Res*. 2008;87(12):1100-7.

14. Mina S, Azcurra AI, Riga C, Cornejo LS, Brunotto M. Evaluation of clinical dental variables to build classifiers to predict celiac disease. *Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*. 2008;13(7):E398-402.
15. da Silva PC, de Almeida Pdel V, Machado MA, de Lima AA, Gregio AM, Trevilatto PC, et al. Oral manifestations of celiac disease. A case report and review of the literature. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. 2008;13(9):E559-62.
16. Bai J, Fried M, Corazza G, Schuppan D, Farthing M, Catassi C, et al. Doença Celíaca. <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/celiac-disease-portuguese-2012.pdf> (assessed 5 may 2016)
17. Campisi G, Di Liberto C, Carroccio A, Compilato D, Iacono G, Procaccini M, et al. Coeliac disease: oral ulcer prevalence, assessment of risk and association with gluten-free diet in children. *Digestive and liver disease*. 2008;40(2):104-7.
18. Rashid M, Zarkadas M, Anca A, Limeback H. Oral manifestations of celiac disease: a clinical guide for dentists. *J Can Dent Assoc*. 2011;77:b39.
19. Mina S, Riga C, Azcurra AI, Brunotto M. Oral ecosystem alterations in celiac children: a follow-up study. *Arch. Oral Biol*. 2012;57(2):154-60.
20. Bucci P, Carile F, Sangianantoni A, D'Angio F, Santarelli A, Lo Muzio L. Oral aphthous ulcers and dental enamel defects in children with coeliac disease. *Acta Padiatr*. 2006;95(2):203-7.
21. Paez EO, Lafuente PJ, García PB, Lozano JM, Calvo JCL. Prevalence of dental enamel defects in celiac patients with deciduous dentition: a pilot study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106:74-8.
22. Acar S, Yetkiner AA, Ersin N, Oncag O, Aydogdu S, Arıkan C. Oral findings and salivary parameters in children with celiac disease: a preliminary study. *Med Princ Pract*. 2012;21(2):129-33.
23. Erriu M, Sanna S, Nucaro A, Orru G, Garau V, Montaldo C. HLA-DQB1 haplotypes and their relation to oral signs linked to celiac disease diagnosis. *The open dentistry journal*. 2011;5:174-8.
24. Trandafir L, Anton-Paduraru D, Rusu D, Burlea M. Oral manifestations in celiac disease children. *Romanian journal of oral rehabilitation*. 2014;6(1):33-7.
25. Samasca G, Bruchental M, Butnariu A, Pirvan A, Andreica M, Cristea V, et al. Difficulties in celiac disease diagnosis in children - a case report. *Maedica – A Journal of Clinical Medicine*. 2011;6(1):32-5.
26. E, Scheidegger U, Spalinger J, Schoni M, Schibli S. Clinical presentation of celiac disease and the diagnostic accuracy of serologic markers in children. *Eur J Pediatr*. 2009;168(7):839-45..

27. Reilly NR, Green PH. Epidemiology and clinical presentations of celiac disease. *Semin Immunopathol.* 2012;34(4):473-8.
28. Fuchs V, Kurppa K, Huhtala H, Collin P, Maki M, Kaukinen K. Factors associated with long diagnostic delay in celiac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2014;49(11):1304-10 .
29. Bonamico M, Nenna R, Luparia RP, Perricone C, Montuori M, Lucantoni F, Castronovo A, Mura S, Turchetti A, Strappini P, Tiberti C. Radioimmunological detection of anti-transglutaminase autoantibodies in human saliva: a useful test to monitor coeliac disease follow-up. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28(3):364-70.
30. Condo R, Costacurta M, Docimo R. The anti-transglutaminase auto-antibodies in children's saliva with a suspect coeliac disease: clinical study. *Oral Implantol.* 2013;6(2):48-54.
31. Mina SS, Azcurra AI, Dorronsoro S, Brunotto MN. Alterations of the oral ecosystem in children with celiac disease. *Acta Odontol Latinoam.* 2008;21(2):121-6.
32. Hasan HR, Ghadhbani JM, Abudal Kadhum ZI. Salivary ceruloplasmin ferroxidase & oxidase activities in celiac patients. *Int J Biomed Sci.* 2012;8(3):163-170.
33. Adornetto G, Fabiani L, Volpe G, De Stefano A, Martini S, Nenna R, Lucantoni F, Bonamico M, Tiberti C, Moscone D. An electrochemical immunoassay for the screening of celiac disease in saliva samples. *Anal Bioanal Chem.* 2015;407(23):7189-96.
34. Ocmant A, Mascart F. Effective detection of celiac disease using salivary anti-transglutaminase. *Am J Med.* 2007;120(10):e15.
35. Maldupa I, Brinkmane A, Mihailova A. Comparative analysis of CRT Buffer, GC saliva check buffer tests and laboratory titration to evaluate saliva buffering capacity. *Stomatologija.* 2011;13(2):55-61.
36. Francavilla R, et al. Salivary microbiota and metabolome associated with celiac disease. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(11):3416-25.
37. Nenna R, et al. The celiac iceberg: characterization of the disease in primary schoolchildren. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;56(4):416-21.
38. Newton KP, Singer SA. Celiac disease in children and adolescents: special considerations. *Semin Immunopathol.* 2012;34(4):479-96.
39. Erriu M, Abbate GM, Pili FM, Novara F, Orru G, Montaldo C, Piras V, Levrini L. Oral Signs and HLA-DQB1 *02 haplotypes in the celiac paediatric patient: a preliminary study. *Autoimmune Dis.* 2013;2013:389590.
40. Catamo E, Zupin L, Segat L, Celsi F, Crovella S. HLA-G and susceptibility to develop celiac disease. *Hum Immunol.* 2015;76(1):36-41.
41. Sewell J. Gluten worries. *RDH.* 2013;33(10):82-7.

42. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med.* 1997;3(7):797-801.
43. Helmerhorst EJ, Wei G. Experimental strategy to discover microbes with gluten-degrading enzyme activities. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng.* 2014;9112.
44. Ollikka P, Raussi HM, Laitala V, Jaakkola L, Hovinen J, Hemmila I, Ylikoski A. Genotyping of celiac disease-related-risk haplotypes using a closed-tube polymerase chain reaction analysis of dried blood and saliva disk samples. *Anal Biochem.* 2009;386(1):20-9.
45. Tian N, et al. Salivary proline-rich proteins and gluten: do structural similarities suggest a role in celiac disease? *Proteomics Clin Appl.* 2015;9(9-10):953-64.
46. Delgado JF, Amengual MJ, Veraguas A, Rodriguez E, Los Santos MM, Guallarte MP. Paediatric celiac patients carrying the HLA-DR7-DQ2 and HLA-DR3-DQ2 haplotypes display small clinical differences. *Acta Paediatr.* 2014;103(6):238-42.
47. Tian N, Leffler DA, Kelly CP, Hansen J, Marietta EV, Murray JA, Schuppan D, Helmerhorst EJ. Despite sequence homologies to gluten, salivary proline-rich proteins do not elicit immune responses central to the pathogenesis of celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2015;309(11):910-7.
48. Conrad K, Roggenbuck D, Ittenson A, Reinhold D, Buettner T, Laass MW. A new dot immunoassay for simultaneous detection of celiac specific antibodies and IgA-deficiency. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(2):337-43.
49. Prause C, Richter T, Koletzko S, Uhlig HH, Hauer AC, Stern M, et al. New developments in serodiagnosis of childhood celiac disease: assay of antibodies against deamidated gliadin. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1173:28-35.
50. Ericson D, Bratthall D. Simplified method to estimate salivary buffer capacity. *Scand J Dent Res.* 1989;97(5):405-7.

Anexos

Anexo 1 – Consentimento informado



FORMULÁRIO DE INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO INFORMADO

TÍTULO DO PROJECTO DE INVESTIGAÇÃO:

CARACTERÍSTICAS SALIVARES DE UMA CRIANÇA COM DOENÇA CELÍACA – ESTUDO PILOTO

PROTOCOLO Nº

INVESTIGADOR ORIENTADOR

Maria Teresa Xavier

INVESTIGADOR CO-ORIENTADOR

Ana Daniela Soares

CENTRO DE ESTUDO

INVESTIGADOR PRINCIPAL

Sofia Reis da Costa

MORADA

Av. Bissaya Barreto, Blocos de Celas

3000-075 Coimbra

CONTACTO TELEFÓNICO

+351 239 484 183

NOME DO DOENTE

(LETRA DE IMPRENSA)

NOME DO TUTOR LEGAL

(LETRA DE IMPRENSA)

É convidado(a) a autorizar o seu educando(a) a participar voluntariamente neste estudo porque na presente investigação se pretende caracterizar a saliva de uma criança com doença celíaca que frequente a Área da Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Este procedimento é chamado consentimento informado e descreve a finalidade do estudo, os procedimentos, os possíveis benefícios e riscos. A

participação do seu educando(a) poderá contribuir para melhorar o conhecimento sobre as características salivares de crianças com diagnóstico de doença celíaca.

Receberá uma cópia deste Consentimento Informado para rever e solicitar aconselhamento de familiares e amigos. O Investigador ou outro membro da sua equipa irá esclarecer qualquer dúvida que tenha sobre o termo de consentimento e também alguma palavra ou informação que possa não entender.

Depois de compreender o estudo e de não ter qualquer dúvida acerca do mesmo, deverá tomar a decisão de autorizar a participação ou não. Caso autorize que o seu educando(a) participe, ser-lhe-á solicitado que assine e date este formulário. Após a sua assinatura e a do Investigador, ser-lhe-á entregue uma cópia.

1. INFORMAÇÃO GERAL E OBJECTIVOS DO ESTUDO

Este estudo irá decorrer em colaboração com a Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC). Pretende-se caracterizar a saliva de crianças com diagnóstico de doença celíaca.

Trata-se de um estudo observacional, pelo que não será feita nenhuma alteração no estado da cavidade oral ou a nível da saúde geral da criança. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da FMUC de modo a garantir a proteção dos direitos, segurança e bem-estar de todos os doentes ou outros participantes incluídos e garantir prova pública dessa proteção.

2. PROCEDIMENTOS E CONDUÇÃO DO ESTUDO

2.1. Procedimentos

Exame intraoral – tarefa 1

Uma única examinadora realizará o exame salivar da criança e registo dos dados obtidos. Este procedimento será efetuado com recurso a testes salivares (recolha de uma amostra de saliva não estimulada e estimulada)

Serão, em todos os procedimentos descritos, tomadas as medidas de controlo de contaminação e infeção cruzada preconizadas.

2.2. Calendário das visitas/ Duração

Este estudo envolverá a realização de apenas uma avaliação, na qual se efetuarão os procedimentos descritos na alínea 2.1. Estima-se que a duração total dos procedimentos não exceda os 10 minutos por participante.

2.3. Tratamento de dados

Os dados obtidos serão sujeitos a análise estatística.

3. RISCOS E POTENCIAIS INCONVENIENTES PARA O DOENTE

Não existem quaisquer riscos para o paciente na participação do estudo.

4. POTENCIAIS BENEFÍCIOS

O presente estudo permitirá aprofundar os conhecimentos atuais sobre as características da saliva de crianças com diagnóstico de doença celíaca de forma a facilitar o diagnóstico desta.

5. NOVAS INFORMAÇÕES

Ser-lhe-á dado conhecimento de qualquer nova informação que possa ser relevante para a condição do seu educando(a) ou que possa influenciar a sua vontade de continuar a autorizar a participação no estudo.

6. TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Não se aplica.

7. SEGURANÇA

Os procedimentos a realizar, não sendo em absoluto invasivos, não comprometem a integridade da criança.

8. PARTICIPAÇÃO/ ABANDONO VOLUNTÁRIO

É inteiramente livre de aceitar ou recusar participação do seu educando(a) neste estudo. Pode retirar o seu consentimento em qualquer altura sem qualquer consequência para si ou para a criança, sem precisar de explicar as razões, sem qualquer penalidade ou perda de benefícios e sem comprometer a sua relação com o Investigador que lhe propõe a colaboração neste estudo. Ser-lhe-á pedido para informar o Investigador se decidir retirar o seu consentimento.

O Investigador do estudo pode decidir terminar a participação do seu educando(a) se não estiver a seguir o plano do estudo, por decisão administrativa ou decisão da Comissão de Ética.

O responsável do estudo notificá-lo-á se surgir uma dessas circunstâncias e falará consigo

a respeito da mesma.

9. CONFIDENCIALIDADE

Os registos do seu educando(a) manter-se-ão confidenciais e anonimizados de acordo com os regulamentos e leis aplicáveis. Se os resultados deste estudo forem publicados a identidade do seu educando(a) manter-se-á confidencial. Ao assinar este Consentimento Informado autoriza este acesso condicionado e restrito. Pode ainda, em qualquer altura, exercer o seu direito de acesso à informação. Pode ter também acesso à informação médica e dentária através da médica dentista neste estudo. Tem também o direito de se opor à transmissão de dados que sejam cobertos pela confidencialidade profissional.

Os registos médicos e dentários que identificam o seu educando(a) e o formulário de consentimento informado que assinar serão verificados para fins do estudo pelo Investigador e/ou por colaboradores do Investigador, e para fins regulamentares pelo Investigador e/ou pelos colaboradores do Investigador e agências reguladoras noutros países. A Comissão de Ética responsável pelo estudo pode solicitar o acesso aos registos médicos e dentários para assegurar-se que o estudo está a ser realizado de acordo com o protocolo. Não pode ser garantida confidencialidade absoluta devido à necessidade de passar a informação a essas partes.

Ao assinar este termo de consentimento informado permite que as informações médicas e dentárias neste estudo sejam verificadas, processadas e relatadas conforme necessário para finalidades científicas legítimas.

Confidencialidade e tratamento de dados pessoais

Os dados pessoais dos participantes no estudo, incluindo a informação médica recolhida ou criada como parte do estudo, tais como registos da observação oral, serão utilizados para condução do estudo, designadamente para fins de investigação científica relacionados com a patologia em estudo.

Ao consentir a participação do seu educando(a) neste estudo a informação a ele respeitante, designadamente a informação clínica, será utilizada da seguinte forma:

1. O promotor, os investigadores e as outras pessoas envolvidas no estudo recolherão e utilizarão os dados pessoais do seu educando(a) para as finalidades acima descritas.
2. Os dados do estudo, associados às iniciais ou a outro código que não identifique diretamente o seu educando(a) (e não o nome) serão comunicados pelos Investigadores e outras pessoas envolvidas no estudo ao promotor do estudo, que os utilizará para as finalidades acima descritas.
3. Os dados do estudo, associados às iniciais ou a outro código que não identifique diretamente o seu educando(a), poderão ser comunicados a autoridades de saúde nacionais e internacionais.
4. A identidade do seu educando(a) não será revelada em quaisquer relatórios ou publicações resultantes deste estudo.

5. Todas as pessoas ou entidades com acesso aos dados pessoais do seu educando(a) estão sujeitas a sigilo profissional.
6. Ao dar o seu consentimento para a participação do seu educando(a) no estudo autoriza o promotor ou empresas de monitorização de estudos especificamente contratadas para o efeito e seus colaboradores e/ou autoridades de saúde, a aceder aos dados constantes do seu processo clínico, para conferir a informação recolhida e registada pelos investigadores, designadamente para assegurar o rigor dos dados que lhe dizem respeito e para garantir que o estudo se encontra a ser desenvolvido corretamente e que os dados obtidos são fiáveis.
7. Nos termos da lei, tem o direito de, através de um dos médicos envolvidos no estudo, solicitar o acesso aos dados que digam respeito ao seu educando(a), bem como de solicitar a retificação dos dados de identificação.
8. Tem ainda o direito de retirar este consentimento em qualquer altura através da notificação ao investigador, o que implicará que o seu educando(a) deixe de participar no estudo. No entanto, os dados recolhidos ou criados como parte do estudo até essa altura que não identifiquem o seu educando(a) poderão continuar a ser utilizados para o propósito de estudo, nomeadamente para manter a integridade científica do estudo, e a informação médica do seu educando(a) não será removida do arquivo do estudo.
9. Se não der o seu consentimento, assinando este documento, o seu educando(a) não poderá participar neste estudo. Se o consentimento agora prestado não for retirado e até que o faça, este será válido e manter-se-á em vigor.

10. COMPENSAÇÃO

Este estudo é da iniciativa do investigador e, por isso, solicita-se a participação do seu educando(a) sem uma compensação financeira para a sua execução, tal como também acontece com os investigadores e o centro de estudo. Não haverá qualquer custo para o participante pela sua inclusão no estudo.

11. CONTACTOS

Se tiver perguntas relativas aos seus direitos como participante deste estudo, deve contactar:

Presidente da Comissão de Ética da FMUC

Azinhaga de Santa Comba, Celas – 3000-548 Coimbra

Telefone: 239 857 707 e-mail: comissaoetica@fmed.uc.pt

Se tiver questões sobre este estudo deve contactar:

Sofia Reis da Costa,

Tel: +351 239 484 183 Morada: Av. Bissaya Barreto, Bloco de Celas, 3000-075 Coimbra

NÃO ASSINE ESTE FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO INFORMADO A MENOS QUE TENHA TIDO A OPORTUNIDADE DE PERGUNTAR E TER RECEBIDO RESPOSTAS SATISFATÓRIAS A TODAS AS SUAS PERGUNTAS.

CONSENTIMENTO INFORMADO

De acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial e suas atualizações:

1. Declaro ter lido este formulário e aceito de forma voluntária que o meu educando(a) participe neste estudo.
2. Fui devidamente informado(a) da natureza, objetivos, riscos e duração provável do estudo, bem como do que é esperado da parte do meu educando(a).
3. Tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o estudo e percebi as respostas e as informações que me foram dadas. A qualquer momento posso fazer mais perguntas ao médico responsável do estudo. Durante o estudo e sempre que quiser, posso receber informação sobre o seu desenvolvimento. O médico responsável dará toda a informação importante que surja durante o estudo que possa alterar a minha vontade ou do meu educando(a) continuar a participar.
4. Aceito que utilizem a informação relativa à história clínica e registos clínicos do meu educando(a) no estrito respeito do segredo médico e anonimato. Os dados do meu educando(a) serão mantidos estritamente confidenciais. Autorizo a consulta dos dados do meu educando(a) apenas por pessoas designadas pelo promotor e por representantes das autoridades reguladoras.
5. Aceito que o meu educando(a) siga todas as instruções que lhe forem dadas durante o estudo. Aceito que o meu educando(a) colabore com o médico e informá-lo-ei imediatamente das alterações não usuais do estado de saúde e bem-estar do meu educando(a) que ocorram.
6. Autorizo o uso dos resultados do estudo para fins exclusivamente científicos e, em particular, aceito que esses resultados sejam divulgados às autoridades sanitárias competentes.
7. Aceito que os dados gerados durante o estudo sejam informatizados pelo promotor ou outrem por si designado. Eu posso exercer o meu direito de retificação e/ ou oposição.
8. Tenho conhecimento que sou livre de desistir que o meu educando(a) participe no estudo a qualquer momento, sem ter de justificar a minha decisão e sem comprometer a qualidade dos seus cuidados médicos. Eu tenho conhecimento que o médico tem o direito de decidir sobre a saída prematura do estudo e que me informará da causa da mesma.
9. Fui informado que o estudo pode ser interrompido por decisão do investigador, do promotor ou das autoridades reguladoras.

Nome do Participante _____

Assinatura : _____ **Data**: _____ / _____ / _____

Nome de Testemunha / Tutor Legal: _____

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Confirmando que expliquei ao participante acima mencionado a natureza, os objetivos e os potenciais riscos do estudo acima mencionado.

Nome do Investigador: _____

Assinatura: _____ **Data:** ____/____/____

Anexo 2 – História clínica



Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2015/2016

Identificação

Nome: _____ Data de Nascimento: __/__/__

Número de processo interno: _____ Número de processo hospitalar: _____

Idade dos pais: Mãe: ____ Pai: ____ Nível de escolaridade: Mãe: ____ Pai: ____

Profissão: Mãe: _____ Pai: _____

História Médica

Forma clínica: Clássica__ Não Clássica__ Silenciosa__ Latente__ Potencial__

Grau de severidade: _____

Idade de aparecimento dos primeiros sintomas: _____

Idade do diagnóstico: _____

Diagnóstico feito por: Sintomas__ Análises Sanguíneas__ Biópsia__ Outro__

Tipo de amamentação: _____ Duração: _____

Idade de introdução do leite de vaca na alimentação: _____

Idade de eliminação do glúten na dieta: _____

Adesão à dieta sem glúten: Boa__ Má__

Principais características presentes no momento de diagnóstico:

	Diarreia crónica		Baixa estatura
	Dor abdominal		Dermatite herpetiforme
	Distensão abdominal		Osteoporose
	Perda de peso		Níveis de transaminases hepáticas > 43 UI/L
	Anorexia		Artrite
	Vómitos		Alterações neurológicas

	Atraso no crescimento		Atraso na puberdade
	Fadiga		Anemia ferropénica

Características clínicas ainda presentes:

Condições associadas:

	Diabetes tipo I		Síndrome de Williams
	Tiroidite autoimune		Deficiência selectiva de IgA
	Síndrome de Turner		Parente em 1º grau com DC
	Síndrome de Down		

Patologias/episódios com relevo clínico:

	Número de semanas de gestação		Pneumonia
	Frequência de episódios de febre		Sarampo
	Varicela		

Traumatismo (queda sobre os dentes anteriores antes dos 4 anos de idade): _____

- Idade: _____
- Dente definitivo: _____
- Dente decíduo: _____

Outras: _____

Medicação: _____

Alergia: _____

Hospitalizações: _____

Anestesia geral: _____

História Dentária

Tratamentos anteriores:

	Nenhuma consulta		Tratamento endodôntico
	Extrações		Anestesia local
	Restaurações		Radiografias

Outros: _____

Higiene Oral

Tipo de escova de dentes: _____ Tipo de dentífrico: _____

Frequência de escovagem: _____ Supervisão/ajuda dos pais: Sim__ Não__

Medidas complementares de HO: _____

Suplementos de fluoretos: _____

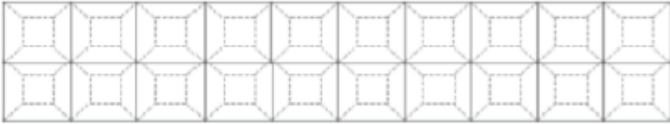
Exposição a açúcares na dieta: _____ Frequência de ingestão: _____

Exposição a bebidas gaseificadas na dieta: _____ Frequência de ingestão: _____

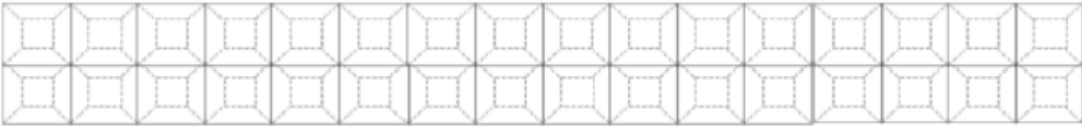
Exame Intra-oral:

Odontograma:

DENTIÇÃO TEMPORÁRIA

5	4	3	2	1	1	2	3	4	5
									
5	4	3	2	1	1	2	3	4	5

DENTIÇÃO DEFINITIVA

8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
															
8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8

vermelho: lesões de cárie **preto:** intervenções efectuadas **amarelo:** defeitos de esmalte dentário
cortar os dentes ausentes

ICDAS:

Teste Saliva-Check BUFFER

Saliva Não Estimulada:

- Fluxo: _____
- Consistência: _____
- pH: _____

Notas: _____

Saliva estimulada:

- Fluxo: _____

- Capacidade Tampão: _____

Notas: _____

Fotografias: Não: __ Sim: __ Data: __/__/____

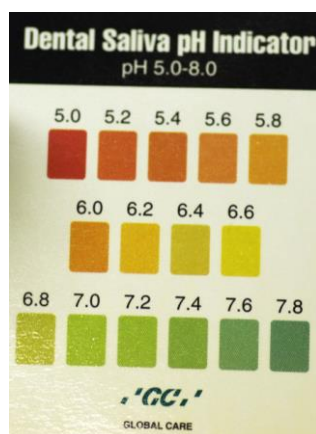
Acompanhante: Mãe: __ Pai: __ Outro: _____

Assinatura: _____

Anexo 3 - Teste Saliva-check Buffer (GC)

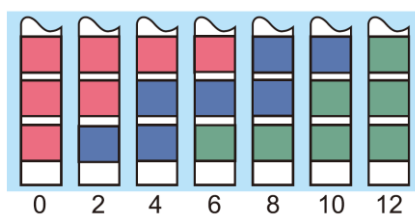


Indicador do valor de pH



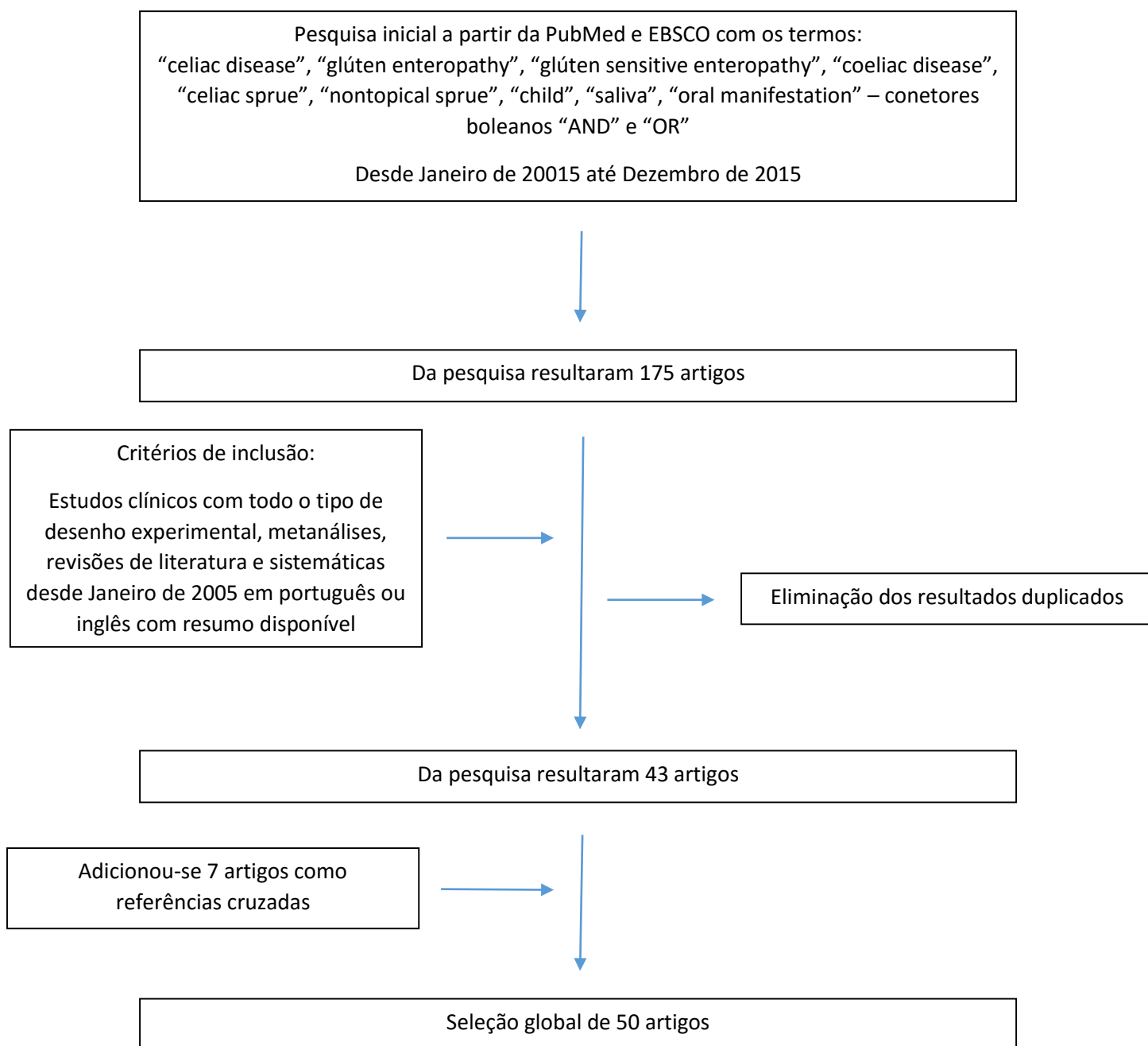
Valor de pH	Tipo de Saliva
< 7,0	Ácida
7,0	Neutra
>7,0	Básica

Indicador da capacidade tampão



Pontos	Capacidade Tampão
0 – 5	Muito baixa
6 – 9	Baixa
10 - 12	Normal/alta

Anexo 4 – Prisma flow



Anexo 5 – Lista de abreviaturas

- AGA Anticorpo anti-gliadina
- APC Associação Portuguesa de Celíacos
- DC Doença celíaca
- DDE Defeitos de desenvolvimento de esmalte
- EAR Estomatite aftosa recorrente
- EMA Anticorpos endomisiais
- ESPGHAN Do inglês “European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition”
- HLA Do inglês “Human leukocyte antigen” do sistema humano de antígenos leucocitários
- Ig Imunoglobulina
- IL Interleucina
- min Minutos
- ml Mililitros
- NASPGHAN Do inglês “North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition”
- NSGS Sensibilidade ao glúten não relacionada com a doença celíaca
- pH Potencial hidrogénico
- tTG Enzimas transglutaminases

Anexo 6 - Índice de figuras

Fig. 1	Patogénese da doença celíaca (adaptado de Peter H. R. Green <i>et al</i> , 2015)	7
Fig. 2	Avaliação do fluxo de saliva não estimulada	15
Fig. 3	Avaliação da consistência da saliva não estimulada	15
Fig. 4	Avaliação do pH da saliva não estimulada	15
Fig. 5	Avaliação do fluxo da saliva estimulada	16
Fig. 6	Avaliação da capacidade tampão da saliva estimulada	16

Anexo 7 - Índice de tabelas

Tabela I	Classificação de Marsh	9
Tabela II	Caracterização sistémica da DC	9
Tabela III	Classificação dos DDE segundo Aine	10
Tabela IV	Testes serológicos no diagnóstico da DC	12

Tabela V	Critérios de inclusão e exclusão para seleção das crianças e jovens observados	14
Tabela VI	Interpretação dos resultados da capacidade tampão da saliva estimulada	16
Tabela VII	Caracterização geral do grupo de estudo	18
Tabela VIII	Caracterização geral do grupo controlo	19
Tabela IX	Caracterização do grupo de estudo: tipo de DC	19
Tabela X	Caracterização do pH da saliva não estimulada do grupo de estudo	22
Tabela XI	Caracterização do pH da saliva não estimulada do grupo controlo	22
Tabela XII	Caracterização da capacidade tampão da saliva estimulada do grupo de estudo	23
Tabela XIII	Caracterização da capacidade tampão da saliva estimulada do grupo controlo	24

Anexo 8 - Índice de gráficos

Gráfico 1	Caracterização do grupo de estudo: gênero e idade	18
Gráfico 2	Caracterização geral do grupo controlo: gênero e idade	19
Gráfico 3	Caracterização do grupo de estudo: tipo de doença	19
Gráfico 4	Caracterização do grupo de estudo: idade de diagnóstico da DC	20
Gráfico 5	Caracterização do fluxo da saliva não estimulada do grupo de estudo	20
Gráfico 6	Caracterização da consistência da saliva não estimulada do grupo de estudo	20
Gráfico 7	Caracterização do fluxo da saliva não estimulada do grupo controlo	21
Gráfico 8	Caracterização da consistência da saliva não estimulada do grupo controlo	21
Gráfico 9	Comparação do fluxo da saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo	21
Gráfico 10	Comparação da consistência da saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo	22
Gráfico 11	Comparação do pH de saliva não estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo	23
Gráfico 12	Caracterização do fluxo da saliva estimulada do grupo de estudo	23
Gráfico 13	Caracterização do fluxo da saliva estimulada do grupo controlo	24
Gráfico 14	Comparação do fluxo da saliva estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo	24
Gráfico 15	Comparação da capacidade tampão da saliva estimulada entre o grupo de estudo e o grupo controlo	25