



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE  $\Delta$ 9-TETRA-HIDROCANABINOL  
NO FLUXO SALIVAR E NA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA  
CAVIDADE ORAL**

Trabalho submetido por  
**Rodolfo Jorge Tibério de Vilares Santos**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**INFLUÊNCIA DO CONSUMO DE  $\Delta$ 9-TETRA-HIDROCANABINOL  
NO FLUXO SALIVAR E NA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA  
CAVIDADE ORAL**

Trabalho submetido por  
**Rodolfo Jorge Tibério de Vilarés Santos**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutor Alexandre Quintas**

e orientado por  
**Prof. Doutora Helena Barroso**

**Outubro de 2016**



“Dedico este trabalho á minha família, principalmente á minha filha Alice, que foi a minha fonte de inspiração para atingir esta meta”.



## **Agradecimentos**

Em conformidade com qualquer outro trabalho para que este fosse possível e produzisse algum resultado, a cooperação e encorajamento de um agregado de pessoas foram indispensáveis, a essas pessoas aqui ficam os meus agradecimentos.

Agradeço o tempo despendido e a elaboração deste projeto ao meu orientador principal Professor Doutor Alexandre Quintas e Professora Doutora Helena Barroso e ao meu co-orientador Mestre Carlos Família.

Agradeço também às 45 pessoas que fizeram parte desta investigação, e que fizeram com que fosse possível este estudo.

Queria agradecer Instituição e à Direção clínica pela formação académica providenciada nos últimos 5 anos, no qual me vai acompanhar no meu futuro profissional como Médico dentista.

Agradeço à minha esposa e filha, pela paciência e esforço por ter aguentado mais uma viagem académica, e todas aquelas noites de trabalho que nunca mais acabavam.

Este trabalho representou uma longa caminhada na busca do saber, ampliando o meu conhecimento sobre o que é projetar uma investigação e pô-la em prática.



## Resumo

**Objetivo** - Estudar o efeito do  $\Delta 9$ -tetra-hidrocanabinol (THC) na quantidade de fluxo salivar estimulado e não estimulado, e também na flora bacteriana (nomeadamente no número de unidades formadoras de colónias (ufc) de *Streptococcus* e *Staphylococcus*), de indivíduos fumadores de tabaco e canábis em comparação com fumadores só de tabaco e com indivíduos não fumadores.

**Materiais e métodos** - Neste estudo utilizou-se uma amostra de 45 indivíduos (n=45), divididos por 3 grupos de igual número de sujeitos (15), de acordo, com os seus hábitos de consumo de tabaco e canabinóides. O primeiro grupo corresponde a sujeitos não fumadores (i), o segundo grupo sujeitos fumadores só de tabaco (ii), e o terceiro grupo fumadores de tabaco e canabinóides (iii). Todos os sujeitos foram submetidos a dois questionários, o primeiro destinado a traçar o perfil de hábitos de consumo, o segundo mais específico, destinado ao diagnóstico de Xerostomia. Foi recolhida saliva não estimulada e estimulada (min/ml), sendo determinado o valor de pH de cada amostra. Foi igualmente determinado, em cada amostra recolhida o número de ufc de *Streptococcus* orais e de *Staphylococcus* sp. Os dados obtidos foram analisados, recorrendo a metodologias de análise estatística.

**Resultados** - O consumo de canábis teve um impacto estatisticamente significativo na “sensação de boca seca”, os indivíduos consumidores tiveram o maior score de resposta ao questionário de diagnóstico de xerostomia mas o seu consumo não teve impacto estatisticamente significativo na quantidade de saliva produzida (ml/min) em comparação com os outros grupos. Esta investigação revelou diferença estatisticamente significativa no crescimento bacteriano total, sendo os indivíduos fumadores apresentar maior número de unidades formadoras de colónias (UFC) comparativamente ao grupo de controlo.

**Conclusão** - O consumo de canábis tem elevada influência na “sensação de boca seca” (xerostomia), apesar de não ter tido resultados com diferenças estatisticamente significativas na quantidade de saliva produzida, na comparação com os restantes grupos. Fumar cria um ambiente propício para o crescimento bacteriano anaeróbio facultativo.

**Palavras-chave:**  $\Delta 9$ -tetra-hidrocanabinol (THC); Fluxo salivar; *Streptococcus*; *Staphylococcus*



## Abstract

**Objective** - To study the effect of  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC) in the amount of salivary flow stimulated and unstimulated, and also in the bacterial flora (especially in the number of colony forming units (cfu) of Streptococcus and Staphylococcus), in tobacco and cannabis smokers subjects compared to smoking only tobacco and non-smoking individuals.

**Methods and materials** - In this study we used a sample of 45 individuals (n=45), divided by 3 groups of equal number (15), according to their tobacco and cannabinoids consumption habits. The first group corresponds to non-smokers subjects (i), the second group subjects smoking tobacco only (ii), and the third group of smoking tobacco and cannabinoids (iii). All subjects were submitted to two questionnaires, the first intended to chart the consumption habits profile, the second more specific, for the diagnosis of xerostomia. Unstimulated and stimulated saliva was collected (min/ml), and the PH value of each sample was determined. It was also determined on each collected sample the number of oral Streptococcus ufc and Staphylococcus sp. The collected data was analyzed using methods of statistical analysis.

**Results** - cannabis consumption had a statistically significant impact on the "dry mouth" sensation, consumers individuals had the highest score response to the xerostomia diagnostic questionnaire but the cannabis use had no statistically significant effect on the amount of saliva produced (ml / min) compared with other groups. This investigation revealed a statistically significant difference in the total bacterial growth, and the smoking subjects had a higher number of colony forming units (CFU) compared to the control group.

**Conclusion** - The use of cannabis has a high influence in the "dry mouth" sensation (xerostomia), although not it did not have results with statistically significant differences in the amount of saliva produced, compared to the other groups. Smoking creates an enabling environment for the optional anaerobic bacterial growth.

**Key words:**  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol; Salivary flow; *Streptococcus*; *Staphylococcus*.

# Índice

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. THC .....</b>	<b>11</b>
1.1.1. Farmacocinética do THC .....	12
1.1.2. Efeitos do THC.....	14
1.1.3. Implicações do consumo de canábis na prática da medicina dentária .....	15
1.1.4. Recetores Canabinóides.....	16
<b>1.2. Saliva .....</b>	<b>19</b>
1.2.1. Glândulas Salivares .....	21
1.2.2. Secreção Salivar .....	22
1.2.3. Fluxo Salivar Estimulado e Não estimulado .....	25
1.2.4. Fatores que influenciam o Fluxo salivar e a sua composição .....	26
1.2.5. Xerostomia e Hiposalivação .....	28
<b>1.3. Microbioma Oral .....</b>	<b>29</b>
1.3.1. Fatores que influenciam o crescimento bacteriano .....	30
1.3.2. <i>Staphylococcus</i> .....	32
1.3.3. <i>Streptococcus</i> .....	33
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1. Amostragem.....</b>	<b>35</b>
2.1.1. Análise Bacteriológica.....	36
2.1.2. Análise Estatística.....	38
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1. Quantidade de saliva não estimulada (ml/min).....</b>	<b>39</b>

3.2.	Quantidade de saliva estimulada (ml/min)) .....	41
3.3.	Valor de pH da saliva não estimulada.....	42
3.4.	Valor de pH da saliva estimulada .....	44
3.5.	Meio de Chapman (ufc).....	45
3.6.	Meio de Gelose de sangue (ufc) .....	47
3.7.	Meio Mitis Salivarius (ufc) .....	48
3.8.	Total dos meios (Chapman, Mitis Salivarius, Gelose de Sangue)(ufc) .....	50
3.9.	Índice subjetivo de Xerostomia .....	51
4.	<b>DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
5.	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>57</b>
6.	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>59</b>
7.	<b>ANEXOS A e B</b>	

## Índice de Figuras

Figura 1- Ligação do THC a recetores CB1 e sua ação (adaptado de Honório, Arroio, e Da Silva 2006).....	18
Figura 2 - Secreção salivar (adaptado de Turner e Sugiya 2002).....	24
Figura 3 - Representa o exame a fresco (A) e colorações Gram de Streptococcus (B) e Staphylococcus (C).....	37
Figura 4 - Meio bacteriológico de Chapman no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e fumadores de tabaco e canabinóides (iii).....	37
Figura 5 – Meio bacteriológico de Gelose de Sangue no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e consumidores de tabaco e canabinóides (iii). ....	37
Figura 6 – Meio bacteriológico Mitis Salivarius no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e consumidores de tabaco e canabinóides (iii). ....	38
Figura 7 - Gráfico de bigodes que representa a quantidade de saliva não estimulada recolhida (ml/min) em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	40
Figura 8 - Gráfico de bigodes que representa a quantidade de saliva estimulada recolhida (ml/min) em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	41
Figura 9 - Gráfico de bigodes que representa o valor de pH da saliva não estimulada em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	43
Figura 10 - Gráfico de bigodes que representa do valor de pH da saliva estimulada em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	44

Figura 11 - Gráfico de bigodes que representa o número de unidades formadoras de colónias no meio de Chapman (ufc) em relação do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	46
Figura 12 - Gráfico de bigodes que representa o total de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de Sangue (ufc) em função com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	47
Figura 13 - Gráfico de bigodes que representa o total de unidades formadoras de colónias no meio Mitis Salivarius (ufc) em relação com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	49
Figura 14 - Gráfico de bigodes que representa o número de unidades formadoras de colónias no meio Mitis Salivarius, Chapman e Gelose de Sangue (ufc) em função com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	50
Figura 15 - Gráfico de bigodes que representa o Índice subjetivo de xerostomia em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. ....	52

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão da quantidade de saliva não estimulada recolhida (ml/min) por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.....	40
Tabela 2 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão da quantidade de saliva estimulada recolhida (ml/min) por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	42
Tabela 3 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão referentes ao valor de pH da saliva não estimulada por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	43
Tabela 4 – Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão referentes ao valor de pH da saliva estimulada por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	45
Tabela 5 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no meio de Chapman (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	46
Tabela 6 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de Sangue (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	48
Tabela 7 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no meio de Mitis Salivarius (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. ....	49
Tabela 8 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no total dos meios bacteriológicos (Chapman, Gelose	

de Sangue, Mitis) (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. .... 51

Tabela 9 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do valor de Índice subjetivo de xerostomia, por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides. .... 52

## **Lista de Siglas**

THC -  $\Delta^9$ -Tetra-hidrocanabinol

CBN - Canabidiol

CB1 - Recetor canabinóide do tipo 1

CB2 - Recetor canabinóide do tipo 2

11-OH- THC - 11-Hydroxy- $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol

THC - COOH - 11-nor-9-Carboxy-THC -

CPO - Índice de cariados, perdidos e obturados

ATP - Adenosina trifosfato

cAMP - Adenosina monofosfato cíclico

Ca<sup>2+</sup> - Cálcio intracelular

K<sup>+</sup> - Potássio

Cl<sup>-</sup> - Cloro

NaCl - Cloreto de sódio

VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

CaM - Calmodulina

CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono

O<sub>2</sub> - Oxigénio

UFC – Unidades formadoras de colónias

# 1. Introdução

## 1.1. THC

O  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol (THC) é uma das 300 moléculas sintetizadas pela *Cannabis Sativa*. A *Cannabis Sativa*, comumente designada por marijuana, é uma planta do género Angiosperma. A forma de apresentação mais comum da canábis é a forma de Haxixe, um concentrado de flores e de resina seca, misturado com o tabaco, 5 a 10 vezes mais potente do que a marijuana comum (Vivavoz 2008).

O consumo de marijuana, quer por inalação do seu fumo quer por ingestão, tem efeitos psicoativos. Atualmente a marijuana é droga mais consumida e o número consumidores crónicos por todo o mundo tem aumentado. A plantação e a comercialização desta planta é ilegal (Observatório Europeu da Droga e da Toxicodpendência, 2015).

Das 300 moléculas sintetizadas pela planta *Cannabis Sativa*, 60 delas são canabinóides. Estes dividem-se de acordo com o seu efeito psicoativo. A molécula mais psicoativa deste grupo é o  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol (THC), sendo o canabidiol (CBN) um exemplo de uma molécula que pertence ao grupo não psicoativo (Ashton e Ashton 2012; Vivavoz 2008). Apesar de o canabidiol não ser psicoativo, apresenta propriedades e psicóticas, e-inflamatórias, antiepiléticas e funciona como ansiolítico. Estas características tornam o canabidiol num antagonista do  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol (Bergamaschi et al. 2011; Lee et al. 2013).

Em comparação com o THC, o canabidiol apresenta maior afinidade para o recetor CB2 relativamente ao recetor CB1. Esta afinidade ao recetor CB2 faz do canabidiol um modelador do sistema imune através da sua ligação ao CB2, nos timócitos e esplenócitos, e irá inibir a adenilato ciclase, e reduzir a atividade da proteína quinase A, com consequente diminuição dos fatores ligados ao cAMP. Esta redução a nível genético, resulta numa diminuição da transcrição do gene para a proteína IL-2 (responsável pela regulação do sistema imune), desencadeando uma diminuição da sua libertação, e alteração do funcionamento normal do sistema imunológico (Joy, Watson, e John 1999; Netzahualcoyotzi-Piedra et al. 2009).

### **1.1.1. Farmacocinética do THC**

A farmacocinética do  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol (THC) varia em função da via de administração (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008). As principais formas de consumo da canábis sativa são a inalação do fumo a partir da queima da planta, e a ingestão. A absorção  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol pela via de ingestão apresenta uma absorção lenta e variável, tendo níveis plasmáticos inicialmente mais baixos que os inalados pelo fumo (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008).

A sua biodisponibilidade é reduzida pela sensibilidade á acidez do suco gástrico, pelo metabolismo intestinal e hepático, bem como o acesso pela via entero-hepática. A ingestão oral de THC permite produzir um aumento gradual da sua concentração no sangue durante um período de tempo, que pode durar várias horas, o que permite retardar os seus efeitos psicoativos (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008; Gonzalez et al. 2000).

A inalação de fumo é o método mais rápido e eficaz para a administração desta substância de abuso. Os níveis de  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol no sangue aumentam rapidamente, alcançando sua máxima concentração antes do final da inalação do fumo de marijuana (Gonzalez et al. 2000).

Durante a inalação do  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol, 30% a 50% desta substância é absorvida pelos pulmões sob forma de ácido tetrahydrocanabinólico, que atravessa eficazmente a membrana alveolar, entrando na circulação pelos capilares pulmonares, dirigindo-se para o coração, e é bombeado diretamente pela circulação para o encéfalo (Ashton e Ashton 2012; Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008).

Os constituintes não canabinóides da planta cannabis sativa são semelhantes aos que se encontram no tabaco, á exceção da nicotina (Melamede 2005).

Os efeitos pulmonares do uso a longo prazo de 3 a 4 cigarros de marijuana por dia e o equivalente a fumar 20 ou mais cigarros por dia (Cho, Hirsch, e Johnstone 2005).

Fumar canábis contém concentrações mais elevadas de benzantraceno e benzopirenos (produtos cancerígenos) do que os cigarros de tabaco, embora não haja estudos que associem fumar canábis com cancro (Ashton e Ashton 2012; Hall e Degenhardt 2009).

O valor de pH do fumo gerado pelo consumo canábis situa-se nos 7,5. Já nos fumadores de tabaco o valor de pH é menor situando-se por volta de 5.5. Segundo o mesmo estudo, a razão desta descida do valor de pH nos fumadores de tabaco, está relacionado com o uso de fertilizantes de nitrato e de amónia nas culturas da planta do tabaco, aumentando os níveis de aminas aromáticas geradas através dos radicais livres (Moir et al. 2008).

Fumar canábis resulta num aumento de até cinco vezes de concentração de carboxihemoglobina, e um aumento cerca de três vezes da quantidade de fumo inalado quando comparado com a ação de fumar tabaco. Isto deve-se a inexistência de filtro no enrolado de marijuana, que leva a um aumento do tempo de retenção do fumo da marijuana no trato respiratório (devido a não existência de filtro) (Ashton e Ashton 2012). No entanto, fumar tabaco traz consequências para a saúde, que não são observadas nos fumadores de marijuana. Por exemplo, resposta e-apoptótica que resulta da estimulação dos recetores de nicotina, em condições mutagénicas, cria o pior cenário. A via de transdução de sinal são diferentes, no qual o efeito cancerígeno do tabaco são amplificados ao contrário da canábis. A nicotina promove uma neovascularização associada ao crescimento tumoral e migração celular, enquanto a canábis promove uma regressão tumoral e inibe os fatores pro-angiogénicos, diminuindo os níveis de VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) (Chakravarti, Ravi, e Ganju 2014; Melamede 2005).

Os canabinóides inalados pelo fumo podem fisiologicamente reduzir o potencial de amplificação dos produtos carcinogénicos do fumo, que resulta da produção de radicais livres, ao contrário do tabaco (Melamede 2005).

Os dois tipos de fumo (tabaco e canábis) contém produtos cancerígenos, e participam na promoção de respostas imunológicas inflamatórias, que podem aumentar os efeitos cancerígenos do fumo. Contudo, o THC inibe a enzima que ativa a formação dos produtos cancerígenos do fumo (Melamede 2005).

Depois de absorvido o THC, ocorre a ligação a recetores específicos endógenos CB1 e CB2, que pertencem a superfamília da proteína G. A ligação do  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol ao recetor CB1 é responsável pelos efeitos psicoativos (Ashton e Ashton 2012).

O  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol é metabolizado principalmente no fígado pelas enzimas do sistema citocromo P450, sofrendo hidroxilação (11-OH- THC) e oxidação (THC- COOH) e por último, conjugação com ácido glucurónico (11-nor-9-carboxi- $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol-acil-glucuronídeo), tornando-o mais hidrossolúvel e polar, para ser excretado pela urina (DeLucia et al. 2008; Edward J.Cone e Marilyn A.Huestis 2010). Os seus metabolitos são excretados na urina em cerca de 25% e a maioria pelo intestino e serão reabsorvidos. Uma dose de THC demora cerca de 30 dias a ser completamente eliminado do organismo (varia consoante o individuo) (Ashton & Ashton, 2012).

No entanto, esta metabolização origina um conjunto de metabolitos, que apresentam propriedades lipofílicas, sendo por isso armazenadas no cérebro e tecido adiposo. (Ashton e Ashton 2012; Joy, Watson, e John 1999).

### **1.1.2. Efeitos do THC**

Os efeitos adversos do consumo de canábis depende da frequência do hábito de fumar, da dose, e das principais substâncias canabinóides (Honório, Arroio, e Da Silva 2006). O consumo de canábis produz alterações cognitivas (memória e atenção), sensação de disforia e ansiedade e sensação de perda de controlo, principalmente em consumidores recentes (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008; Netzahualcoyotzi-Piedra et al. 2009).

Os efeitos psíquicos pelo consumo do  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol são euforia, alucinação, risos imotivados, aumento da perceção dos sons, cores, texturas e aumento exagerado do apetite. Além destas características excitatórias, pode ser depressora, com efeitos de relaxamento físico e sensação de bem-estar (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008). Os efeitos físicos são variados desde taquicardia, xerostomia, redução da acuidade auditiva, aumento da acuidade visual, midríase, broncodilatação, diminuição da perceção dolorosa, hipotermia, tonturas, incoordenação motora e hipotensão ortostática (Ashton e Ashton 2012; Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008; Hall e Degenhardt 2009).

Os efeitos da canábis em fumadores crónicos desencadeia alterações físicas (letargia, fadiga crónica), bem como alterações respiratórias (bronquite crónica) e cardiovasculares (taquicardia, hipotensão). As complicações psíquicas nestes consumidores são mais evidentes, com diminuição da coordenação motora, depressão, ansiedade, mudanças rápidas de humor, mudanças de personalidade, e deficiências cognitivas (memória), e possível desenvolvimento de esquizofrenia (depende da predisposição individual para desenvolver) (Ashton e Ashton 2012; Hall e Degenhardt 2009; Prestifilippo et al. 2006; Vivavoz 2008).

O longo uso diário de grandes doses de canábis pode desenvolver um síndrome de abstinência (insónia, irritabilidade, redução do apetite, ansiedade), que inicia-se tipicamente um a três dias após a ausência de consumo, atingindo o seu pico entre dois a seis dias, terminando após catorze dias de ausência de consumo (Vivavoz 2008).

### **1.1.3. Implicações do consumo de canábis na prática da medicina dentária**

O tratamento dentário a um paciente fumador crónico de canábis pode resultar numa experiência psicótica, envolvendo ansiedade aguda e disforia, no qual o médico dentista deve estar preparado para lidar com esta eventual situação (Cho, Hirsch, e Johnstone 2005).

Na generalidade os fumadores crónicos de canábis apresentam uma saúde oral deficiente (semelhantes a fumadores de tabaco), contendo valores de índice de CPO (índice de cariados, perdidos e obturados), bem como índice de placa e periodontais superiores aos dos não fumadores (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008; Cho, Hirsch, e Johnstone 2005; Gigena, Bella, e Cornejo 2012; Rad et al. 2010; Ribeiro e Veloso 2012; Saldanha 1989). Este aumento de incidência de CPO pode estar relacionado com a estimulação do  $\Delta$ 9-tetrahidrocanabinol no sistema límbico (aumento da motivação para comer) e Hipotalâmico (aumento do apetite) através da sua ligação a recetores CB1, criando um aumento da ingestão de comida, principalmente hidratos de carbono (Marder 2011; Tibiriça 2010).

A temperatura da combustão da canábis é superior ao do tabaco. Adicionalmente, a quantidade de CO<sub>2</sub> gerada é superior. Isto leva a um aumento da temperatura e da quantidade de CO<sub>2</sub> na cavidade oral. Desta forma cria um ambiente propício para o crescimento anaeróbio facultativo (Moir et al. 2008).

O consumo de tabaco provoca uma descida do valor de pH da saliva não estimulada por volta de 5,5 a 7,9, alterando o equilíbrio entre o hospedeiro-bactéria, proporcionando uma colonização de bactérias periodontais (Osorio González AY, Bascones Martínez A 2009; Vinhas e Pacheco 2015).

O  $\Delta$ 9-tetra-hidrocanabinol apresenta efeitos imunossupressores sobre os macrófagos e linfócitos, o que pode resultar num aumento de crescimento bacteriano e desenvolvimento de infeções virais (Marder 2011).

O fumo da canábis provoca alterações no epitélio oral, como uma hiperqueratose e leuco edema, na mucosa bucal e oral. Os fumadores crónicos apresentam uma estomatite característica, acompanhada de uma inflamação crónica do epitélio oral, bem como um possível desenvolvimento de leucoplasia, com potencial progressão (Cho, Hirsch, e Johnstone 2005).

Os fumadores crônicos de canabinóides, apresentam por norma, uma redução do fluxo salivar, que pode estar associado ou não à Xerostomia (sensação de boca seca) (Colodel et al. 2008; Kopach et al. 2012; Prestifilippo et al. 2006). Esta redução do fluxo salivar é uma consequência da ligação dos componentes canabinóides a recetores endógenos (CB1 e CB2), que desencadeará a diminuição da libertação de acetilcolina pelas células nervosas, que por sua vez diminuirá a produção de cálcio intracelular pelas glândulas salivares e consequente diminuição da produção da saliva (Kondo 2015; Kopach et al. 2012).

O fumo da cannabis tem propriedades carcinogénicas e está associado com mudanças displásicas e pré malignas na mucosa oral (Bretas et al. 2008; Cho, Hirsch, e Johnstone 2005; Colodel et al. 2008; Marder 2011).

Fumadores crônicos de canábis apresentam uma diminuição da pressão arterial (hipotensão) que acarreta consequências no uso de anestesia com vasoconstritor do tipo amina (lidocaína, articaína) em Medicina Dentária, que apresenta retardação da prolongação dos seus efeitos, por isso deve-se evitar este tipo de anestesia. Neste tipo de pacientes deve-se administrar um vasoconstritor contendo felipressina (Colodel et al. 2008).

Os profissionais de medicina dentária devem integrar os padrões de consumo dos seus pacientes na história clínica, através de perguntas sobre o consumo de tabaco e de drogas de abuso, devido à sua influência na cavidade oral e na prática médica dentária (Cho, Hirsch, e Johnstone 2005).

#### **1.1.4. Recetores Canabinóides**

Existem dois tipos de recetores canabinóides endógenos, denominados por CB1 e CB2. (Pertwee et al. 2010). Estes recetores membranares são expressos fundamentalmente nas células do sistema nervoso central, periférico e imunológico. O recetor CB1 situa-se predominantemente no sistema nervoso central nos terminais nervosos pré-sinápticos (Hipocampo, córtex cerebral, hipotálamo, nervos periféricos), sendo responsável pela maioria dos efeitos psicoativos dos canabinóides. O recetor CB2 encontra-se localizado no sistema nervoso periférico, está relacionado com o sistema imunológico (predominantemente nos macrófagos), células T, células B, baço e amígdalas (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008; Cordeiro Pedrazzi et al. 2014; Kopach et al. 2012; Saito, Wotjak, e Moreira 2010).

Os recetores CB1 e CB2 foram detetados também nas glândulas salivares, ao nível das glândulas submandibulares em animais de laboratório, no qual foi detetado recetores CB1 no sistema de ductos, e recetores CB2 nos ácinos, mas o seu mecanismo preciso de ação, e se encontra desconhecido (Kopach et al. 2012; Luis et al. 2011; Prestifilippo et al. 2006). A ligação do  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol a estes recetores específicos modula a atividade de alguns neurotransmissores, e uma regulação do comportamento motor e da secreção das hormonas adenohipofisárias, bem como uma interação com a dopamina e com o GABA (ácido gama-aminobutírico) (afetam a memória e aprendizagem) (Pertwee et al. 2010).

Estes recetores endógenos são membros da superfamília de recetores acoplados a proteína G que se encontram na membrana plasmática (Bonfá, Vinagre, e Figueiredo 2008). Tanto o recetor CB1 e CB2 estão acoplados á adenilato ciclase por uma proteína G, quando ocorre a ligação do canabinóide a estes recetores endógenos, desencadeia a ativação da proteína G e a inativação da adenilato ciclase (enzima formadora de AMP cíclico), subsequente diminuição da conversão de ATP em cAMP (adenosina monofosfato cíclico) desencadeando uma diminuição dos níveis de cAMP (importante para homeostasia celular e abertura dos canais de potássio e bloqueio dos canais de cálcio, devido á mobilização intracelular de  $Ca^{2+}$ ), mas isto não é absoluto, pois existe vários tipos de adenilato ciclase, que reagem de forma diferente (Cordeiro Pedrazzi et al. 2014; Honório, Arroio, e Da Silva 2006; Kopach et al. 2012; Luis et al. 2011).

A ativação dos recetores CB1 e CB2 inibem a atividade das adenilato ciclase I,V,VI e VIII, e estimulam as II, IV e VII. A descida da atividade da adenilato ciclase diminui a fosforilação dos seus substratos das enzimas. Este é o caso de alguns canais de  $K^+$ , em que a perda de atividade de quinase de proteínas dependente de cAMP conduz a uma diminuição da sua fosforização, e produz um aumento da condutância, que levará a uma diminuição da despolarização da membrana e redução da libertação de neurotransmissores presentes na terminação pré sináptica (Gonzalez et al. 2000; Iversen 2003).

A diminuição da produção da saliva é uma consequência da ação parassimpática do  $\Delta^9$ -tetra-hidrocanabinol (THC) (Kondo 2015).

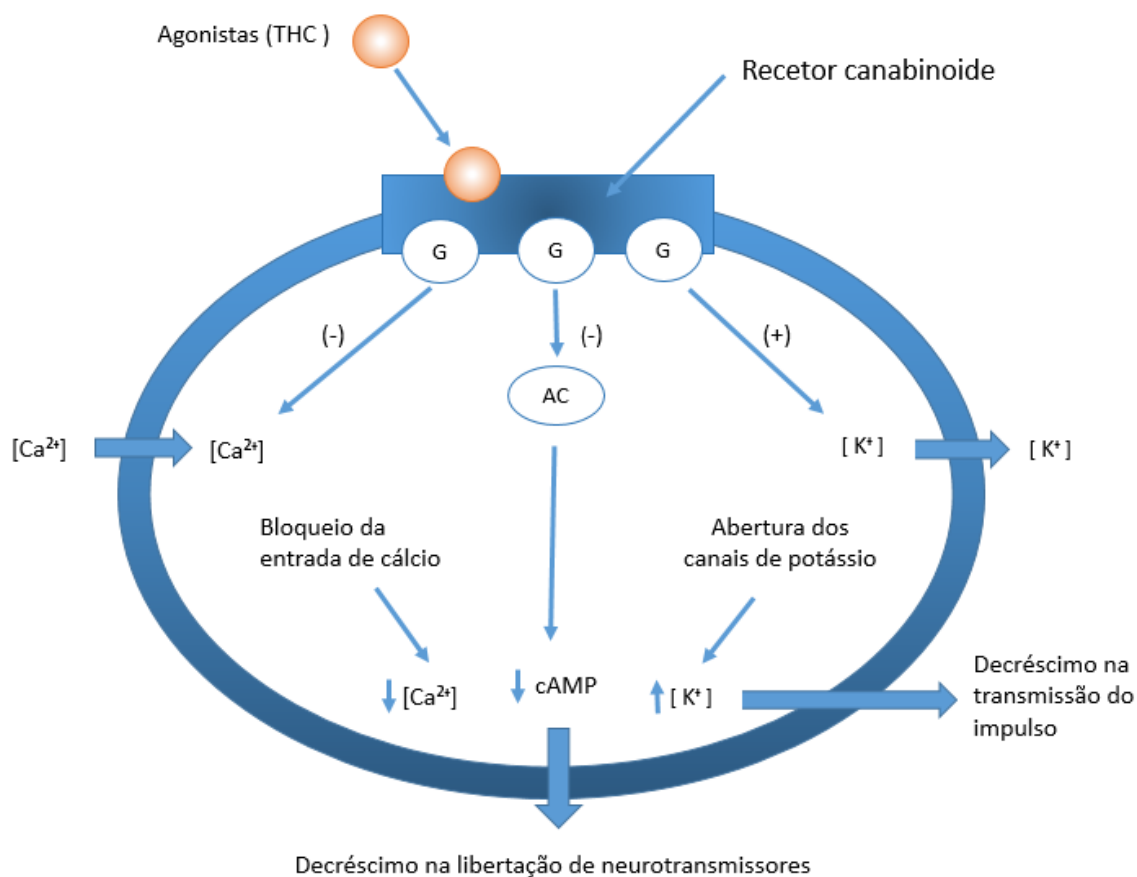


Figura 1- Ligação do THC a receptores CB1 e sua ação (adaptado de Honório, Arroio, e Da Silva 2006).

A interação do  $\Delta 9$ -tetra-hidrocanabinol com receptores CB é responsável por regular uma variedade de funções fisiológicas centrais e periféricas, incluindo o metabolismo energético e respiratório, bem como processos neuro modulatórios. Esta ligação canabinoide a receptores CB1 e CB2 irá alterar os canais de  $Ca^{2+}$  (responsável pela liberação de acetilcolina), provocando a sua inibição e a ativação dos canais de  $K^+$  (diminui a atividade das células), exercendo um efeito inibitório na liberação de neurotransmissores nas sinapses nervosas. Esta alteração da liberação de neurotransmissores irá influenciar o reflexo salivar, devido ao efeito anticolinérgico do THC (Kopach et al. 2012; Prestifilippo et al. 2006).

## 1.2. Saliva

A saliva é vista como o reflexo do estado de saúde do corpo humano, pois sabe-se que as substâncias encontradas no plasma, também se encontram na saliva, mas em quantidades menores. Esta apresenta como forma de diagnóstico, diversas vantagens em relação à urina e ao sangue, entre as quais a facilidade da sua colheita, o risco diminuto de contaminação e o fato de não ser invasivo (Ar et al. 2009; Farnaud et al. 2010; Samaranayake 2007).

A saliva é um fluido composto quase inteiramente por água (95%-99%), a restante percentagem é constituída por minerais, eletrólitos (sódio, potássio, cálcio, cloro, magnésio, bicarbonato, fosfato), imunoglobulinas, citoquinas, enzimas, mucinas, proteínas, hormonas, e outros componentes dependendo do tipo de secreção e da glândula (de Almeida et al. 2008).

A saliva apresenta múltiplas funções, e tem uma importância vital para a saúde oral. As suas principais funções são a capacidade de tampão (mucina, bicarbonato, fosfato) que permite proteger a cavidade oral, pois previne a colonização por potenciais microrganismos patogénicos negando-lhes a otimização das condições ambientais, bem como a neutralização e limpeza de ácidos produzidos pelo metabolismo dos microrganismos, prevenindo assim a desmineralização do esmalte (de Almeida et al. 2008; Fallis 2013). Adicionalmente, a saliva também apresenta uma capacidade de lubrificação (facilita a mastigação, fala e deglutição) e proteção, protegendo os tecidos orais contra agentes irritantes (agentes proteolíticos). A capacidade de lubrificação é gerada pelas Mucinas, que conferem propriedades contra a desidratação e manutenção da capacidade viscoelástica da saliva. Estas proteínas modulam também seletivamente a adesão dos microrganismos às superfícies dos tecidos orais, o que contribui para o controlo da colonização bacteriana e fúngica (de Almeida et al. 2008). Outra função da saliva é o aumento do gosto, enquanto capacidade sensorial, devido às suas características hipotónicas, que elevam a capacidade de degustação dos alimentos salgados (Humphrey e Williamson 2001; Murthykumar 2008).

A saliva tem um papel fundamental na digestão, esta inicia-se na cavidade oral, com a formação do bolo alimentar, pela enzima amilase salivar que permite quebrar o amido em maltose, maltotriose e dextrinas, de modo a facilitar a digestão (Humphrey e Williamson 2001).

Um das suas funções mais importantes é a sua capacidade antibacteriana, que ocorre devido a um grande número de agentes antimicrobianos que foram identificados na saliva, e encontram-se divididos em dois grupos, fatores imunológicos (imunoglobulinas), ou não imunológico (proteínas, seletivas, mucinas, péptidos), estes têm um papel importante no combate a microrganismos cariogénicos, principalmente *Streptococcus* (Ar et al. 2009).

Estes agentes antimicrobianos presentes na saliva, que têm um papel importante na atividade e suscetibilidade cariogénica, permitem apoiar ou inibir a adesão bacteriana (IgA, proteínas ricas em prolina), bem como ativar proteínas ou inibi-las. Estas características dependem de individuo para individuo (Ar et al. 2009).

Vários componentes da saliva, contém propriedades que permitem eliminar ou inibir o crescimento das bactérias *in vitro*. O primeiro destes componentes antimicrobianos, é a Lisozima, enzima responsável pela hidrólise da ligação  $\beta$ -1,4 glucosídica, no peptidoglicano da parede da bactéria, fragilizando-a, principalmente nas bactérias mais suscetíveis, como as Gram-positivo, resultando na destruição das bactérias (Lamont RJ , Burne RA, Lantz MS 2006).

As Histatinas apresentam uma variedade de funções antimicrobianas, sendo uma delas, antifúngica. Esta apresenta capacidade inibidora de enzimas, como as proteinases (cisteína), libertada pelas bactérias e pelos mamíferos. Com esta capacidade inibidora, pode afetar o percurso da doença periodontal, que é responsável por uma destruição proteolítica dos tecidos periodontais (Lamont RJ , Burne RA, Lantz MS 2006).

A atividade da Peroxidase ou Lactoperoxidase define-se por controlar os níveis de toxicidade do peróxido de hidrogénio (produzido pelo metabolismo das bactérias) e juntamente com a Lisozima, inibem a adesão das bactérias á superfície dos dentes (Humphrey e Williamson 2001; Viviane de Sousa Bernardes, Mirele de Oliveira Ferres 2013).

Péptidos antimicrobianos apresentam uma atividade contra as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, bem como fungos (Lamont RJ , Burne RA, Lantz MS 2006).

Lactoferrina é responsável pela despolarização da membrana citoplasmática da bactéria, levando á perda do gradiente de pH, levando a uma alteração da bactéria, que interfere na sua adesão (Lamont RJ , Burne RA, Lantz MS 2006).

### **1.2.1. Glândulas Salivares**

A saliva total é um fluido exócrino que é produzido por três pares de glândulas major (Parótida, Submandibular, Sublingual) e por centenas de glândulas minor (labial, lingual, bucal, palato) localizadas na cavidade oral (Matsuo 2000). Estas glândulas têm diferentes localizações, a Parótida fica localizada anteriormente á orelha e posteriormente ao ramo da mandíbula, na zona masséter. A glândula Submandibular e sublingual fica localizada no soalho da boca, junto das raízes dos dentes anteriores. As glândulas minor localizam-se em diferentes sítios da cavidade oral, como a mucosa jugal, faringe, lábio inferior, língua e palato (Humphrey e Williamson 2001). Estas glândulas salivares exócrinas são constituídas por um parênquima sustentado por tecido conjuntivo, qual é constituído por um sistema de ductos e de ácinos responsáveis pela secreção salivar, para a cavidade oral (Barcellos & Coelho Andrade, 2005).

A secreção das glândulas salivares pode ser classificada como serosa, mucosa ou mista. O tipo de secreção salivar depende do tipo de célula secretora que constitui os ácinos, sendo esta provocada pela contração das células mioepiteliais que estimulam os ácinos (Carpenter 2013).

A glândula Parótida é maioritariamente do tipo seroso (saliva mais hialina), as glândulas minor são do tipo mucoso, e as glândulas Sublinguais e Submandibulares do tipo misto ou mucoso (saliva ácida mucosa) (Humphrey e Williamson 2001).

O sistema de ductos também varia. Os ductos mais próximos dos ácinos, mais estreitos e de menor calibre, são denominados por ductos intercalares e permitem a conexão dos ácinos com o sistema de ductos. Adicionalmente, não participam na alteração eletrolítica da saliva (Barcellos e Andrade 2005). Os ductos estriados são os segundos deste complexo sistema glandular e são responsáveis pela regulação da reabsorção do sódio. Os ductos excretores são responsáveis pela contínua reabsorção de sódio e secreção de potássio e são estes que excretam a saliva final para a cavidade oral (Barcellos e Andrade 2005; Humphrey e Williamson 2001; Morgan-Bathke, Martin, e Limesand 2014).

Cada tipo de glândula tem uma composição e propriedades de secreção próprias, e são afetadas por diferentes formas de estimulação, que varia consoante a dieta, idade (depende do autor) género, diferentes estados de doença, efeitos farmacológicos e drogas

de abuso (Greabu et al. 2009). Adicionalmente Couto e Lopes mencionam a idade como um fator que influencia a secreção salivar (Couto e Lopes 2010).

## **1.2.2. Secreção Salivar**

A produção de saliva é regulada através de estímulos neurológicos, via ação reflexa. A produção deve-se, essencialmente, à estimulação mastigatória, gustativa e olfativa, envolvendo a estimulação simpática e parassimpática das glândulas, principalmente através dos recetores M3-muscarínicos e  $\beta$ 2-adrenérgicos respetivamente (Ambudkar 2000; Prestifilippo et al. 2006). A secreção salivar produzida por estas glândulas é dependente de sinais de origem simpática e parassimpática do sistema nervoso autónomo (Edgar, Dawes, e O`Mullane 2014). Estes nervos parassimpáticos e simpáticos trabalham em conjunto e de forma complexa, o primeiro é responsável pelo aumento do volume salivar (estimula), pois provoca uma vasodilatação e um aumento de aporte de oxigénio, o segundo desencadeia uma vasoconstrição e é responsável pela composição da saliva (Prestifilippo et al. 2006; Silva et al. 2009). Esta estimulação simpática e parassimpática ocorre no centro nervoso superior ao nível dos núcleos superiores e inferiores da medula, através de reflexos positivos como o odor, sabor, pressão, náusea, e por reflexos negativos como o sono, desidratação, fadiga e medo (Carpenter 2013; Coimbra 2016). Estímulos mecânicos e o sabor derivados da língua e de outras zonas da cavidade oral estimulam o impulso nervoso parassimpático, que circulam pela via glossofaríngea (IX), facial (VII), vago (X) e trigeminal (V) até aos núcleos salivares localizados na medula (via aferente) (Edgar, Dawes, e O`Mullane 2014). O sistema parassimpático apresenta uma relação com o nervo facial VII que é responsável pela inervação da glândula submandibular e sublingual, apresenta também uma relação com o nervo glossofaríngeo IX (via gânglio ótico) que é responsável pela inervação da glândula parótida (via eferente). O sistema simpático apresenta uma relação com o gânglio Cervical Superior (Coimbra 2016; Farnaud et al. 2010).

Estas vias permitem regular a secreção de fluido salivar através da libertação de hormonas adenohipofisárias. Os principais transmissores do sistema nervoso autónomo são a Noradrenalina (no sistema nervoso simpático), e a Acetilcolina (no sistema nervoso parassimpático). A comunicação entre células nervosas (neurónios e órgãos efetadores), ocorre através da libertação de substâncias químicas específicos produzidos pelas

terminações nervosas, denominados neurotransmissores (Edgar, Dawes, e O`Mullane 2014).

Esta libertação depende de processos provocados pela captação de íons cálcio e regulados pela fosforilação de proteínas plasmáticas. Existem recetores específicos ( $\alpha\beta$ ) para os neurotransmissores, pois, como são hidrofílicos, não lipossolúveis, não conseguem atravessar a membrana lipídica das células-alvo (Edgar, Dawes, e O`Mullane 2014).

A ligação de neurotransmissores a recetores específicos (muscarínicos) na membrana das células acinares irá ativá-los, e gerar segundos mensageiros intracelulares (IP3), responsáveis por transportar o estímulo secretório proveniente dos nervos para as células secretórias, e pela mobilização do cálcio e estimulação do transporte de íons (amplificação) (Edgar, Dawes, e O`Mullane 2014). A ligação dos neurotransmissores vai levar a um aumento do  $\text{Ca}^{2+}$  (libertado pelo RE, para o citoplasma), que é o primeiro fator intercelular na regulação da secreção salivar (Ambudkar 2000). O cálcio liga-se a uma proteína denominada por calmodulina (CaM) formando um complexo que ativa cinases dependentes de calmodulina, iniciando uma cascata de fosforilação, que acabara por conduzir a uma fosforilação e ativação da bomba  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ - ATPase (responsável por manter a concentração intracelular de  $\text{Na}^+$  baixa, e a concentração intracelular de  $\text{K}^+$  alta), e ativação da bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  co- transportador na membrana baso lateral, bem como da ativação do canal de  $\text{Cl}^-$  no lúmen, sendo eles dependentes do  $\text{Ca}^{2+}$  (Ambudkar 2000). Estes canais iónicos localizam-se na região baso lateral e apical das membranas das glândulas salivares, e a abertura destes canais, e sua acumulação, gera um gradiente osmótico trans-epitelial que é responsável pelo movimento da água dentro do lúmen (Prestifilippo et al. 2006).

Estudos indicam que a ativação do canal de  $\text{K}^+$  é acompanhado por um aumento do fluido de secreção nas diferentes glândulas salivares, provocando um fluxo de  $\text{K}^+$  na célula acinar, e preserva a força motriz para o fluxo de  $\text{Cl}^-$ , desencadeando uma hiperpolarização da célula (Ambudkar 2000). O aumento da concentração do  $\text{Ca}^{2+}$ , também ativa o canal de  $\text{Cl}^-$ , provocando o seu efluxo do citosol para o lúmen, espaço entre os ácinos. Esta acumulação de  $\text{Cl}^-$  no lúmen, provoca um aumento de  $\text{Na}^+$  (potencial de ação) dentro do lúmen via intercelular (tight junction), levando á criação de um gradiente osmótico, criado pela junção de  $\text{NaCl}$ , provocando um fluxo de água da célula para dentro do lúmen (Ambudkar 2000). Esta elevação de  $\text{Ca}^{2+}$ , e conseqüente ativação dos canais de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$

são responsáveis por manterem os níveis de estimulação do fluido de secreção (Kopach et al. 2012).

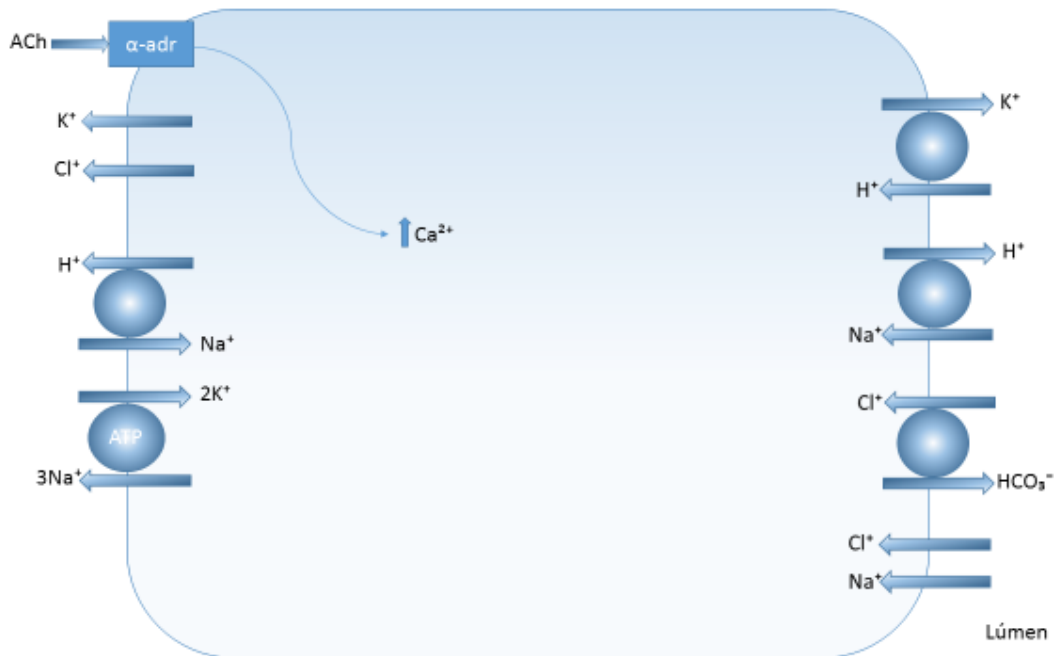


Figura 2 - Secreção salivar (adaptado de Turner e Sugiyama 2002).

A produção de saliva começa nas células acinares como um fluido isotônico (sódio, potássio, bicarbonato, cloro), semelhante ao plasma, no qual o transporte é pelo movimento dos fluidos, no momento que atinge esta particularidade, não ocorre uma força motriz adicional para o movimento da água (Edgar, Dawes, e O'Mullane 2014). As células acinares apresentam uma maior capacidade de reabsorção de eletrólitos do que os ductos intercalares, é devido a esta característica que a composição salivar sofre alterações com o fluxo salivar (Edgar, Dawes, e O'Mullane 2014).

Num baixo fluxo salivar não estimulado, o fluido salivar desloca-se lentamente pelos ductos estriados e intercalares, proporcionando a capacidade de modificar substancialmente a composição da saliva. No alto fluxo salivar estimulado o processo ocorre de maneira diferente, o fluido salivar passa a uma velocidade elevada pelos ductos, não ocorrendo grandes variações na sua composição (Edgar, Dawes, e O'Mullane 2014). As células dos ductos estriados bombeiam eletrólitos da saliva primária por transporte ativo, devido à sua característica de impermeabilidade à água, o transporte deste solvente não poderá ser conduzido por osmose (Kopach et al. 2012). Ao longo dos ductos a saliva

isotônica passa a transformar-se numa saliva hipotônica, com adição de componentes como o potássio e o bicarbonato e a remoção do cloro e sódio para se transformar na saliva final excretada para a cavidade oral (Carpenter 2013).

### **1.2.3. Fluxo Salivar Estimulado e Não estimulado**

O fluxo salivar não estimulado (ligeiramente ácido, entre 5,6 e 7,0) representa a quantidade de saliva produzida (Fluxo basal) de forma contínua na cavidade oral durante 14 a 16 horas diárias, sem ser durante as refeições. Enquanto o fluxo salivar estimulado (pH mais próximo do sangue 7,4 até um máximo de 8,0), produzido durante as refeições, está presente cerca de 2 a 4 horas diárias, e que resulta de um aumento da capacidade de produzir saliva pelas glândulas salivares, este apresenta importância na deglutição dos alimentos e na limpeza da cavidade oral (Coimbra 2016; Fallis 2013). O fluxo médio diário de saliva total varia entre 1 a 1.5 l, as glândulas salivares que produzem mais saliva não estimulada são a Major Submandibular 65%, Parótida 20% e sublingual 7% a 8%, o restante pelas numerosas glândulas minor (de Almeida et al. 2008; Humphrey e Williamson 2001). Em relação ao fluxo estimulado, as percentagens alteram sendo a glândula major Parótida a maior produtora (50%), isto deve-se à sua constituição unicamente de células serosas (Chimenos-Kustner e Marques-Soares 2002; Humphrey e Williamson 2001).

Existe uma grande variabilidade individual do fluxo salivar, e este sofre modificações ao longo do dia e altura do ano, o que dificulta a sua medição. O ritmo circadiano da saliva é superior durante o dia, mas aumenta durante as refeições, e é quase inexistente durante o sono (Humphrey e Williamson 2001).

O valor considerado baixo para o fluxo salivar não estimulado encontra-se abaixo de 0,1 mL/min, baixo 0,1- 0,35 mL/min e normal acima de 0,25 mL/min. Em relação ao fluxo salivar estimulado, um valor muito baixo 0,7 mL/min, um valor baixo entre 0,7-1,0 mL/min, e um valor normal acima de 1,0 mL/min (Falcao et al. 2013).

A qualidade e quantidade do fluxo salivar tem grande importância na manutenção da cavidade oral e sistêmica, e este é controlado por uma estimulação neuronal e hormonal. Quando ocorre uma redução da quantidade normal da saliva, pode afetar a integridade oral e a qualidade de vida (Falcão et al. 2013; Lucena et al. 2010).

Quanto maior o fluxo salivar maior será a sua “clearance” e sua capacidade tampão. Isto depende como relatado anteriormente dos estímulos simpáticos e parassimpáticos, que

irão ditar a composição proteica e quantidade salivar, que por sua vez terão uma importância vital para crescimento bacteriano. A atividade microbiana da saliva reside principalmente numa fração de proteínas, e água e eletrólitos tem a função principal no “clearance”(Adriane Bezerra de Moura 2007).

O fluxo salivar sofre várias influências, que podem influenciar a sua quantidade, segundo vários autores, os principais responsáveis por isso, são os tratamentos com radioterapia á cabeça e pescoço, doenças autoimunes (Síndrome Sjogren’s, Artrite Reumatoide), menopausa, anorexia nervosa, diabetes melitos, stress, medicação e drogas de abuso (Arhakis, Karagiannis, e Kalfas 2013). Um fluxo salivar reduzido, juntamente com um baixo nível tampão da saliva, provocará pouca resistência da saliva a ataques bacterianos (Lenander-Lumikari e Loimaranta 2000). Funções como a mastigação, fala e deglutição podem ser afetados pela diminuição do fluxo salivar, provocando alterações negativas na qualidade de vida do paciente (J. P. Almeida e Kowalski 2010).

#### **1.2.4. Fatores que influenciam o Fluxo salivar e a sua composição**

O nível de hidratação individual é o fator mais importante, que interfere no fluxo salivar (de Almeida et al. 2008; Murthykumar 2008). A variação do pH apresenta influência no fluxo salivar, devido a estar associada à concentração de CO<sub>2</sub> no sangue, se houver um aumento da concentração de CO<sub>2</sub> livre no sangue (meio mais ácido), haverá um aumento da quantidade de saliva (proteção), tornando o pH mais básico (Fallis 2013).

A postura corporal afeta a taxa de fluxo salivar. Um paciente que se encontra em pé ou deitado apresenta um aumento ou diminuição do fluxo salivar, em relação ao paciente que se encontra sentado, daí na colheita de saliva, todos os pacientes devem estar sentados na mesma posição (Murthykumar 2008).

O ritmo circadiano tem grande importância na variabilidade do fluxo salivar ao longo do dia. O fluxo salivar apresenta o maior pico no final da tarde, e desce ao longo da noite, passando para quase inexistente durante o sono. Este varia consoante a altura do ano, no verão ocorre menor volume salivar, enquanto no inverno atinge maior pico de volume. A composição salivar também varia ao longo do dia, consoante o ritmo circadiano. A concentração de proteínas totais atinge o seu pico no final da tarde, enquanto os níveis de pico de produção de cloreto de sódio, ocorrem no início da manhã (de Almeida et al. 2008)

O fluxo salivar também é afetado pelo tamanho das glândulas salivares, principalmente a produção da saliva estimulada, ao contrário da não estimulada que não depende do tamanho das glândulas (Murthykumar 2008).

Doenças sistêmicas como Pancreatites, diabetes melitos, insuficiência renal, anorexia, bulimia, doença ciática têm grande influência no fluxo salivar. Como alterações psico emocionais alteram a composição salivar e diminuem as proteínas salivares (Gupta, Epstein, e Sroussi 2006). A nutrição também é um parâmetro importante, pois uma insuficiente nutrição provocará alterações na quantidade de saliva, bem como a sua composição (de Almeida et al. 2008).

A sensação de boca seca (Xerostomia) e a diminuição do fluxo salivar é comum em pessoas de idade, mas isto não significa que a idade tem influência na composição e produção da saliva, pois esta deficiente produção de saliva em pessoas idosas, está normalmente relacionado com as doenças sistêmicas que apresentam, bem como com a medicação, ou tratamentos de radioterapia da cabeça e pescoço (Gupta, Epstein, e Sroussi 2006; Lucena et al. 2010).

Fármacos e drogas de abuso afetam o fluxo salivar, principalmente os de via anticolinérgica ou simpaticomimética (ansiolíticos, antidepressivos, e psicóticos, e-histamínicos, drogas de abuso) que reduzem o fluxo, e alteram a composição salivar (Coimbra 2016; Fávoro, Ferreira, e Martins 2006; Lucena et al. 2010).

O fumo do tabaco causa um aumento temporário do fluxo salivar, bem como do pH, mas a longo prazo não existe diferença entre fumadores e não fumadores. O efeito tóxico e irritativo do tabaco, provoca uma excreção de saliva pelas glândulas, e a sua capacidade de tampão diminui. A nicotina causa severas alterações funcionais e estruturais nas glândulas salivares (Johnson e Bain 2000).

O consumo do álcool também resulta numa diminuição do fluxo salivar estimulado, pois provoca uma alteração na liberação de proteínas e de amílase, bem como a diminuição da liberação de eletrólitos (de Almeida et al. 2008; Murthykumar 2008).

### **1.2.5. Xerostomia e Hiposalivação**

Segundo estudos sialoepidemiológicos, a Hiposalivação e a Xerostomia são relativamente comuns, atingindo cerca de 20% dos adultos jovens (Ar et al. 2009).

Xerostomia é a sensação de boca seca, devido a uma diminuição quantitativa apenas do fluxo salivar em repouso (ou não), quando esta baixa menos de metade, ou de uma alteração da composição da saliva com perda de mucinas, e conseqüente diminuição da capacidade de lubrificação, sem diminuição do fluxo salivar (Coimbra 2016; Council e February 2015; Lucena et al. 2010). A xerostomia é um sintoma que tem uma variedade de causas. É uma desordem na produção de saliva, bem como na sua depleção excessiva que causa a Xerostomia (Al-drees 2010).

Hipossalialia é a diminuição objetiva quantificável e qualificável da secreção salivar, que provoca uma alteração no fluxo salivar estimulado e não estimulado que se observa, em caso de lesão na região dos ácinos glandulares, responsável pela redução da capacidade antibacteriana e de tampão da saliva, alterando as estruturas dentárias e mucosas (Coimbra 2016; Council e February 2015).

O diagnóstico quantitativo do nível de Xerostomia é realizado através de exames sialométricos, com medições do fluxo salivar não estimulado e fluxo salivar estimulado (Coimbra 2016). O diagnóstico qualitativo da Xerostomia é realizado através de uma anamnese e uma boa avaliação clínica, em que se observa se existe alterações ao nível da cavidade oral (cárie de colo, erosões, abrasões, mau sabor, dificuldade na mastigação) (Coimbra 2016; Lucena et al. 2010). Para avaliar a Xerostomia, devem ser formuladas questões clínicas, e avaliar a resposta a essas questões. Para isso foi usado o questionário de Xerostomia onze, composto por onze perguntas com cinco respostas, o qual permite avaliar a severidade da Xerostomia consoante a resposta (da Mata et al. 2012).

O tratamento desta patologia varia de acordo com características individuais, tem o objetivo de proporcionar alívio dos sintomas, prevenir ou restaurar eventuais sequelas da disfunção salivar e a cura da doença sistêmica associada, mas depende da quantidade de tecido glandular existente (Pupo et al. 2002). Pacientes que sofrem de Xerostomia deverão realizar uma avaliação clínica frequente, para controlar as complicações desta patologia, devendo prevenir a evolução das complicações orais (Gupta, Epstein, e Sroussi 2006). No tratamento da Xerostomia, associado ao uso de drogas de abuso (canábis), deve-se realizar a avaliação da quantidade e do tipo de droga administrada, sabendo que a xerostomia é reversível, pela suspensão temporária ou total das drogas com efeito

xerostomizante. Deve haver uma motivação por parte do paciente que apresenta xerostomia para abolir o uso destas drogas (Coimbra 2016).

O tratamento desta patologia começa por eliminar os maus hábitos (fumar, álcool, drogas de abuso, medicação) e alterar a dieta, como a ingestão de cenouras diariamente, de água e leite devido às suas propriedades semelhantes á da saliva (neutraliza os ácidos), e deve evitar alimentos condimentados (Coimbra 2016). A higiene oral deve ser mais rígida, devido á erosão provocada por esta patologia, deve realizar bochechos de clorhexidina e aplicação de flúor (Coimbra 2016). A implementação de salivas artificiais e de pastilhas de sorbitol apresentam efeito no tratamento da Xerostomia (Coimbra 2016).

O tratamento poderá ser executado com o uso de substitutos salivares, embora a duração do seu efeito seja curto, devido a serem facilmente removidos da cavidade oral durante a deglutição. Estes apresentam a função de melhorar a lubrificação e a hidratação dos tecidos orais, embora não possuem vários fatores de proteção que a saliva contém (Fávaro, Ferreira, e Martins 2006). Neste tratamento poderá ser empregue o uso de agentes colinérgicos com o intuito de estimular a secreção salivar. A pilocarpina funciona como um agonista parassimpático dos recetores muscarínicos M3 da acetilcolina (responsável por estimular as glândulas salivares), mas apresenta efeitos colaterais (náusea, dor abdominal discreta, aumento de frequência urinária, calafrios, corrimento nasal, lacrimejamento, rinite e palpitações, cefaleias). Normalmente utilizada em pacientes antes e depois de realizarem radioterapia á cabeça e pescoço (Fávaro, Ferreira, e Martins 2006).

### **1.3. Microbioma Oral**

A comunidade bacteriana que habita na cavidade oral é das mais complexas que conhecemos (Dewhirst et al. 2010).

A cavidade oral é composta por diferentes habitats microbianos (saliva, dentes, língua, sulco gengival, lábios, palato), nos quais habitam uma grande variabilidade de bactérias, aproximadamente; 280 espécies de bactérias, que variam consoante a estrutura ou tecido que colonizam (Dewhirst et al. 2010).

Estes microrganismos relacionam-se entre si, e estão imersos num ambiente específico, com os elementos abióticos que os circundam e se relacionam também com eles. Estas espécies bacterianas dependem dos determinantes ecológicos (fatores do hospedeiro) que regulam a sua coexistência. Quando existe um equilíbrio entre a microbiota e os tecidos,

designa-se por Eubiose, e quando esta é corrompida, tem o nome de Disbiose, que corresponde a uma boca não saudável (José Liébana Ureña, María Paloma González Rodríguez, Maria Julia Liébana Cabanillas 2002).

A cavidade oral tem um ecossistema aberto e dinâmico, exposto a numerosos fatores que o condicionam e influenciam, alterando a sua composição e as suas características (Philip D Marsh 2009).

O metabolismo e a composição das bactérias são influenciados pelo fluxo salivar e pelas propriedades da saliva, bem como pelo estilo de vida individual (dieta, tabaco, medicação, drogas de abuso) e pela integridade das defesas do hospedeiro (Philip D Marsh 2009).

A redução de produção de saliva é uma consequência do uso de determinadas drogas de abuso e medicação, que vão proporcionar um decréscimo nas propriedades de defesa da saliva, bem como no funcionamento das defesas do hospedeiro, que ficam mais suscetíveis ao crescimento dos microrganismos patogénicos (Philip D Marsh 2009).

A própria natureza dos organismos (capacidade de adesão), e de fatores físico químicos que têm uma importância primordial no crescimento e nas relações das bactérias com o hospedeiro (Philip D Marsh 2009).

### **1.3.1. Fatores que influenciam o crescimento bacteriano**

Existe uma variabilidade individual que se refere a um ecossistema que apresenta diferenças qualitativas e quantitativas entre indivíduos. Esta variabilidade depende de fatores próprios do hospedeiro (higiene oral, hábitos dietéticos, fluxo salivar, mastigação) (José Liébana Ureña, María Paloma González Rodríguez, Maria Julia Liébana Cabanillas 2002).

Uma das primeiras defesas do organismo compreende a mastigação, o fluxo natural salivar e a composição da saliva, que juntos irão remover microrganismos que não estão firmemente ligados á superfície oral, os quais posteriormente serão eliminados pela deglutição (Philip D Marsh 2009).

Um dos fatores que influenciam o crescimento bacteriano é a humidade, pois a água é importante para o intercâmbio de nutrientes, permitindo que ocorram as reações metabólicas e a eliminação de produtos pelas bactérias, bem como para o seu crescimento (José Liébana Ureña, José Manuel Navajas Rodríguez de Mondelo, Sergio Insinilla Cubillos 2002).

O pH da maioria das superfícies da cavidade oral é regulado pela saliva, e este apresenta variações nas diferentes localizações da cavidade oral. Alguns microrganismos necessitam de um pH neutro para crescerem, e são sensíveis a pH alcalino e ácido (Philip D Marsh 2009).

Flutuações do pH ambiental poderão provocar mudanças nas proporções de bactérias. Como por exemplo no consumo de açúcar, o pH irá diminuir rapidamente (pH 5.0) devido à produção de ácidos pelo metabolismo das bactérias, o que permitirá o crescimento de bactérias que sobrevivam neste meio (*Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*) e a eliminação de outras que não se consigam manter neste meio ácido (Philip D Marsh 2009).

A temperatura na cavidade oral deve estar próxima dos 37 ° C, que é o ideal para o crescimento normal bacteriano. A flora oral sofre flutuações devido à ingestão de alimentos, que alteram a temperatura da boca e o pH, para valores que favorecem o crescimento bacteriano patogénico (Philip D Marsh 2009).

O consumo de tabaco leva a um aumento drástico da temperatura da cavidade oral, no qual as bactérias ou se adaptam ou são eliminadas. As que se adaptam são anaeróbias facultativas ou anaeróbias estritas. (José Liébana Ureña, José Manuel Navajas Rodríguez de Mondelo, Sergio Insinilla Cubillos 2002).

O fumo do tabaco suprime a resposta imunológica, principalmente a resposta a toxinas formadas pelas bactérias orais (Trandafir et al. 2011). O consumo de tabaco provoca a diminuição da mobilização dos macrófagos e da sua capacidade de fagocitose, bem como de secretar enzimas, tornando o sistema imunológico mais suscetível a proliferação bacteriana patogénica. Também apresentam uma diminuição da secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 e IL-6) que são vitais no combate a invasores patogénicos (Giusti 2007; Trandafir et al. 2011).

Outro fator importante para o crescimento bacteriano, é o potencial redox (reações de oxido redução). A presença de oxigénio na cavidade oral, vai permitir o crescimento de bactérias aeróbias (limitação do crescimento das bactérias anaeróbias), mas se houver uma maior concentração de CO<sub>2</sub>, só irão crescer os microrganismos aeróbios facultativos e anaeróbios, eliminando aqueles que são dependentes de O<sub>2</sub>. Os microrganismos anaeróbios necessitam de condições de redução para o seu metabolismo funcionar, dependem das reações de oxido-redução para se desenvolver (Philip D Marsh 2009).

Nos diferentes ecossistemas da boca podem estar presentes bactérias transitórias, que são a maioria, ou residentes que compõem a microbiota oral normal (José Liébana Ureña, María Paloma González Rodríguez, Maria Julia Liébana Cabanillas 2002).

Quantidade e especificidade das bactérias, são fatores essenciais na influência do microbiota oral, pois a saliva é um meio no qual podem estar presentes 100 milhões de bactérias por ml, o que influenciará o crescimento de placa dentária dura (tártaro), através da capacidade específica das bactérias de aderirem a superfícies duras (José Liébana Ureña, María Paloma González Rodríguez, Maria Julia Liébana Cabanillas 2002).

Quando o fluxo salivar está bloqueado ou diminuído (sedação, drogas de abuso), irá originar uma alteração na composição da microflora oral o que poderá resultar num aumento de crescimento das espécies bacterianas Gram negativo (Philip D Marsh 2009). Assim, a saliva apresenta um papel fundamental na determinação de quais os microrganismos que fazem parte da microflora oral residente (*Streptococcus mitis*, e *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) e quais deverão ser inibidos ou eliminados, como por exemplo microrganismos com capacidade patogénica (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* e *P.gingivalis*) (Jingyuan Fan, Massimo Costalonga 2010; Philip D Marsh 2009). A ação bacteriana inespecífica da saliva deve-se à sua constituição em proteínas com capacidade bacteriostática e bactericida (Lactoferrina, lisozima, glicoproteínas ricas em prolina), as quais impedem a proliferação das bactérias orais. (Humphrey e Williamson 2001).

### **1.3.2. *Staphylococcus***

Os estafilococos mais comuns na cavidade oral são as espécies *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) e *S.epidermidis*. Não são considerados como bactérias residentes, mas sim como transitórias, e estão associadas a situações normais transitórias, ou a processos infecciosos de carácter poli microbiano o que dificulta o seu significado patológico real. Aparecem na saliva de um terço da população, mas em pouca quantidade, e de forma ocasional, principalmente se os sujeitos estiverem imunodeprimidos. Por vezes estão associados a cáries radiculares e infeções pulpares e peri apicais, bem como na gengivite e doença periodontal (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

Os estafilococos são cocos Gram-positivo, podem ser aeróbios ou anaeróbios facultativos. O microrganismo *S.aureus* é o único produtor da enzima coagulase, todas as restantes espécies são negativos (Maria Miragaia 2014).

Em todos os casos deve-se estabelecer um diagnóstico diferencial entre os cocos Gram-positivos produtores de catalase, no qual só os microrganismos do género *Staphylococcus* que são manitol positivo apresentam interesse patológico. Os microrganismos da espécie *S.epidermidis* são responsáveis pela criação de uma capa protetora da mucosa que lhe permite aderir e intervir nas infeções, como a endocardite (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

Os fatores predisponentes do hospedeiro são fundamentais para criar o meio ideal para o desenvolvimento destas bactérias (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

### **1.3.3. *Streptococcus***

É uma bactéria do tipo coco Gram-positivo aeróbio ou anaeróbio facultativo. É o género bacteriano que se encontra em maior quantidade e frequência na cavidade oral (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

As bactérias pertencentes ao género *Streptococcus* apresentam um metabolismo fermentativo, sendo responsáveis pela produção do ácido láctico, que provoca a descida do pH, podendo provocar autólise (Sanches 2014).

Um dos parâmetros a ter em conta na sua classificação é a capacidade de Hemólise ( $\alpha, \beta, \gamma$ ), a qual é influenciada pela atmosfera e tempo de incubação (Sanches 2014).

Os microrganismos da espécie *Streptococcus viridans* são geralmente  $\beta$ -hemolíticos. Ecologicamente e do ponto de vista patológico, são as bactérias mais importantes da cavidade oral. São as mais frequentes e abundantes do ecossistema primário. Este está associado há formação de placa e na conseqüente produção de cáries (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

Os microrganismos da espécie *Streptococcus mutans* são os mais frequentes, principalmente em indivíduos com cárie ativa, e são considerados a bactéria cariogénica. Estes microrganismos apresentam-se em maior quantidade na placa supra gengival madura e nas superfícies lisas, e em menos quantidade na saliva (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

As suas colónias em agar de sangue pode ser  $\alpha, \beta$ , ou  $\gamma$  hemolíticas e excepcionalmente  $\beta$ -hemolítica (Sanches 2014).

Outros estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, e que tem importância na patologia médica, mas pouca relevância na cavidade oral (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

Os tecidos orais são banhados por saliva, que é responsável por uma limpeza, em virtude dos efeitos de fluxo e diluição de fluídos. Também a resposta imunitária e os, fatores de defesa não imune, têm profundas consequências para a ecologia microbiana (José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes 2002).

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Amostragem**

Neste estudo recorreu-se a uma amostra de 45 pessoas (n=45), composta por 3 grupos de igual número de sujeitos (15), de acordo, com os seus hábitos de consumo de tabaco e canabinóides. O primeiro grupo corresponde a sujeitos não fumadores, o segundo grupo sujeitos fumadores de tabaco, e o terceiro grupo fumadores de tabaco e canabinóides.

Todos os sujeitos foram submetidos a dois questionários, o primeiro destinado a traçar o perfil de higiene oral e hábitos de consumo, o segundo mais específico, destinado ao diagnóstico de Xerostomia (de acordo com o questionário onze do artigo Translation, validation, e construct reliability of a Portuguese version of the Xerostomia Inventory, que por sua vez foi adaptado de Mata et al 2012 (Anexo A e B).

Para todos os sujeitos foi recolhida saliva de forma não estimulada e estimulada, sempre em jejum e antes da higiene oral, de acordo com a rotina diária de cada sujeito.

A colheita da saliva não estimulada foi realizada em primeiro lugar, durante um minuto e em posição sentado, com os cotovelos nos joelhos, e em silêncio, pelo método de drenagem ativa da saliva (ligeira estimulação), segundo o artigo adaptado de Falcão et al. 2013.

A saliva estimulada foi colhida por um método idêntico ao anterior, mas com a diferença do que foi utilizada uma pastilha de parafina, para mastigar durante 3 minutos, aos fins dos quais os sujeitos expeliam saliva para um recipiente.

As amostras recolhidas foram conservadas a uma temperatura de 4° C, durante o transporte e até à respetiva análise bacteriológica.

Foi determinada a quantidade de saliva produzida para ambas as colheitas e foi medido o respetivo pH num potenciómetro de pH Basic 20, num espaço de tempo não superior a 2 horas após a colheita.

### 2.1.1. Análise Bacteriológica

Foram utilizados diferentes meios de cultura para inoculação das amostras, Gelose de Sangue (meio não seletivo), Chapman (seletivo para isolamento de microrganismos do género *Staphylococcus*), Mitis *Salivarius* Agar (seletivo para o isolamento de *Streptococcus orais*).

O Meio de Chapman (manitol sal) permite o isolamento de *Staphylococcus spp* e a presumível identificação de *S.aureus*. O princípio deste meio é que a elevada concentração de NaCl inibe a maioria das bactérias favorecendo o crescimento de *Staphylococcus spp*.

O Meio Mitis *Salivarius* Agar é utilizado para o isolamento de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius* e *Enterococcus spp*, que fazem parte da flora humana normal.

O Meio de Gelose de Sangue (sangue de cavalo ou de carneiro) é um meio rico em nutrientes, que permite o crescimento da maioria dos microrganismos. A conservação íntegra de eritrócitos favorece ao aparecimento de halos de hemólise nítidos, úteis para diferenciação de microrganismos hemolíticos e não hemolíticos.

Para a inoculação dos meios Mitis *Salivarius* Agar e Gelose de Sangue, utilizaram-se diluições  $10^4$  e  $10^5$ , efetuando a inoculação em duplicado para cada diluição. Nos meios de Chapman utilizaram-se as diluições de  $10^1$  e  $10^2$ , devido ao seu reduzido crescimento em meios com diluições superiores.

As inoculações foram realizadas dentro de uma câmara de fluxo laminar, DanLaf Vfrs 1206, previamente desinfetada com álcool.

Os meios de Gelose de Sangue e Mitis *Salivarius* Agar foram incubados em atmosfera de  $CO_2$  e os meios de Chapman em aerobiose. Foram todos incubados a uma temperatura de  $37^\circ C$  (estufa Memmert) durante 24 horas.

Após a incubação, foi realizada a contagem de todas as colónias existentes nos meios de cultura, e os resultados foram inseridos no programa Excel para posterior análise estatística.

Foram realizados exames a fresco e colorações de Gram, em determinadas colónias, para confirmação do isolamento e identificação dos microrganismos, como representado na figura 3.

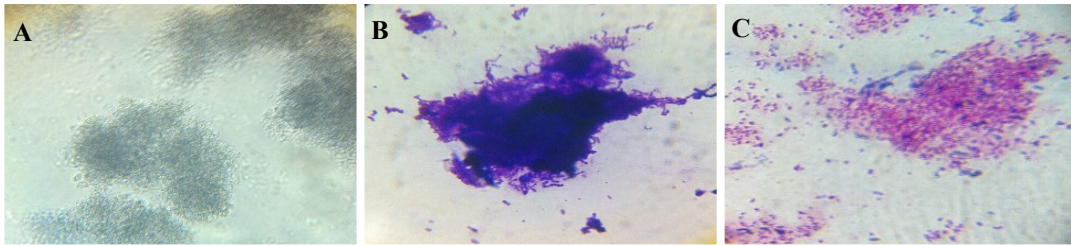


Figura 3 - Representa o exame a fresco (A) e colorações Gram de Streptococcus (B) e Staphylococcus (C).

Nas figuras 4,5 e 6 estão representadas imagens dos diferentes meios bacteriológicos dos diferentes grupos.

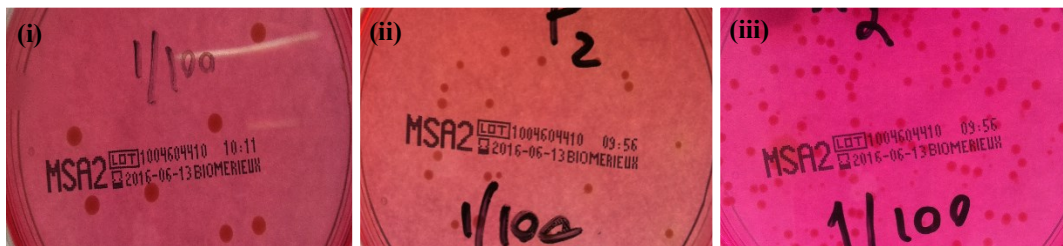


Figura 4 - Meio bacteriológico de Chapman no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e fumadores de tabaco e canabinóides (iii).

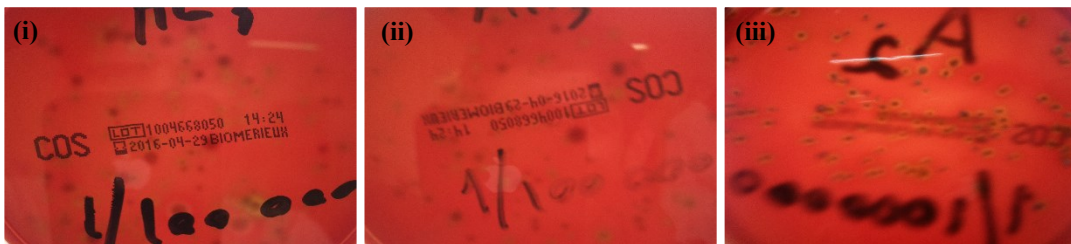


Figura 5 – Meio bacteriológico de Gelose de Sangue no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e consumidores de tabaco e canabinóides (iii).

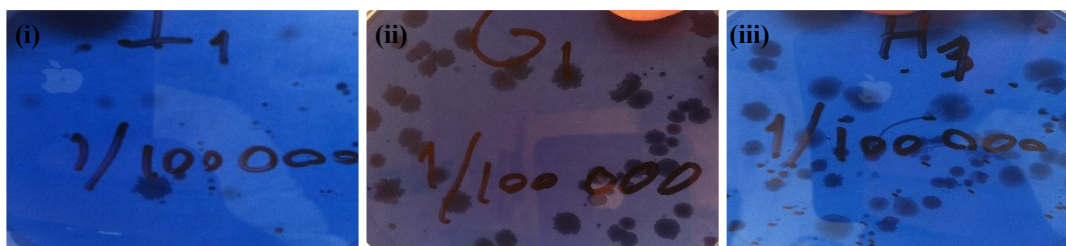


Figura 6 – Meio bacteriológico Mitis Salivarius no grupo de não fumadores (i), fumadores de tabaco (ii) e consumidores de tabaco e canabinóides (iii).

## **2.1.2. Análise Estatística**

Neste estudo analisou-se o efeito do consumo de tabaco e canabinóides na quantidade produzida de saliva não estimulada, na quantidade produzida de saliva estimulada, no valor de pH da saliva estimulada, no valor de pH da saliva não estimulada. Na quantidade de bactérias presentes na saliva e no índice subjetivo de xerostomia. Foram utilizadas medidas de análise descritiva de tendência central e de variabilidade (mínimo, máximo mediana, média, desvio padrão) para descrever o conjunto de dados gerados neste estudo.

Foram utilizados testes de Shapiro-Wilk para verificar normalidade na distribuição, caso as amostras apresentassem normalidade, recorre-se a um teste de Levene para testar a homogeneidade das variantes. No caso de as amostras não apresentarem normalidade utilizou-se um teste de Kruskal-Wallis (teste não paramétrico) que permite revelar se existe diferenças significativas na distribuição entre o valor das variâncias. Caso apresente diferença significativa utilizamos o teste post hoc ANOVA de Tukey-Kramer que permite revelar a diferença da significância estatística entre os diferentes grupos de fumadores e não fumadores. Caso apresentem normalidade é utilizado o teste ANOVA para testar a igualdade das variâncias nos diferentes grupos. Foi utilizado um teste post hoc de Kruskal-Nemenyi no qual permite verificar as diferenças entre os grupos. O teste ANOVA com correção de Welch foi utilizado sempre que o teste de Levene não verifica homogeneidade nos diferentes grupos, foi útil para avaliar a igualdade das médias quando os grupos são desiguais no tamanho. O software utilizado para a análise estatística foi o R (R Core Team 2016).

### 3. RESULTADOS

O presente estudo teve como objetivo principal compreender o efeito do consumo de canabinóides na produção de saliva, e o seu impacto em alguns microrganismos no microbioma oral. Apesar do objetivo parecer uma análise direta, de facto a complexidade dos hábitos pessoais, sociais e culturais obrigaram à inclusão de novas variáveis que permitissem uma avaliação mais próxima da realidade. Assim, tiveram que ser incluídas variáveis como o consumo de tabaco e de canabinóides. A razão prende-se aos factos de o consumo de haxixe está inexoravelmente ligado ao consumo de tabaco, e faz parte dos hábitos socio culturais do nosso país.

Assim foi relacionado variáveis como a quantidade de saliva não estimulada, quantidade de saliva estimulada, valor de pH da saliva não estimulada, valor de pH da saliva estimulada, número de unidade formadoras de colónias nos diferentes meios e no total entre os vários grupos formados.

#### 3.1. Quantidade de saliva não estimulada (ml/min)

Um dos aspetos mais relevantes neste trabalho foi estudar a influência do consumo de canabinóides na quantidade de saliva produzida. Assim, observou-se que a quantidade de saliva não estimulada, apresenta o valor médio mais elevado nos indivíduos fumadores de tabaco ( $Md = 0,820$ ,  $\mu = 0,997$  ml,  $\sigma = 0,629$ ) (Fig. 7). Os indivíduos que consomem tabaco e canabinóides ( $Md = 0,600$  ml,  $\mu = 0,823$  ml,  $\sigma = 0,429$ ) apresentam o menor valor médio de quantidade de saliva não estimulada comparativamente ao grupo de fumadores de tabaco e ao grupo de controlo. ( $Md = 0,650$ ,  $\mu = 0,927$  ml,  $\sigma = 0,850$ ) (Fig.7). O valor de mediana no grupo de indivíduos não fumadores, fumadores de tabaco e fumadores de tabaco e canabinóides é consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.1).

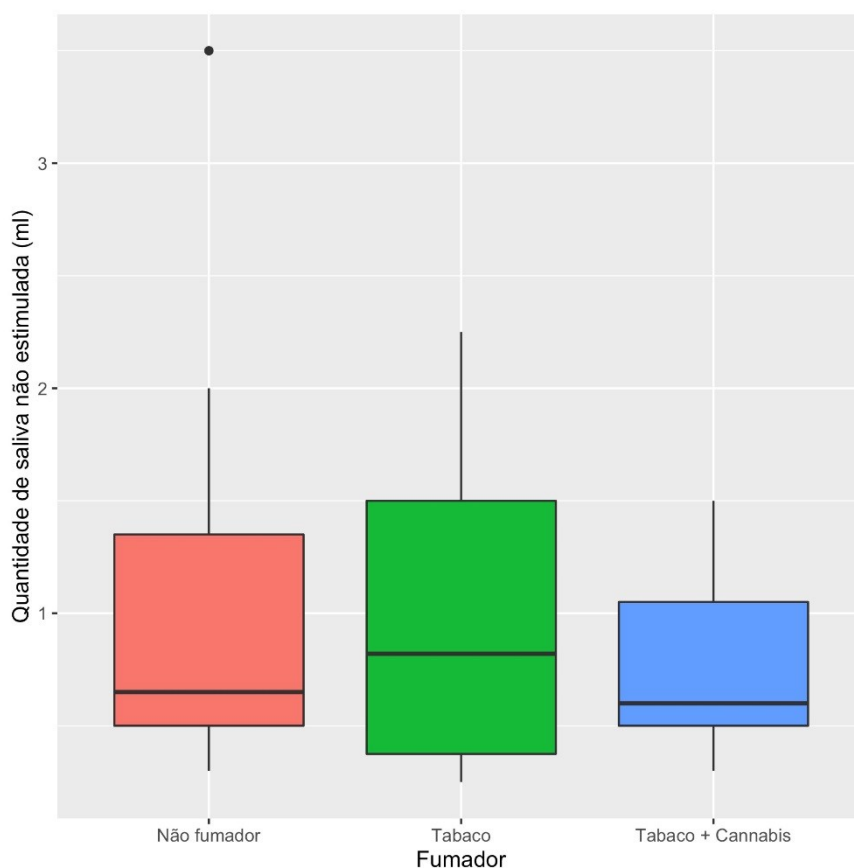


Figura 7 - Gráfico de bigodes que representa a quantidade de saliva não estimulada recolhida (ml/min) em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 1 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão da quantidade de saliva não estimulada recolhida (ml/min) por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	0,300	3,500	0,650	0,927	0,850
Tabaco	0,250	2,250	0,820	0,977	0,629
Tabaco + Canábis	0,300	1,500	0,600	0,823	0,429

Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, relativo á quantidade de saliva não estimulada, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,85491$ ,  $p \leq 4,909 \times 10^{-5}$ ). O teste de Kruskal-Wallis, relativo á quantidade de saliva não estimulada não mostrou diferença significativa entre os vários grupos de fumadores ( $H(2) = 0,46784$ ,  $p \leq 0,7914$ ).

### 3.2. Quantidade de saliva estimulada (ml/min)

O valor médio da quantidade de saliva estimulada é mais elevada em indivíduos que não fumam (Md = 4,000 ml,  $\mu = 4,069$  ml,  $\sigma = 2,587$ ) relativamente a indivíduos que fumam tabaco (Md = 2,500 ml,  $\mu = 3,270$  ml,  $\sigma = 1,709$ ) e que consomem tabaco e canabinóides. (Md = 2,520 ml,  $\mu = 2,849$  ml,  $\sigma = 1,443$  ml) (Fig.8). O valor da mediana no grupo de fumadores de tabaco e consumidor de tabaco e canabinóides é consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.2).

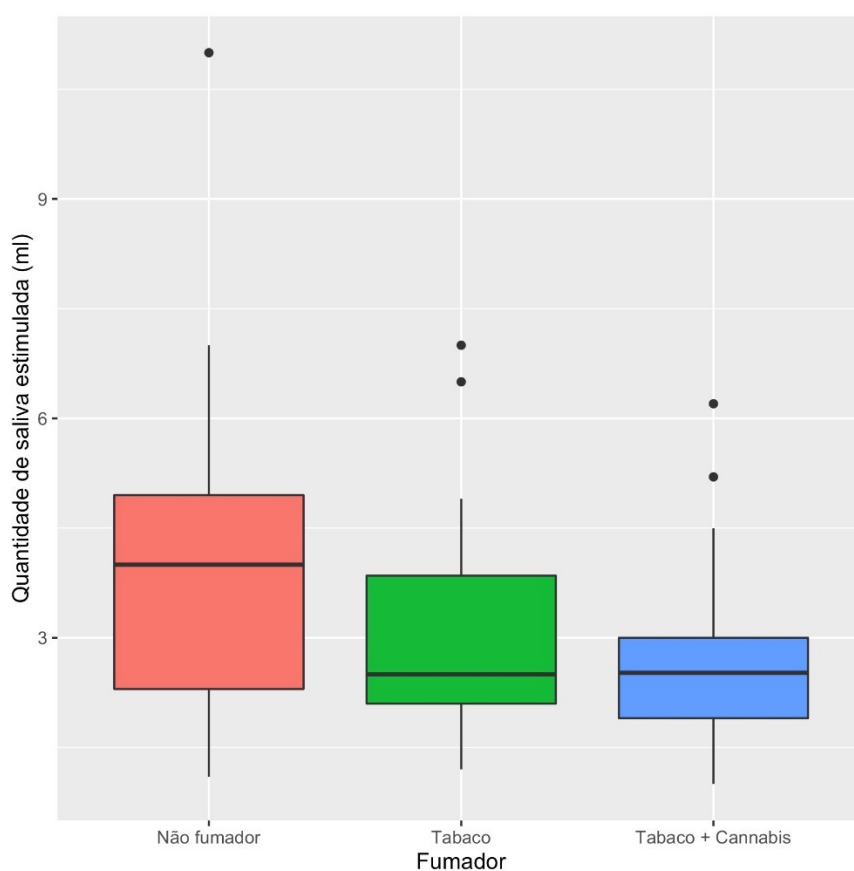


Figura 8 - Gráfico de bigodes que representa a quantidade de saliva estimulada recolhida (ml/min) em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 2 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão da quantidade de saliva estimulada recolhida (ml/min) por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	1,100	11,000	4,000	4,069	2,587
Tabaco	1,200	7,000	2,500	3,270	1,709
Tabaco + Canábis	1,000	6,200	2,520	2,849	1,443

Foi realizado um teste de Kruskal-Wallis relativo á quantidade de saliva estimulada, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,86613$ ,  $p \leq 9,787 \times 10^{-5}$ ). O teste revelou não haver diferença significativa entre os vários grupos de fumadores ( $H(2) = 1,0727$ ,  $p \leq 0,3513$ ).

### **3.3. Valor de pH da saliva não estimulada**

O valor médio do pH da saliva não estimulada é mais elevado em indivíduos que não fumam ( $Md = 7,250$ ,  $\mu = 7,249$ ,  $\sigma = 0,369$ ) apesar de não apresentar uma diferença óbvia em relação aos fumadores de tabaco ( $Md = 7,190$ ,  $\mu = 7,119$ ,  $\sigma = 0,528$ ), mas apresenta uma diferença clara em relação ao grupo dos fumadores de tabaco e canabinóides ( $Md = 6,760$ ,  $\mu = 6,957$ ,  $\sigma = 0,695$ ). Os indivíduos fumadores de tabaco apresentam um valor médio de pH da saliva não estimulada superior aos indivíduos fumadores de tabaco e canabinóides (Fig.9). O valor da mediana no grupo de indivíduos fumadores de tabaco e fumadores de tabaco e canabinóides é consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.3).

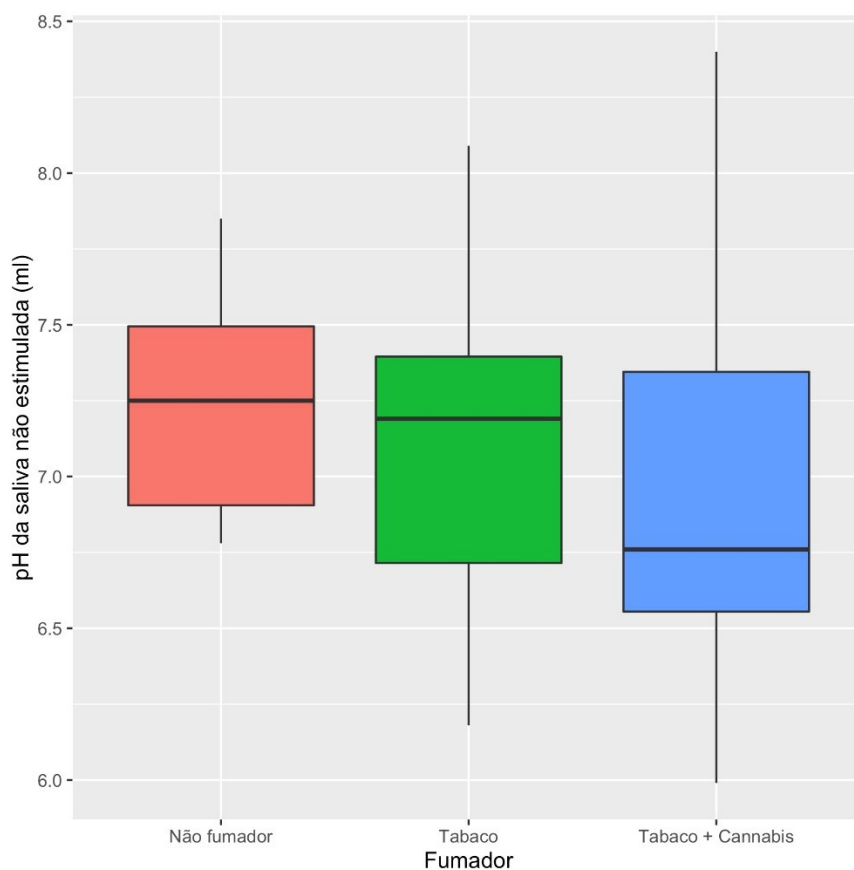


Figura 9 - Gráfico de bigodes que representa o valor de pH da saliva não estimulada em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 3 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão referentes ao valor de pH da saliva não estimulada por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	6,780	7,850	7,250	7,249	0,368
Tabaco	6,180	8,090	7,190	7,119	0,528
Tabaco + Canábis	5,990	8,400	6,760	6,957	0,695

Foi utilizado um teste ANOVA relativo ao valor de pH da saliva não estimulada, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,98726$ ,  $p \leq 0,8962$ ). Utilizou-se um teste Levene para verificar a homogeneidade das variâncias ( $df = 2$ ,  $F = 1,0739$ ,  $p \leq 0,3509$ ). À igualdade nas variâncias criou-se um teste ANOVA a um fator de erro do tipo 3, este mostrou que era significativo em relação ao modelo nulo ( $F(1) = 2638,1945$ ,  $p \leq 2 \times 10^{-16}$ ). No entanto não existe diferença significativa entre os grupos de fumadores.

### 3.4. Valor de pH da saliva estimulada

O valor médio do pH da saliva estimulada nos indivíduos do grupo de controlo (Md = 7,760,  $\mu = 7,743$ ,  $\sigma = 0,298$ ) é próximo em relação aos indivíduos fumadores de tabaco, (Md = 7,700,  $\mu = 7,715$ ,  $\sigma = 0,392$ ) (Fig.10). Os indivíduos consumidores de tabaco e de canabinóides (Md = 7,650,  $\mu = 7,580$ ,  $\sigma = 0,573$ ) têm o valor de pH mais baixo comparativamente aos restantes grupos (Fig.10). O grupo de indivíduos fumadores de tabaco e canabinóides apresentaram um valor de mediana consideravelmente diferente da média (Tab.4).

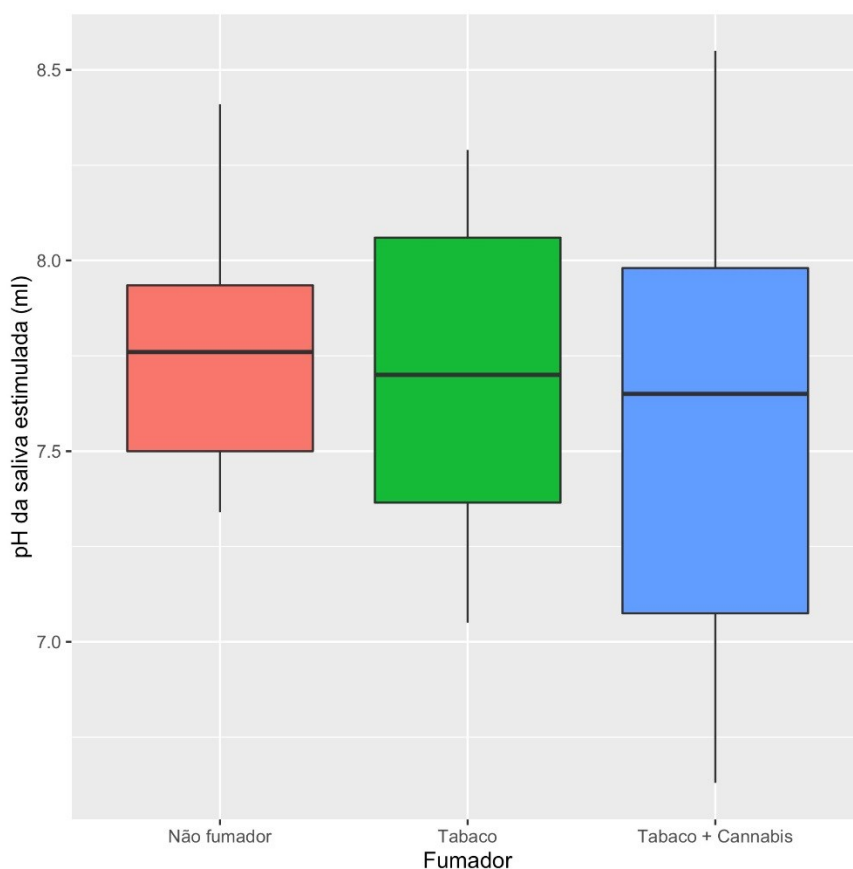


Figura 10 - Gráfico de bigodes que representa do valor de pH da saliva estimulada em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 4 – Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão referentes ao valor de pH da saliva estimulada por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	7,340	8,410	7,760	7,743	0,298
Tabaco	7,050	8,290	7,700	7,715	0,392
Tabaco + Canábis	6,630	8,550	7,650	7,580	0,573

Foi realizado um teste ANOVA com correção de Welch, relativo ao valor de pH da saliva estimulada, uma vez que os valores obtidos para esta variável seguem uma distribuição normal ( $W = 0,99065$ ,  $p \leq 0,9723$ ). Foi utilizado o teste de Levene, este apresentou homogeneidade das variâncias ( $df = 2$ ,  $F = 3,5323$ ,  $p \leq 0,0382$ ). O teste ANOVA testou a igualdade das variâncias nos diferentes grupos, no qual não apresentaram igualdade, recorreu-se a um teste ANOVA com correção de Welch ( $F(2) = 0,46943$ ,  $p \leq 0,6305$ ), revelou não existir diferença estatística significativa.

### 3.5. Meio de Chapman (ufc)

Outra parte importante deste estudo foi a contagem do número de unidades formadoras de colónias nos diferentes meios bacteriológicos, de modo a perceber se havia diferença entre os grupos de controlo relativamente aos grupos de fumadores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

O valor médio do total de unidades formadoras de colónias (ufc) no meio de Chapman é mais elevada no grupo controle ( $Md = 3,699$ ,  $\mu = 2,951$ ,  $\sigma = 1,586$ ), relativamente aos indivíduos fumadores de tabaco ( $Md = 3,000$ ,  $\mu = 2,002$ ,  $\sigma = 1,962$ ) e consumidores de tabaco e canabinóides ( $Md = 3,301$ ,  $\mu = 2,693$ ,  $\sigma = 2,083$ ) (Fig.11). Os indivíduos consumidores de tabaco apresentam um valor médio de unidades formadoras de colónias inferior comparativamente a indivíduos que consomem tabaco e canabinóides. O valor de mediana do total de grupos é consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.5).

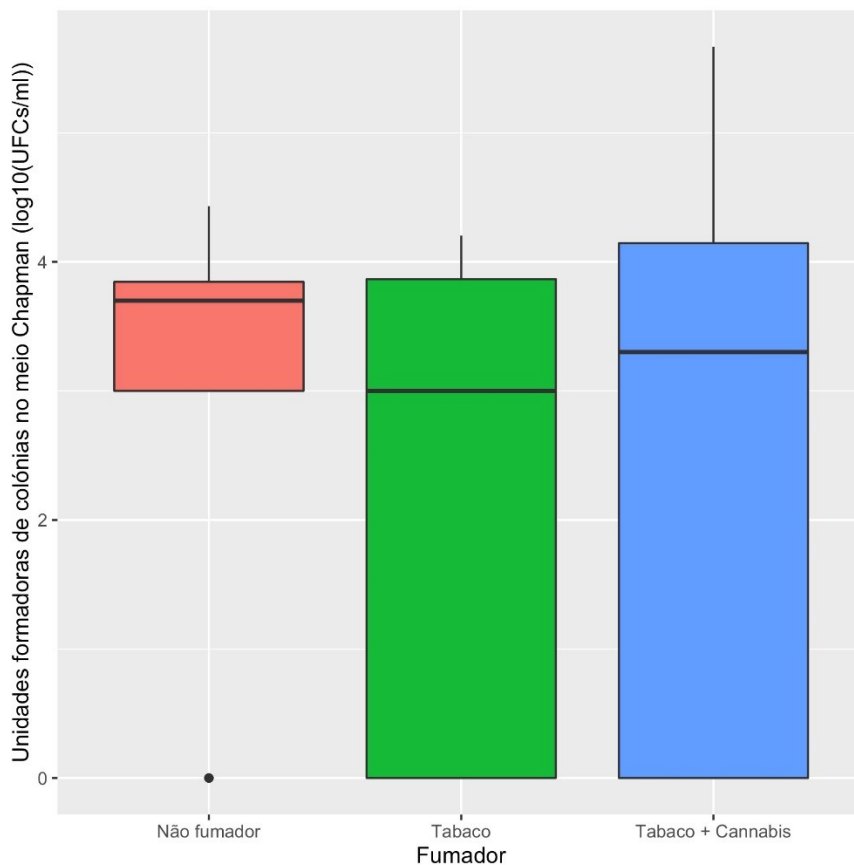


Figura 11 - Gráfico de bigodes que representa o número de unidades formadoras de colônias no meio de Chapman (ufc) em relação do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 5 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colônias no meio de Chapman (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	0,000	4,431	3,699	2,951	1,586
Tabaco	0,000	4,204	3,000	2,002	1,962
Tabaco + Canábis	0,000	5,667	3,301	2,693	2,083

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, relativo ao número de unidades formadoras de colônias no meio de chapman, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indicou um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,78888$ ,  $p \leq 1,366 \times 10^{-6}$ ). O teste revelou não haver diferenças significativas entre os diferentes grupos ( $H(2) = 1,3344$ ,  $p \leq 0,5131$ ).

### 3.6. Meio de Gelose de sangue (ufc)

O valor médio do número de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de sangue é mais elevado nos indivíduos consumidores de tabaco ( $Md = 8,698$ ,  $\mu = 8,627$ ,  $\sigma = 0,419$ ) comparativamente ao grupo controle ( $Md = 7,744$ ,  $\mu = 7,774$ ,  $\sigma = 2,177$ ) e a indivíduos consumidores de tabaco e canabinóides ( $Md = 8,371$ ,  $\mu = 8,309$ ,  $\sigma = 0,317$ ) (Fig.12). Os indivíduos pertencentes ao grupo de controlo apresentam um valor de mediana consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.6).

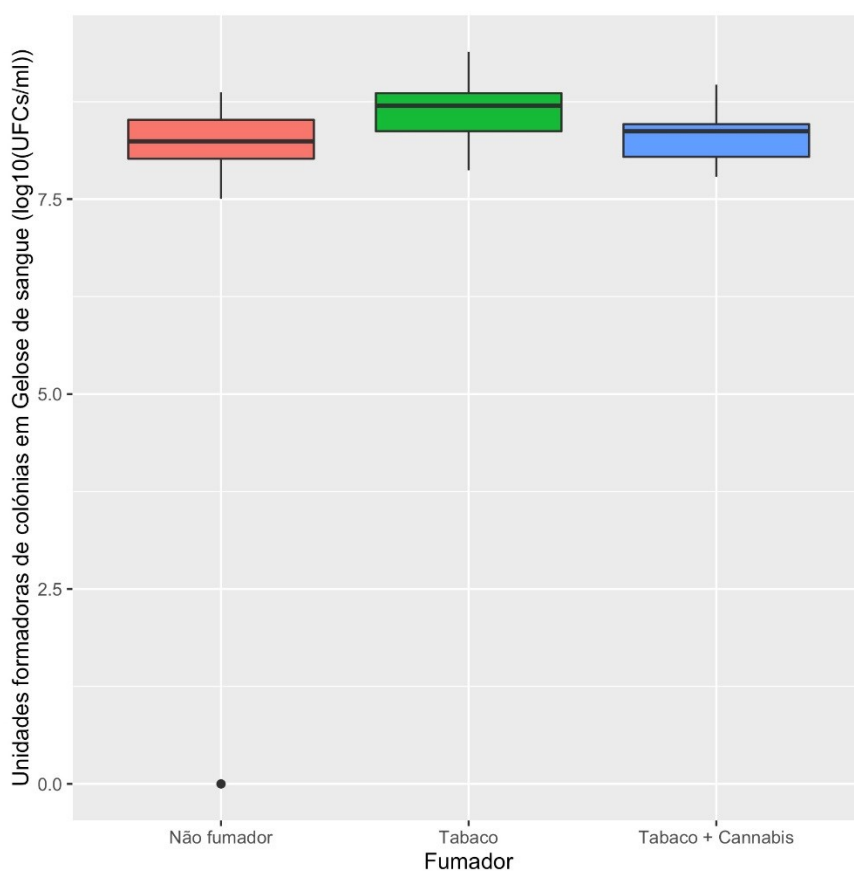


Figura 12 - Gráfico de bigodes que representa o total de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de Sangue (ufc) em função com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 6 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de Sangue (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	0,000	8,872	8,241	7,744	2,177
Tabaco	7,869	9,390	8,698	8,627	0,419
Tabaco + Canábis	7,785	8,968	8,371	8,309	0,317

Foi feito o teste de Kruskal-Wallis, relativo ao número de unidades formadoras de colónias no meio de Gelose de sangue, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,39726$ ,  $p \leq 2,368 \times 10^{-12}$ ) Este teste de Kruskal-Wallis revelou uma diferença estatisticamente significativa ( $H(2) = 6,298$ ,  $p \leq 0,0429$ ) entre os diferentes grupos, por ter o valor de  $p \leq 0.05$ .

Foi realizado um teste post hoc de Tukey-Kramer, no qual Nemenyi não mostrou diferenças, estatisticamente significativa entre as relações de indivíduos fumadores de tabaco ( $p \leq 0,063$ ) com o grupo controle. Este teste revelou também não haver diferença significativa na relação com indivíduos do grupo de fumadores de tabaco e canabinóides ( $p \leq 0,093$ ) comparativamente a indivíduos fumadores de tabaco, como também não revelou diferença estatisticamente significativa na relação com o grupo de controlo ( $p \leq 0,0985$ ).

### **3.7. Meio Mitis Salivarius (ufc)**

O valor médio do número de unidades formadoras de colónias (ufc) no meio mitis é menor no grupo controle ( $Md = 7,924$ ,  $\mu = 7,277$ ,  $\sigma = 2,107$ ) relativamente a indivíduos que fumam tabaco ( $Md = 8,173$ ,  $\mu = 8,196$ ,  $\sigma = 0,550$ ) e que fumam tabaco e canabinóides ( $Md = 8,093$ ,  $\mu = 8,051$ ,  $\sigma = 0,512$ ). O valor médio do número de unidades formadoras de colónias encontra-se com valores próximos tanto para indivíduos consumidores de tabaco como para indivíduos consumidores de tabaco e canabinóides (Fig.13). O grupo de controlo apresentou um valor de mediana distante da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.7).

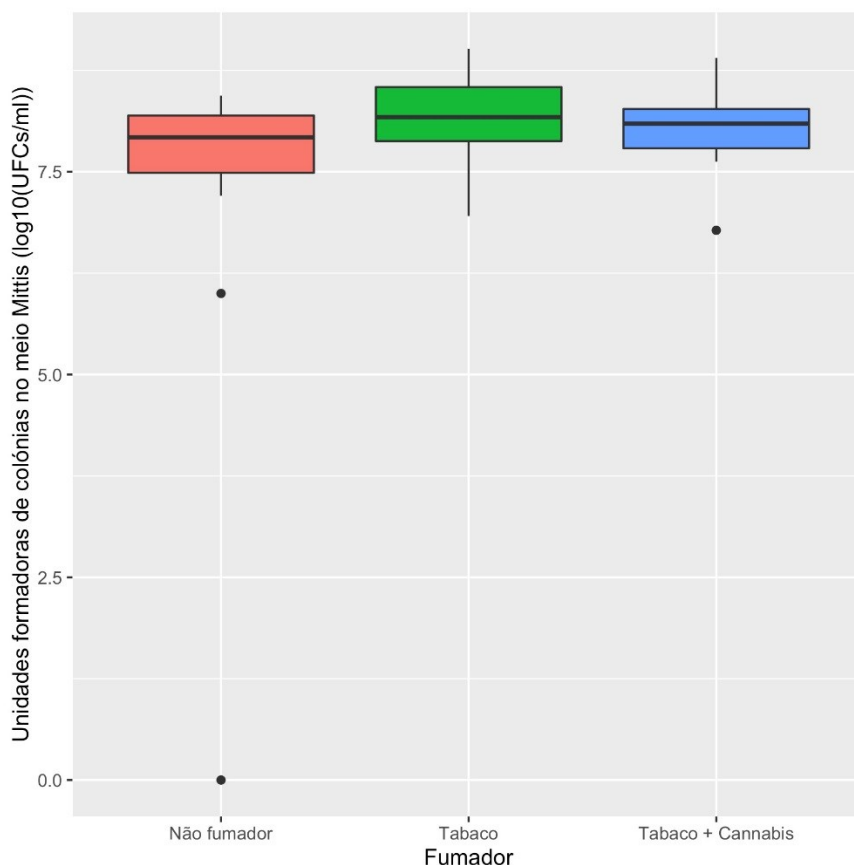


Figura 13 - Gráfico de bigodes que representa o total de unidades formadoras de colónias no meio Mitis Salivarius (ufc) em relação com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 7 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no meio de Mitis Salivarius (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	0,000	8,439	7,924	7,277	2,107
Tabaco	6,954	9,017	8,173	8,196	0,550
Tabaco + Canábis	6,778	8,904	8,093	8,051	0,512

Foi feito o teste de Kruskal-Wallis, relativo ao número de unidades formadoras de colónias do meio Mitis Salivarius, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,50867$ ,  $p \leq 4,582 \times 10^{-11}$ ). Este teste revelou não haver diferenças estatisticamente significativas nos diferentes grupos  $H(2) = 3,8943$ ,  $p \leq 0,1427$ ).

### 3.8. Total dos meios (Chapman, Mitis Salivarius, Gelose de Sangue)(ufc)

O número de unidades formadoras de colónias (ufc) no total dos meios (Mitis, Chapman e Gelose de Sangue) é mais elevada nos indivíduos consumidores de tabaco (Md = 8,889,  $\mu = 8,787$ ,  $\sigma = 0,483$ ) relativamente aos indivíduos do grupo de controlo (Md = 8,539,  $\mu = 7,886$ ,  $\sigma = 2,215$ ) e a indivíduos que consomem tabaco e canabinóides (Md = 8,580,  $\mu = 8,533$ ,  $\sigma = 0,340$ ) (Fig.14). O grupo de indivíduos não fumadores apresentaram um valor de mediana consideravelmente diferente do valor de média, podendo apresentar uma distribuição assimétrica (Tab.8).

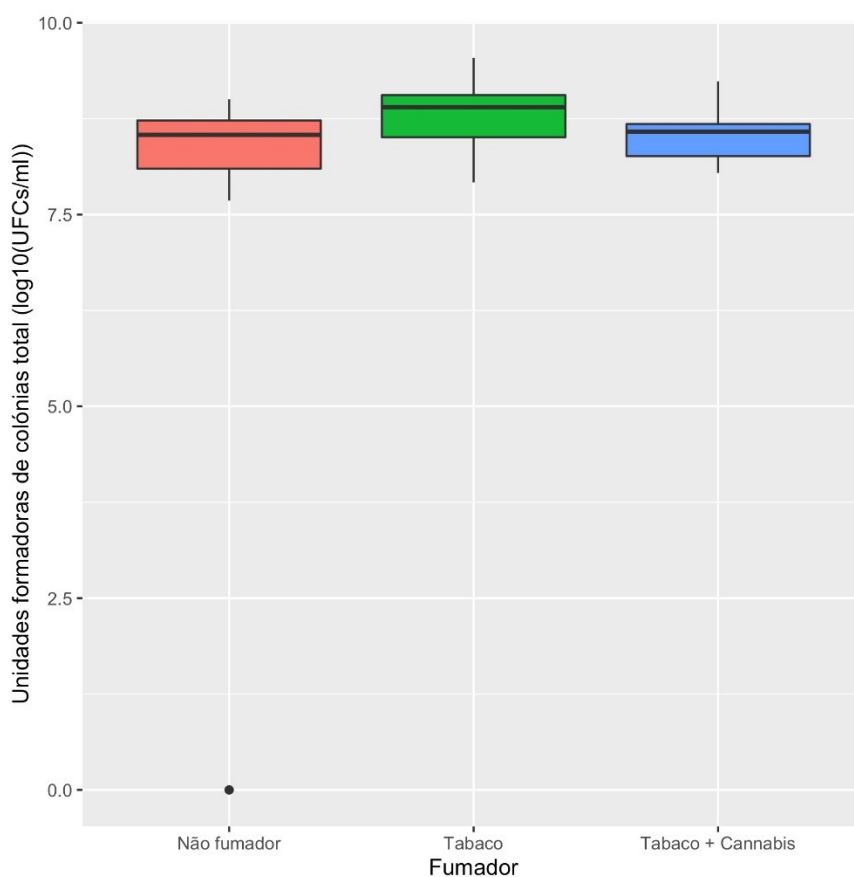


Figura 14 - Gráfico de bigodes que representa o número de unidades formadoras de colónias no meio Mitis Salivarius, Chapman e Gelose de Sangue (ufc) em função com o grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 8 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do número de unidades formadoras de colónias no total dos meios bacteriológicos (Chapman, Gelose de Sangue, Mitis) (ufc), por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	0,000	9,004	8,539	7,886	2,215
Tabaco	7,919	9,544	8,899	8,787	0,438
Tabaco + Canábis	8,041	9,238	8,580	8,533	0,340

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, relativo ao número de unidades formadora de colónias no total dos meios bacteriológicos (chapman, gelose de sangue, mitis), uma vez que os valores obtidos para esta variável seguem uma distribuição não normal ( $W = 0,39732$ ,  $p \leq 2,372 \times 10^{-12}$ ). Este teste não paramétrico, revelou diferença significativa entre os vários grupos ( $H(2) = 5,7878$ ,  $p \leq 0,05536$ ). Optou-se por utilizar um post hoc de Nemenyi no qual apresentou uma diferença significativa na relação dos fumadores de tabaco ( $p \leq 0,051$ ) com o grupo de não fumadores. O grupo dos fumadores de tabaco e canabinóides não apresentaram uma diferença significativa comparativamente ao grupo de não fumadores ( $p \leq 0,783$ ).

### 3.9. Índice subjetivo de Xerostomia

Foi gerado um gráfico de bigodes a partir do questionário onze, em que cada resposta tem um valor (0 a 5) sendo o resultado mais alto correlacionado com sinais de xerostomia. O valor do índice subjetivo de xerostomia é mais elevado em indivíduos fumadores relativamente a não fumadores ( $Md = 17,00$ ,  $\mu = 17,73$ ,  $\sigma = 4,350$ ). Dentro do grupo dos fumadores, os consumidores de tabaco e canabinóides ( $Md = 25,00$ ,  $\mu = 25,73$ ,  $\sigma = 4,788$ ) apresentam um valor de índice subjetivo de xerostomia superior aos indivíduos que só consomem tabaco ( $Md = 22,00$ ,  $\mu = 21,13$ ,  $\sigma = 6,093$ ) (Fig.15). O grupo de consumidores de tabaco e canabinóides apresentou um valor de mediana consideravelmente diferente da média, o que pode indicar uma distribuição assimétrica (Tab.9).

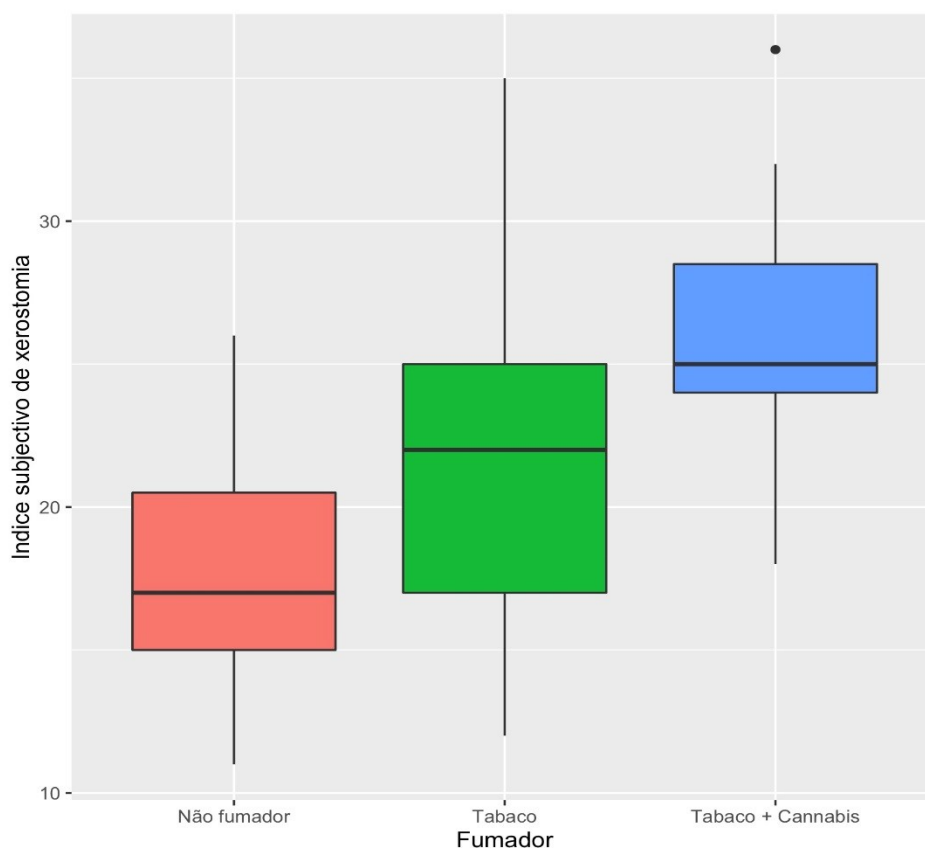


Figura 15 - Gráfico de bigodes que representa o Índice subjetivo de xerostomia em função do grupo de não fumadores, consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides.

Tabela 9 - Valores mínimos, máximo, mediana, média e desvio padrão do valor de Índice subjetivo de xerostomia, por grupo de não fumadores, fumadores de tabaco, consumidores de tabaco e canabinóides.

	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio padrão
Não Fumador	11,00	26,00	17,00	17,73	4,350
Tabaco	12,00	35,00	22,00	21,13	6,093
Tabaco + Canábis	18,00	36,00	25,00	25,73	4,788

Foi feito um teste ANOVA, relativo ao valor do índice subjetivo de xerostomia, uma vez que o teste Shapiro-Wilk indica um desvio significativo à normalidade ( $W = 0,97243$ ,  $p \leq 0,3536$ ). Assim, recorreu-se ao teste de Levene que revelou homogeneidade das variâncias ( $df = 2$ ,  $F = 0,7159$ ,  $p \leq 0,4946$ ). O teste ANOVA revelou ser um modelo significativo em relação ao modelo nulo ( $df = 1$ ,  $F = 2638,1945$ ,  $p \leq 2 \times 10^{-16}$ ).

Utilizou-se um teste post hoc ANOVA de Tukey que revelou haver diferenças significativas entre o grupo de não fumadores e os grupos de fumadores de tabaco ( $p \leq 3.4$ ) e dos fumadores de tabaco e canabinóides ( $p \leq 8.0$ ).

O grupo de fumadores de tabaco e de canabinóides apresentou também uma diferença significativa no índice subjetivo de xerostomia comparativamente com os indivíduos fumadores de tabaco ( $p \leq 4,6$ ).

## **4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS**

Este estudo teve o objetivo de comprovar a influência do consumo de canabinóides na produção de saliva estimulada e não estimulada e nas consequências destas alterações no crescimento bacteriano, nomeadamente o número de unidades formadoras de colónias nos diferentes meios bacteriológicos com os diferentes grupos em estudo. Adicionalmente comparou-se o valor de pH na saliva estimulada e não estimulada nos diferentes grupos (não fumadores, fumadores de tabaco, fumadores de tabaco e canabinóides).

Como foi referido anteriormente, este estudo contemplou três grupos: (i) um grupo controlo, constituído por quinze indivíduos não fumadores; (ii) um grupo constituído por quinze indivíduos fumadores unicamente de tabaco e (iii) um grupo de quinze indivíduos consumidores de tabaco e de canabinóides. A necessidade de utilizar os três grupos prende-se com o facto do consumo de haxixe, responsável por gerar o efeito psicoativo, estar inexoravelmente ligado ao consumo de tabaco.

Relativamente à análise da produção de saliva não estimulada os três grupos, apresentaram diferenças entre si, embora não tenham sido estatisticamente significantes (Fig.7). Por sua vez a quantidade de saliva estimulada apresenta um valor médio mais elevado em indivíduos não fumadores quando comparado com indivíduos consumidores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. Contudo, as diferenças não são estatisticamente significativas (Fig.8). A média dos valores da produção de saliva estimulada no grupo de indivíduos fumadores de tabaco e no grupo de indivíduos consumidores de tabaco e canabinóides é semelhante. Nos estudos referentes a este assunto, tanto o consumo de tabaco e de canabinóides são nocivos para a produção do fluxo salivar, mas a sua influência não está totalmente compreendida (Ashton e Ashton 2012; Cho, Hirsch, e Johnstone 2005; Johnson e Bain 2000).

O estudo da influência do consumo de tabaco e consumo de tabaco e canabinóides no valor de pH na saliva não estimulada e estimulada, revelou diferenças, entre os grupos de controlo, fumadores de tabaco e consumidores de tabaco e canabinóides. O grupo de consumidores de tabaco e tabaco canabinóides apresentou um valor médio de pH inferior relativamente ao grupo de controlo. Os consumidores de tabaco apresentaram um valor médio de pH superior comparativamente a indivíduos consumidores de tabaco e canabinóides (Fig.9). Em relação ao pH da saliva estimulada esta apresentou valores

médios mais altos em indivíduos não fumadores, apesar de a sua diferença não ser estatisticamente significativa (Fig.10). Estudos prévios indicam que o valor de pH da saliva não estimulada em fumadores de tabaco ronda os 5,5 a 7,9, não havendo relatos do pH da saliva em fumadores de canábis e tabaco (Gigena, Bella, e Cornejo 2012; Vinhas e Pacheco 2015). Como referido anteriormente, o consumo de tabaco e possivelmente de canábis origina uma descida do valor de pH, propícia para o desenvolvimento do crescimento bacteriano anaeróbio. Relativamente ao estudo microbiológico, o número de unidades formadoras de colónias no meio Chapman (ufc) apresentaram um valor médio mais elevado nos indivíduos não fumadores, apesar das diferenças não serem estatisticamente significativa entre os grupos (Fig.11).

Tanto o meio Gelose de sangue (Fig.12) e o meio de Mitis (Fig.13) nas amostras do grupo de controlo apresentaram o valor médio de unidades formadoras de colónias (ufc) inferior comparativamente a grupos de fumadores, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa. O número de unidades formadoras de colónias (ufc) no total dos meios bacteriológicos (mitis, chapman e gelose de sangue) é mais elevada em indivíduos que fumam tabaco comparativamente aos indivíduos que não fumam, estas diferenças foram estatisticamente significativas. Não foi possível comparar o estudo bacteriológico com os indivíduos consumidores de canabinóides, pois não existe literatura que comprove, se os indivíduos usuários de canabinóides, consomem juntamente com tabaco, mas foi possível comparar relativamente os consumidores de tabaco com o crescimento bacteriano (Gigena, Bella, e Cornejo 2012) (Fig.14). Assim, foi referido no estudo que fumar propícia um ambiente mais favorável para o crescimento bacteriano anaeróbio, embora dependa das características individuais do hospedeiro.

Para estudar o índice subjetivo de xerostomia foi realizado um questionário, composto por onze perguntas, com cinco respostas por perguntas com valores de um a cinco. Os resultados deste questionário apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos, principalmente na relação do valor médio do grupo de consumidores de tabaco e canabinóides em relação ao grupo de controlo (Fig.15). Os indivíduos consumidores de tabaco e canabinóides apresentaram o maior valor de resposta às perguntas do questionário onze, relacionadas com a xerostomia. Como mencionado no estudo, a sensação de boca seca (xerostomia), está associado a fumadores crónicos de canabinóides (Kopach et al. 2012; Prestifilippo et al. 2006). Os consumidores de tabaco também apresentaram valores de índice subjetivo de xerostomia superiores

aqueles que não fumam, mas a diferença entre eles não é tão elevada como nos fumadores de tabaco e canabinóides (Fig.15). Esta diferença pode ser explicada pela inibição da libertação de acetilcolina, desencadeada pela ligação de canabinóides a recetores endógenos, que inibem a adenosina monofosfato. Uma inibição da libertação de acetilcolina que proporciona um decréscimo na libertação de cálcio intracelular nas glândulas salivares, de modo que as bombas de cálcio dependentes não cumpram os níveis de produção de saliva (Kondo 2015).

Embora nesta investigação não houvesse decréscimo estatisticamente significativo na quantidade de saliva produzida, mas existe uma relação estatisticamente significativa dos fumadores de canabinóides com o índice subjetivo de xerostomia, pois como referido no estudo, o indivíduo pode ter a sensação de boca seca sem ter uma diminuição da quantidade de saliva.

## 5. CONCLUSÃO

Diversos estudos sugerem que os canabinóides inibem ou reduzem a liberação de acetilcolina pelas células nervosas, ao reduzir a adenosina monofosfato cíclica, o que desencadeará uma diminuição da liberação de cálcio intracelular pelas glândulas salivares, e assim uma diminuição do funcionamento das bombas dependentes de cálcio. Esta série de eventos leva a uma diminuição da secreção salivar produzida pelas células glandulares. Uma diminuição da saliva produzida pelas glândulas salivares terá eventualmente consequências sobre o microbiano oral, pois a cavidade oral depende das funções normais da saliva para um normal crescimento bacteriano. Segundo a literatura uma redução da produção da saliva, levará a um aumento da quantidade de bactérias na cavidade oral, pois existe uma redução da capacidade de clearance e de tampão da saliva, o que favorece ao crescimento bacteriano.

O presente estudo sugere que os indivíduos que fumam apresentam maior número de colônias de bactérias no total dos meios bacteriológicos relativamente aqueles que não fumam, sendo a diferença estatisticamente significativa. Estes resultados sugerem que o consumo de tabaco e de canabinóides altera a composição do microbioma oral, tornando num ambiente mais propício para o crescimento de microrganismos anaeróbios.

Neste estudo não se conseguiu comprovar a influência da canábis no fluxo salivar comparativamente a amostras de fumadores de tabaco e de não fumadores, apesar de haver diferenças entre os grupos, não eram estatisticamente significativas.

O questionário onze de diagnóstico de xerostomia, revelou que os fumadores de canabinóides tinham uma maior sensação de boca seca, esta amostragem tinha valores mais altos das suas respostas em relação às outras amostras de não fumadores e fumadores de tabaco, esta diferença foi estatisticamente significativa. Os indivíduos que responderam ao questionário onze com os valores mais altos de score de xerostomia, apresentaram sintomas de xerostomia, apesar de não possuírem déficit na produção do fluxo salivar significativa (Hiposalivação). Esta é uma das grandes dificuldades do diagnóstico da xerostomia num paciente, pois este pode ter níveis normais de produção salivar, mas ter a sensação de boca seca. A sensação de boca seca (xerostomia) é uma das consequência do consumo de canabinóides devido á sua ação antagonista, que acarreta graves consequências para a saúde oral e no geral.

Este estudo permitiu compreender a influência desta substância na produção de saliva e no crescimento bacteriano. O consumo de canabinóides é um problema sociocultural da

nossa sociedade, é responsável por desencadear reações no comportamento dos indivíduos que consomem esta substância ilícita. Os indivíduos que fizeram parte do estudo consomem canabinóides há mais de dez anos, segundo os mesmos, todos os dias fumam, isto acarreta graves consequências para a saúde. Estes indivíduos devem conter uma história clínica bem estruturada e completa, Deve-se monitorizar a produção da quantidade de saliva estimulada e não estimulada nestes indivíduos, bem como frequentarem consultas médicas de controlo com maior frequência e ter uma higiene oral mais rigorosa. O médico dentista deve estar ciente dos hábitos de consumo dos seus pacientes, pois estes têm influência no tratamento e diagnóstico clínico.

## 6. Revisão Bibliográfica

- Adriane Bezerra de Moura, Sérgio. 2007. “Valor Diagnóstico Da Saliva Em Doenças Orais E Sistêmicas: Uma Revisão de Literatura.” *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 7(2): 187–194.
- Al-drees, Abdul Majeed. 2010. “Oral e Perioral Physiological Changes with Agein.” *Pakistan Oral & Dental Journal* 30(1): 26–30.
- Almeida, Juliana Pereira, e Luiz Paulo Kowalski. 2010. “Pilocarpine Used to Treat Xerostomia in Patients Submitted to Radioactive Iodine Therapy: A Pilot Study.” *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* 76(5): 659–662.
- de Almeida, Patricia Del Vigna et al. 2008. “Saliva Composition e Functions: A Comprehensive Review.” *The journal of contemporary dental practice* 9(3): 72–80.
- Ambudkar, I.S. 2000. “Regulation of Calcium in Salivary Gland Secretion.” *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 11(1): 4–25.
- Ar, Prabhakar, Akanksha Gulati, Deepak Mehta, e S Sugandhan. 2009. “Diagnostic Applications of Saliva in Dentistry.” *International journal of clinical pediatric dentistry* 2(3): 7–13.
- Arhakis, Aristidis, Vasilis Karagiannis, e Sotirios Kalfas. 2013. “Salivary Alpha-Amylase Activity e Salivary Flow Rate in Young Adults.” *The open dentistry journal* 7: 7–15.
- Ashton, C Heather, e C Heather Ashton. 2012. “Pharmacology e Effects of Cannabis : A Brief Review Pharmacology e Effects of Cannabis : A Brief Review.” : 101–106.

- Barcellos, Karin Spat Albino, e Luís Eduardo Coelho Andrade. 2005. “Histopatologia E Imunopatologia de Glândulas Salivares Menores de Pacientes Com Síndrome de Sjögren (SSj).” *Revista Brasileira de Reumatologia* 45(4): 215–223.
- Bergamaschi, Mateus Machado, Regina Helena Costa Queiroz, José Alexandre S. Crippa, e Antonio Waldo Zuardi. 2011. “Safety e Side Effects of Cannabidiol, a Cannabis Sativa Constituent.” *Current Drug Safety* 6(4): 14.
- Bonfá, Laura, Ronaldo Contreiras De Oliveira Vinagre, e Núbia Verçosa De Figueiredo. 2008. “Uso de Canabinóides Na Dor Crônica E Em Cuidados Paliativos.” *Revista Brasileira de Anestesiologia* 58(3): 267–279.
- Bretas, Liza Porcaro, Marcelo Esteves Rocha, Mariana Sant’Ana Viera, e Ana Claudia Peres Rodrigues. 2008. “Fluxo Salivar E Capacidade Tamponante Da Saliva Como Indicadores de Susceptibilidade À Doença Cárie.” *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 8(3): 289–293.
- Carpenter, Guy H. 2013. “The Secretion, Components, e Properties of Saliva.” *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 4(February): 267–276.
- Chakravarti, Bandana, Janani Ravi, e Ramesh K Ganju. 2014. “Cannabinoids as Therapeutic Agents in Cancer: Current Status e Future Implications.” *Oncotarget* 5(15): 5852–5872.
- Chimenos-Kustner, Eduardo, e Maria Sueli Marques-Soares. 2002. “Burning Mouth e Saliva.” *Med Oral* 7(1): 244–253.
- Cho, C M, R Hirsch, e S Johnstone. 2005. “General e Oral Health Implications of Cannabis Use.” *Australian dental journal* 50(2): 70–74.
- Coimbra, Filipe. 2016. “Etiologia E Tratamento.” 50: 1–3.

- Colodel, Estela Vanessa et al. 2008. “Alterações Bucais Presentes Em Dependentes Químicos Oral Alterations among Chemical Dependents.” *October*: 44–48.
- Cordeiro Pedrazzi, João Francisco, Ana Carolina De Castro Issy Pereira, Felipe Villela Gomes, e Elaine Del Bel. 2014. “Perfil Antipsicótico Do Canabidiol.” *Medicina (Brazil)* 47(2): 112–119.
- Council, A D A, e Scientific Affairs February. 2015. “Managing Xerostomia e Salivary Gland Hypofunction.” (February): 1–21.
- Couto, JAM Juliana Almeida de Macedo, e Fernanda Ferreira FF Lopes. 2010. “A Influência Da Faixa Etária Na Velocidade Do Fluxo Salivar Em Adultos.” *Rfo Upf* 15(2): 135–138.
- DeLucia, Roberto et al. 2008. “Farmacologia Uso Racional de Medicamentos.” I: 389–393.
- Dewhirst, Floyd E. et al. 2010. “The Human Oral Microbiome.” *Journal of Bacteriology* 192(19): 5002–5017.
- Edgar, Michael, Colin Dawes, e Denis O’Mullane. 2014. Dental Tribune Middle East & Africa Edition *Saliva e Oral Health*,15-16.
- Edward J.Cone e Marilyn A.Huestis. 2010. “NIH Public Access.” 48(Suppl 2): 1–6.
- Falcão, Denise Pinheiro, Licia Maria Henrique da Mota, Aline Lauria Pires, e Ana Cristina Barreto Bezerra. 2013. “Sialometria: Aspectos de Interesse Clínico.” *Revista Brasileira de Reumatologia* 53(6): 525–531.
- Fallis, A.G. 2013. “Smoking May Make Changes in Levels of Protein in Saliva.” *Journal of Chemical Information e Modeling* 53(9): 1689–1699.

- Farnaud, Sebastien J. C., Ourania Kosti, Stephen J. Getting, e Derek Renshaw. 2010. “Saliva: Physiology e Diagnostic Potential in Health e Disease.” *The Scientific World Journal* 10: 434–456.
- Fávaro, Rodrigo Aluízo Athayde, Thiago Nunes Ribeiro Ferreira, e Wilson Denis Martins. 2006. “Xerostomia : Etiologia , Diagnóstico E Tratamento . Revisão Current Concepts on Aetiology , Diagnosis e Treatment of.” *Clínica e Pesquisa em Odontologia* 2(4): 303–317.
- Gigena, Pablo, Marcela Bella, e Lila Cornejo. 2012. “Salud Bucal Y Hábitos de Consumo de Sustancias Psicoactivas En Adolescentes Y Jóvenes Drogodependientes En Recuperación.” *Odontoestomatología* 14(20): 49–59.
- Giusti, André Luis. 2007. “Interferência Do Tabaco No Sistema Imunitário – Estado Atual E Perspectivas – Revisão Da Literatura.” : 155–163.
- Gonzalez, M.P., P Sáiz, M.G. Quirós, e J.L. López. 2000. “Personalidad Y Uso-Abuso de Cánnnbis.” *Adicciones* 12: 185–196.
- Greabu, Maria et al. 2009. “Saliva--a Diagnostic Window to the Body, Both in Health e in Disease.” *Journal of medicine e life* 2(2): 124–132.
- Gupta, Anurag, Joel B. Epstein, e Herve Sroussi. 2006. “Hyposalivation in Elderly Patients.” *Journal of the Canadian Dental Association* 72(9): 841–846.
- Hall, Wayne, e Louisa Degenhardt. 2009. “Adverse Health Effects of Non-Medical Cannabis Use.” *Lancet* 374(9698): 1383–1391.
- Honório, Káthia Maria, Agnaldo Arroio, e Albérico Borges Ferreira Da Silva. 2006. “Aspectos Terapêuticos de Compostos Da Planta Cannabis Sativa.” *Quimica Nova* 29(2): 318–325.

- Humphrey, Sue P., e Russell T. Williamson. 2001. “A Review of Saliva: Normal Composition, Flow, e Function.” *Journal of Prosthetic Dentistry* 85(2): 162–169.
- Iversen, Leslie. 2003. “Cannabis e the Brain.” *Brain* 126(6): 1252–1270.
- Jingyuan Fan, Massimo Costalonga, Karen F.Ross e Mark C.Herzberg. 2010. “Systematic Disease e the Oral Microbiota.” In *Oral Microbiology e Immunology*, ed. ASM Press. Washington, 373–381.
- Johnson, N W, e C A Bain. 2000. “Tobacco Intervention: Tobacco e Oral Disease.” *British Dental Journal* 189(4): 200–206.
- José Gutiérrez Fernández, Fredy Omar Gamboa Jaimes, María Teresa Zaragoza Meneses. 2002. “Género Staphylococcus Y Bacterias Relacionadas.” In *Microbiologia Oral*, ed. S.A.U Mcgraw-Hill-Interamericana de España. Espanha: Mcgraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U, 317–324.
- José Liébana Ureña, José Manuel Navajas Rodríguez de Mondelo, Sergio Insinilla Cubillos, Marta Álvarez Estèvez. 2002. “Determinantes Ecológicos Orales.” In *Microbiologia Oral*, ed. S.A.U Mcgraw-Hill-Interamericana de España. Madrid, 521-528.
- Joy, Janet E, Stanley J Watson, e A John. 1999. *Marijuana e Medicine*, 109-112.
- Kondo, Wiphawi Hipkaeo ; Masahiko Watanabe & Hisatake. 2015. “Localization of Cannabinoid Receptor 1 (CB1) in Submandibular e Sublingual Salivary Glands of Mice throughout Postnatal Development.” 33(2): 695–700.
- Kopach, Olga et al. 2012. “Cannabinoid Receptors in Submandibular Acinar Cells: Functional Coupling between Saliva Fluid e Electrolytes Secretion e Ca<sup>2+</sup> Signalling.” *Journal of cell science* 125(Pt 8): 1884–1895.

- Lamont RJ , Burne RA, Lantz MS, Leblanc DJ. 2006. ASM Press Washington *Oral Microbiology e Immunology*,415-419.
- Lee, Dayong et al. 2013. “Can Oral Fluid Cannabinoid Testing Monitor Medication Compliance E/or Cannabis Smoking during Oral THC e Oromucosal Sativex Administration?” *Drug e Alcohol Dependence* 130(1–3): 68–76.
- Lenander-Lumikari, M, e V Loimaranta. 2000. “Saliva e Dental Caries.” *Advances in dental research* 14: 40–47.
- Lucena, Antônio Anildo Gomes De et al. 2010. “Fluxo Salivar Em Pacientes Idosos.” *Revista Gaúcha* 58: 301–305.
- Luis, José et al. 2011. “Neurobiology of Cannabis: From the Endocannabinoid System to Cannabis-Related Disorder.” *Jornal Brasileiro de Psiquiatria* 60(11): 111–122.
- Marder, Michael Z. 2011. “Oral Medicine e the Teenage Patient.” *Dentistry today* 30(7);1-3.
- Maria Miragaia, Hemínia de lencastre. 2014. “Staphylococcus Aureus E Espécies Relacionadas.” In *Microbiologia Médica*, ed. Lidel. Lisboa: Lidel, 228–229.
- da Mata, Adsp et al. 2012. “Translation, Validation, e Construct Reliability of a Portuguese Version of the Xerostomia Inventory.” *Oral Diseases* 18(3): 293–98.
- Matsuo, R. 2000. “Role of Saliva in the Maintenance of Taste Sensitivity.” *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 11(2): 216–229.
- Melamede, Robert. 2005. “Cannabis e Tobacco Smoke Are Not Equally Carcinogenic.” *Harm Reduction Journal* 2(1): 21.

- Moir, David et al. 2008. “A Comparison of Mainstream e Sidestream Marijuana e Tobacco Cigarette Smoke Produced under Two Machine Smoking Conditions.” *Chemical Research in Toxicology* 21(2): 494–502.
- Morgan-Bathke, M., K. Martin, e K.H. Limesand. 2014. “Salivary Glands e Saliva.” In *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier.
- Murthykumar, Karthikeyan. 2008. “Saliva Composition e Function: A Comprehensive Review.” *The Journal of Contemporary Dental Practice* 9(4): 72–80.
- Netzahualcoyotzi-Piedra, Citlalli et al. 2009. “La Marihuana Y El Sistema Endocanabinoide: De Sus Efectos Recreativos a La Terapéutica. (Spanish).” *Marijuana e the endocannabinoid system. (English)* 20(2): 128–153.
- Osorio González AY, Bascones Martínez A, Villarroel-Dorrego M. 2009. “Alteración Del pH Salival En Pacientes Fumadores Con Enfermedad Periodontal Salivary pH Alterations in Smoker Patients with Periodontal Disease.” *Medicina*: 71–75.
- Pertwee, R G et al. 2010. “International Union of Basic e Clinical Pharmacology . LXXIX . Cannabinoid Receptors e Their Ligands : Beyond CB 1 e CB 2.” *Pharmacological reviews* 62(4): 588–631.
- Philip D Marsh, Michael V Martin. 2009. “Introduction.” In *Oral Microbiology*, ed. Michael V Martin Philip D Marsh. Elsevier Limited, 222.
- Prestifilippo, Juan Pablo et al. 2006. “Inhibition of Salivary Secretion by Activation of Cannabinoid Receptors.” *Experimental biology e medicine (Maywood, N.J.)* 231(8): 1421–1429.

- Pupo, Daniella B, Ivo Bussoloti F, Bianca M Liquidato, e Gustavo P Korn. 2002. "Proposta de Um A Proposal for a Método Prático de Practical Method of Sialometria Sialometry." 68(2): 219–222.
- R Core Team. 2016. "A Language e Environment for Statistical Computing."
- Rad, Maryam, Shahla Kakoie, Fateme Niliye Brojeni, e Nasim Pourdanghan. 2010. "Effect of Long-Term Smoking on Whole-Mouth Salivary Flow Rate e Oral Health." *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects* 4(4): 110–114.
- Ribeiro, Isabella L A, e Heloísa H P Veloso. 2012. "Influência Do Tabagismo Nas Alterações Pulpare Influence of the Smoking in the Alterations Pulp." 21(58): 570–575.
- Saito, Viviane M., Carsten T. Wotjak, e Fabrício A. Moreira. 2010. "Exploração Farmacológica Do Sistema Endocanablnolde: Novas Perspectivas Para O Tratamento de Transtornos de Ansiedade E Depressão?" *Revista Brasileira de Psiquiatria* 32(SUPPL. 1): 7–14.
- Saldanha, Carlota. 1989. "Calmodulina E ATPase Do Cálcio." *Actas Bioq* 1: 15–25.
- Samaranayake, Lakshman. 2007. "Saliva as a Diagnostic Fluid." 10(3): 295–299.
- Sanches, Ilda Santos. 2014. "Streptococcus." In *Microbiologia Médica*, ed. Lidel. Lisboa: Lidel, 255–269.
- Silva, Rafael Pires Da et al. 2009. "Salivary Immunoglobulin A (S-IgA) e Exercise: Relevance of Its Control in Athletes e Methodological Implications." *Rev Bras Med Esporte* 15(6): 459–466.

- Tibiriça, Eduardo. 2010. “The Multiple Functions of the Endocannabinoid System: A Focus on the Regulation of Food Intake.” *Diabetology & metabolic syndrome* 2: 5.
- Trandafir, Violeta et al. 2011. “Tobacco-Induced Oral Mucosal Modifications.” 1(1): 84–91.
- Turner, R James, e Hiroshi Sugiya. 2002. “Understanding Salivary Fluid e Protein Secretion.” *Oral diseases* 8(1): 3–11.
- Vinhas, Ana Sofia, e José Júlio Pacheco. 2015. “Tabaco e Doenças Periodontais.” 49(2): 39–45.
- Vivavoz. 2008. “Folha de Cannabis Sp .” *Folha de Cannabis sp*: 1–18.
- Viviane de Sousa Bernardes, Mirele de Oliveira Ferres, Wilson Lopes Júnior. 2013. “O Tabagismo e as Doenças Periodontais.” 23(1): 37–45.

## **7. Anexos A e B**



Questionário individual aplicado no âmbito da investigação do trabalho de final de curso intitulado: **“Influência do  $\Delta^9$  - Tetrahydrocannabinol no fluxo salivar e na análise microbiológica da cavidade oral”**.

Questionário XI – para identificar a xerostomia

Sinto a boca Seca

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Sinto os lábios secos

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Levanto-me de noite para beber água

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Sinto a boca seca depois das refeições

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Bebo um pouco de líquido para me ajudar a engolir os alimentos

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Chupo rebuçados ou pastilhas para a tosse para aliviar a secura da boca

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Sinto a pele da cara seca

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Sinto os olhos secos

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Tenho dificuldade em engolir certos alimentos

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Sinto o interior do nariz seco

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente

Tenho dificuldade em engolir alimentos secos

- Nunca
- Raramente
- Ocasionalmente
- Bastante Frequência
- Muito Frequente



Questionário individual aplicado no âmbito da investigação do trabalho de final de curso intitulado: **“Influência do  $\Delta^9$  Tetrahydrocannabinol no fluxo salivar e na análise microbiológica da cavidade oral”**.

**Data:** \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_

Etnia \_\_\_\_\_

Quantas vezes frequentou uma clinica dentária este ano?

- 1 vez
- 2 vezes
- Mais que 3
- nenhuma

Quantas vezes escova os dentes por dia?

- 1 vez
- 2 vezes
- Mais de 2
- Nunca

Usa algum destes utensílios para a limpar os dentes?

- Escova de dentes manual
- Escova de dentes eléctrica
- Fio dentário
- Escovilhão
- Palito
- Raspador de língua
- Outro

Costuma usar colutório?

- Sim
- Não

Se sim, de que marca ou tipo? \_\_\_\_\_

Atualmente consome bebidas alcoólicas:

- Sim
- Não

Se a resposta a última questão foi Sim, com que frequência ingere bebidas alcoólicas:

- uma vez por mês
- Mais do que uma vez por mês
- Uma vez por semana
- Mais que uma vez por semana
- Uma vez por dia
- Mais do que uma vez por dia

Quando bebe, quanto bebe?

- Um copo
- Dois copos
- Três a seis copos
- Mais que seis

Quanto aos seus hábitos tabágicos:

- Fumador Diário
- Fumador Ocasional
- Ex-fumador
- Não fumador

Se é fumador diário, quantos cigarros fuma por dia:

- 1-5
- 6-10
- 11-20
- Mais de 20

Se é fumador diário, há quanto tempo tem este hábito?

- A menos de 1 ano
- Entre 1 ano e 5 anos
- Entre 5 e 10 anos
- Mais que 10 anos

Se fuma estupefacientes, há quanto tempo tem esse hábito?

- A menos de 1 ano
- Entre 1 ano e 5 anos
- Entre 5 a 10 anos
- Mais que 10 anos

Se fuma estupefacientes, qual o tipo mais frequente?

- Haxixe
- Erva sativa
- Erva indica
- Belota de haxixe
- Oléo de haxixe

Se fuma estupefacientes, com que frequência?

- Diário
- Semanal
- Mensal
- Anual

Se é fumador diário de estupefacientes, quantos fuma por dia?

- Um por dia
- Dois por dia
- Três por dia
- Mais que três por dia

Qual a altura do dia que fuma estupefacientes?

- Manhã
- Tarde
- Noite

Misturas estupefacientes com tabaco?

- Sim
- Não

Escolaridade?

- Nenhuma
- Ensino básico 1º ciclo
- Ensino básico 2º ciclo
- Ensino básico 3º ciclo
- Ensino secundário
- Ensino pós-secundário
- Bacharelato

- Licenciatura
- Mestrado
- Doutoramento

Rendimento bruto mensal?

- 500e – 1000e
- 1000e – 1500e
- 1500e – 2000e
- Mais que 2000e



## Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17\_02

Monte de Caparica, dia 13 de Janeiro 2016

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, na Unidade Curricular de Projeto final no Instituto Superior de Saúde Egas Moniz (ISCSEM), sob a orientação do Prof. Doutor Alexandre Quintas e Prof. Doutora Helena Barroso, solicita-se a autorização para a participação no estudo ” Influência do consumo de  $\Delta^9$  - Tetrahydrocannabinol no fluxo salivar e na análise microbiológica da cavidade oral” em consumidores crónicos de canabinóides, com o objetivo de perceber a influência do tetrahydrocannabinol na cavidade oral.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer benefícios tais como perceber a relação entre fumadores de cannabinoides e o fluxo salivar bem como a relação com a microbiologia oral que poderá trazer progresso ao conhecimento desta área, para isso deverá realizar-se a colheita de saliva.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelo(s) orientador(es) e/ou pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

---

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

**Comissão de Ética**



Adenda/Ata nº1/2016  
Proc. 462

Ex.mo Senhor  
**Rodolfo Jorge Tibério de Vilares Santos**

Monte de Caparica, 1 de fevereiro de 2016.

Ex.mo Senhor,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado "Influência Tetrahydrocannabinol no fluxo salivar e análise microbiológica da cavidade oral", foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

Profª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita