



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

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**O EFEITO DA INFUSÃO DE GENGIBRE NO FLUXO SALIVAR  
EM INDIVÍDUOS FUMADORES**

Trabalho submetido por  
**Margarida Andrade Mira Antunes da Silva**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**outubro de 2017**





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

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

### **O EFEITO DA INFUSÃO DE GENGIBRE NO FLUXO SALIVAR EM INDIVÍDUOS FUMADORES**

Trabalho submetido por  
**Margarida Andrade Mira Antunes da Silva**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita**

e coorientado por  
**Professora Doutora Margarida de Moncada e Professor Doutor Carlos Zagalo**

**outubro de 2017**



## **DEDICATÓRIA**

Ao meus pais,  
Obrigada.



## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita, pela disponibilidade, por todos os ensinamentos e rigor, pela compreensão e paciência.

À Professora Doutora Margarida Moncada, pelo contributo em toda a análise laboratorial, por se mostrar sempre disponível quando precisei.

Aos meus pais, por serem um exemplo para mim, por todo o apoio e paciência, por acreditarem em mim. Obrigada por tudo o que me ensinaram e permitiram ser quem sou hoje.

À minha irmã, que embora um pouco mais distante sempre me apoiou, deu força e ajudou na conclusão deste trabalho.

Ao Daniel por todo o carinho e compreensão, por me ter incentivado a acreditar mais em mim. Obrigada por termos feito este caminho juntos.

Ao Cliff, que vai ficar para sempre no meu coração, por todas as alegrias, carinho e companhia que me fez.

Às minhas amigas Catarina e Flávia por terem aparecido na minha vida, por toda a amizade, carinho e apoio. Obrigada por muitas vezes serem a minha família.



## RESUMO

**Introdução:** A saliva desempenha um papel importante na manutenção da saúde oral. Esta é o primeiro fluido biológico exposto ao tabaco que contém numerosas substâncias tóxicas responsáveis por mudanças estruturais e funcionais na saliva, podendo afetar a percepção do sabor e a secreção salivar. O rizoma *Zingiber officinale Roscoe*, conhecido como gengibre, é usado como uma especiaria há mais de 2000 anos. Estudos demonstram que o gengibre está envolvido na ativação de recetores M3 muscarínicos que levam ao aumento da função secretora.

**Objetivos:** Avaliar o efeito da ingestão de uma infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores com diminuição do fluxo salivar. Determinar o conteúdo de fenóis e flavonoides totais e quantificar a capacidade antioxidante do gengibre.

**Materiais e Métodos:** Dezasseis indivíduos fumadores com diminuição de fluxo salivar ingeriram 250 mL de uma infusão de gengibre com 0,5g, três vezes por dia, durante 28 dias. Foi realizado um questionário sociodemográfico a cada indivíduo e a técnica de medição de fluxo salivar (sialometria) antes e após a toma da infusão. Foi realizada uma análise química ao gengibre.

**Resultados:** A taxa de fluxo salivar estimulado (FSE) e não estimulado (FSNE) teve um aumento estatisticamente significativo em resposta à toma da infusão de gengibre. Os resultados revelaram uma forte correlação negativa entre a idade e o fluxo salivar não estimulado e entre o FSNE e FSE e a duração do tabagismo. A análise química demonstrou que o rizoma de gengibre tem uma quantidade de compostos fenólicos que mostraram ter uma capacidade antioxidante elevada.

**Conclusão:** Existe uma melhoria significativa no fluxo salivar dos indivíduos fumadores após a toma de 0,5g de uma infusão de gengibre. Os extratos de gengibre analisados demonstram uma elevada capacidade antioxidante. A idade dos indivíduos fumadores e a duração do tabagismo estão correlacionados com a redução do fluxo salivar.

**Palavras – Chave:** Gengibre; Fluxo salivar; Fumador; *Stress* Oxidativo.



## ABSTRAT

**Introduction:** Saliva plays an important role in maintaining oral health. Saliva is the first biological fluid exposed to tobacco that contains many toxic substances, responsible for structural and functional changes in saliva, which can affect taste perception and salivary secretion. The rhizome *Zingiber officinale Roscoe* known as ginger, has been used as a spice for over 2000 years. Studies have shown that ginger is involved in the activation of muscarinic M3 receptors that lead to increased secretory function.

**Objectives:** Evaluate the effect of ingestion of a ginger infusion on salivary flow in smokers with reduced salivary flow rate. Determine the total polyphenolic content and quantify the antioxidant capacity of ginger.

**Materials and Methods:** Sixteen smokers with reduced salivary flow rate ingested a 250 mL infusion of ginger with 0.5g three times a day for 28 days. A survey was used to collect demographic information. The saliva collection was performed by sialometry (salivary flow measuring technique) before and after the ingestion of the infusion. A ginger chemical analysis was performed.

**Results:** There is a statistical significant increase in non-stimulated (Qns) and stimulated (Qss) salivary flow rate in response to ginger infusion after 28 days. The results revealed a strong negative correlation between Qns and age and also between the amount of saliva (Qns and Qss) and smoking duration. Chemical analysis revealed a large quantity of polyphenolic compounds which have demonstrated a high antioxidant capacity.

**Conclusion:** There is a significant increase in salivary flow rate of smokers after the ingestion of 0,5g of ginger infusion. Ginger extracts exhibited a high antioxidant capacity. The age of the subjects and the duration of smoking are correlated with the reduction of salivary flow rate.

**Key words:** Ginger; Salivary flow; Smoking; Oxidative Stress



## ÍNDICE GERAL

1	INTRODUÇÃO .....	11
1.1	Saliva e a saúde oral.....	11
1.2	Secreção e fluxo salivar .....	12
1.3	O tabaco e as alterações salivares .....	14
1.4	O gengibre.....	16
1.5	Objetivos.....	18
1.5.1	Objetivos Específicos .....	18
2	MATERIAIS E MÉTODOS .....	19
2.1.1	Objetivo Geral .....	18
2.2	Análise Química .....	19
2.2.1	Reagentes e Soluções.....	19
2.2.2	Equipamento.....	19
2.2.3	Preparação do Extrato.....	19
2.2.4	Quantificação de Fenóis Totais .....	20
2.2.5	Quantificação de Flavonoides totais.....	20
2.2.6	Quantificação da capacidade antioxidante .....	21
2.3	Ensaio Clínico.....	24
2.3.1	Questões Éticas.....	24
2.3.2	População/amostra e variáveis de estudo .....	24
2.3.3	Critérios de inclusão e exclusão .....	24
2.3.4	Desenho de Estudo .....	25
2.3.5	Instrumentos de recolha de dados.....	27
2.3.6	Plano de análise estatística .....	29
3	RESULTADOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	31
3.1	Análise Química .....	31
3.1.1	Quantificação de fenóis e flavonoides totais .....	31
3.1.2	Capacidade antioxidante.....	32
3.2	Ensaio Clínico.....	36
3.2.1	Caracterização da amostra .....	36
3.2.2	Estudo Clínico .....	37
4	DISCUSSÃO.....	43

5	CONCLUSÃO .....	47
6	BIBLIOGRAFIA.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do procedimento experimental seguido .....	26
Figura 2. Traçado das curvas de percentagem de inibição do radical ABTS para os extratos de gengibre e para o Trolox. ....	34
Figura 3. Traçado das curvas de percentagem de inibição do anião $O_2^-$ para os extratos de etanol e metanol. ....	34
Figura 4. Distribuição da amostra por género .....	36
Figura 5. Correlação entre o volume (mL/min) de fluxo salivar não estimulado (FSNE) e a idade (anos), antes (inicial) da toma da infusão de gengibre. ....	38
Figura 6. Correlação entre o volume do FSNE (A) e FSE (B) e o tempo de duração do tabagismo (anos), antes (inicial) da toma da infusão de gengibre. ....	39
Figura 7. Distribuição dos indivíduos por categorias, no FSNE, antes e após a toma da infusão de gengibre (28 dias). ....	41
Figura 8. Distribuição dos indivíduos por categorias, no FSE, antes e após a toma da infusão de gengibre (28 dias). ....	42

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Categorias de fluxo salivar não estimulado e estimulado sugeridas por Sreebny e Valdini em 1988 (Navazesh & Kumar, 2008).....	27
<b>Tabela 2.</b> Quantificação de fenóis e flavonoides totais do extrato de etanol, metanol e água.....	31
<b>Tabela 3.</b> Resultados dos testes FRAP, captação do radical ABTS e radical DPPH, para os extratos de etanol e metanol.....	32
<b>Tabela 4.</b> Resultado do teste de captação do radical ABTS e DPPH pelo padrão Trolox e pelos extratos de etanol e metanol.....	33
<b>Tabela 5.</b> Resultados dos testes da percentagem inibição do anião $O_2^-$ e do $NO\cdot$ .....	35
<b>Tabela 6</b> - Distribuição de idades dos indivíduos fumadores participantes no Ensaio Clínico .....	37
<b>Tabela 7</b> - Médias dos volumes (mL/min) dos fluxos salivares não estimulado (FSNE) e estimulado (FSE) antes (V inicial) da toma da infusão de gengibre .....	37
<b>Tabela 8</b> - Comparação das médias dos volumes (mL/min) dos fluxos salivares não estimulado (FSNE) e estimulado (FSE), antes (V inicial) e após (V final) a toma da infusão de gengibre.....	40
<b>Tabela 9.</b> Categorias de fluxo salivar não estimulado e estimulado sugeridas por Sreebny e Valdini em 1988 (Navazesh & Kumar, 2008).....	40

## LISTA DE SIGLAS

<b>ABTS</b>	2,20-azino-bis (3-etilbenziazolina-6-ácido sulfónico)
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1 picrilhidrazil
<b>E</b>	equivalentes
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidante Power
<b>FSE</b>	Fluxo Salivar Estimulado
<b>FSNE</b>	Fluxo Salivar Não Estimulado
<b>GE</b>	Grupo de Estudo



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Saliva e a saúde oral

A saliva é um fluido corporal segregado por várias glândulas salivares, contém essencialmente água, proteínas, glicoproteínas, eletrólitos, pequenas moléculas orgânicas e compostos transportados a partir do sangue (Humphrey & Williamson, 2001).

A saliva desempenha um papel importante na manutenção da saúde oral (Feio & Sapeta, 2005). As suas funções biológicas fundamentais são a digestão e a proteção. As funções digestivas incluem: percepção do paladar, mastigação, formação do bolo alimentar e deglutição. As funções de proteção abrangem: lubrificação das estruturas orais, orofaringe e esófago; capacidade tampão, pelo bicarbonato, fosfatos e proteínas que mantém o pH salivar a 7.0, evitando a colonização de micro-organismos; manutenção da integridade dos tecidos dentários, protegendo o esmalte contra a desmineralização causada pelos ácidos produzidos por micro-organismos; remineralização de lesões primárias de cárie; defesa do ataque bacteriano e crescimento fúngico; cicatrização. A saliva tem também um grande poder antioxidante que é constituído por diferentes moléculas e enzimas, estas têm como função evitar a formação de radicais livres, eliminar os existentes e reparar os danos causados. A saliva é também necessária para a fala articulada e para interações sociais (Ekstrom, Khosravani, Castagnola, & Messana, 2012; Khemiss, Ben Khelifa, & Ben Saad, 2017; Rad, Kakoie, Brojeni, & Pourdamghan, 2010; Tommasi & Lima, 2014).

A saliva é produzida por três pares de glândulas maiores (*major*), localizadas fora da cavidade oral e centenas de glândulas menores (*minor*) localizadas imediatamente abaixo do epitélio oral. Em relação às funções são serosas, mucosas e mistas. As glândulas maiores são: as parótidas que são constituídas predominantemente por células serosas e têm uma secreção aquosa e rica em enzimas e anticorpos; as sublinguais que produzem saliva mucosa, mais viscosa; e as submandibulares que produzem uma saliva mista, de consistência intermédia, por possuírem na mesma proporção os dois tipos de células. (Humphrey & Williamson, 2001; Sala & Garcia, 2013; Tommasi & Lima, 2014)

O volume da glândula parótida é cerca de 2,5 vezes maior que o da glândula submandibular e oito vezes o da glândula sublingual. As três glândulas salivares *major* contribuem para 93% da saliva mista que é conhecida como saliva total. No entanto, a saliva encontrada na boca não pode ser considerada saliva pura, por ser constituída por fluido crevicular, células sanguíneas, micro-organismos, antimicrobianos, restos

alimentares e secreção nasofaríngea (Ekstrom et al., 2012; Khemiss et al., 2017; Rad et al., 2010).

## **1.2 Secreção e fluxo salivar**

A secreção salivar é controlada exclusivamente pelo sistema nervoso autónomo. Esta é ativada pelo sistema nervoso simpático e pelo sistema nervoso parassimpático (Tommasi & Lima, 2014).

Os impulsos induzidos pela degustação, mastigação ou cheiro são encaminhados pelos recetores aferentes para os núcleos salivares. Os feixes dos nervos simpáticos e parasimpáticos, que inervam separadamente as glândulas salivares, formam a parte eferente do arco reflexo secretor, usando a acetilcolina como neurotransmissor (Tschoppe, Wolgin, Pischon, & Kielbassa, 2010). Os secretagogos (substância que estimula a secreção) estimulam os recetores muscarínicos das células acinares e ductais das glândulas salivares e a ativação destes recetores produz uma ação fisiológica de secreção salivar (Tommasi & Lima, 2014).

O Homem secreta aproximadamente 0,5 litros de saliva por dia, a sua quantidade e qualidade dependem de fatores físicos, químicos e psíquicos (Falcão, da Mota, Pires, & Bezerra, 2013)

Cada glândula salivar contribui de modo diferente para o volume total segregado: glândulas parótidas contribuem cerca de 30%, 60% as glândulas submandibulares, 5% as glândulas sublinguais e 5% as glândulas menores que mantêm a superfície das estruturas orais, durante o dia e a noite, com uma camada protetora de saliva rica em mucina, evitando a ocorrência de boca seca, por segregarem saliva espontaneamente aquando dos movimentos dos lábios e da língua (Ekstrom et al., 2012).

A taxa de fluxo salivar por minuto é aproximadamente de 0,3 mL quando não estimulada e pode aumentar para 1,0-2,0 mL por minuto quando estimulada. Numa revisão sistemática concluiu-se que a taxa de fluxo de saliva total estimulada inferior a 1,0 mL/min poderia ser considerada um fator preditor de cárie e um possível fator de risco para a doença periodontal (Falcão et al., 2013; Khan, Javed, & Ishaq, 2010; Tommasi & Lima, 2014).

A redução do fluxo salivar (hipossalivação) é um distúrbio comum e estima-se que cerca de 20% da população geral tenha esta alteração (Falcão et al., 2013).

A hipossalivação pode ser causada por diferentes fatores etiológicos. Fatores como a dieta, tabaco, álcool, estado emocional, temperatura ambiente e humidade do ar podem alterar a produção quantitativa e qualitativa da saliva. A medicação, radioterapia de neoplasias malignas da cabeça e pescoço e uma variedade de doenças sistémicas como as doenças autoimunes (síndrome de Sjögren, lúpus eritematoso, artrite reumatoide), bem como as doenças hormonais (diabetes mellitus), neurológicas (doença de Parkinson) e depressão, podem causar uma destruição progressiva das glândulas salivares (Tschoppe et al., 2010).

A hipossalivação severa está associada a uma maior ocorrência de infeções fúngicas na cavidade oral e orofaringe, mucosite, dificuldade em ingerir alimentos secos, disfagia, lesão de cárie, instabilidade de próteses removíveis, halitose, disgeusia e, por sua vez, diminuição do prazer de comer. A redução do fluxo salivar pode assim causar danos de ordem física, funcional e social (Falcão et al., 2013).

A medição de fluxo salivar pode então ser utilizada como uma medida não invasiva para avaliar se existem alterações patológicas na mucosa oral (Gopal, Amala, & Harshavardhan, 2016).

Nos últimos anos foram propostas várias estratégias que visam aumentar o fluxo salivar e reduzir os sintomas da diminuição do fluxo salivar, entre elas a hidratação adequada das mucosas, evitar alimentos crocantes ou duros e pastas dentífricas irritantes, utilização de pastilhas sem açúcar e medicação (inclui lubrificantes, substitutos de saliva e estimulantes salivares) (Villa, Connell, & Abati, 2015).

A pilocarpina e a cevimelina são dois sialogogos sistémicos aprovados pela *US Food and Drug Administration* (FDA). A pilocarpina é uma medicação parassimpaticomimética que atua nos recetores colinérgicos muscarínicos encontrados em todo o corpo, promovendo a secreção de fluídos. A cevimelina é um estimulante das glândulas salivares com alta afinidade para os recetores muscarínicos M3, localizados no epitélio das glândulas salivares. No entanto, estes sialogogos apresentam alguns efeitos colaterais como: transpiração excessiva, pois não só as glândulas salivares são estimuladas mas toda a produção de glândulas exócrinas do corpo é aumentada, vasodilatação, vômito, náusea, diarreia, soluços persistentes (Brimhall, Jhaveri, & Yepes, 2013; Villa et al., 2015).

Como referido anteriormente, fumar tabaco é um dos fatores de risco para a diminuição do fluxo salivar, pelo que se pretende perceber se a secreção salivar é afetada e como, ao longo do tempo.

### **1.3 O tabaco e as alterações salivares**

O tabaco é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) a principal causa de morte evitável no mundo. Os homens são mais propensos a fumar do que as mulheres, embora a diferença de gênero seja menos marcada em idades mais jovens. A partir do ano 2000, o tabagismo é praticado por cerca de 1,22 mil milhões de pessoas, com maior propensão nos países em desenvolvimento (Trandafir et al., 2011).

A saliva é o primeiro fluido biológico exposto ao tabaco. Este contém numerosas substâncias tóxicas, responsáveis por mudanças estruturais e funcionais na saliva. Na utilização do tabaco a longo prazo, os recetores das células glandulares são expostos repetidamente a essas substâncias, podendo afetar a percepção do sabor e a secreção salivar (Gopal et al., 2016; Khan et al., 2010).

Em 2010, Khan et al. realizaram um estudo com indivíduos que fumam há cinco/sete anos, com idades compreendidas entre os 25 e os 30 anos e concluíram que alguns indivíduos desenvolvem tolerância aos efeitos salivares do tabagismo a longo prazo, pelo que fumar não afeta negativamente a secreção salivar. Por outro lado, estudos como o de Rad et al. (2010) demonstram que o consumo prolongado de tabaco é um dos fatores de redução da secreção salivar e que esta alteração pode significar uma deterioração da mucosa oral.

Para além da diminuição da secreção salivar, fumar tem um papel importante na indução de doenças periodontais e lesões pré-cancerígenas e cancerígenas. O fumo do cigarro tem um grande número de componentes tóxicos, contém uma grande quantidade de espécies oxidativas e é uma fonte significativa de *stress* oxidativo por aumentar a produção de espécies reativas de oxigénio. Se o equilíbrio for deslocado a favor da atividade destas espécies, podem ocorrer alterações nos componentes intra e extracelulares da cavidade oral, podendo levar a distúrbios da função salivar (Arbabi-Kalati, Salimi, Nabavi, Rigi, & Miri-Moghaddam, 2017; Jenifer, Bholá, Kalburgi, Warad, & Kokatnur, 2015).

A saliva tem um grande poder antioxidante e este sistema é constituído por diferentes moléculas e enzimas, como ácido úrico, superóxido dismutase (SOD), catalase e sistema peroxidase, que trabalham em coordenação para defender as células contra o *stress* oxidativo (Baliga et al., 2012). O tabaco pode alterar a capacidade antioxidante da saliva mas os motivos dessas alterações ainda não são claros (Arbabi-Kalati et al., 2017). Um antioxidante pode ser considerado como qualquer substância que, quando presente em

baixas concentrações (em comparação com a concentração do substrato oxidável), atrasa significativamente ou inibe a oxidação desse substrato (Jenifer et al., 2015).

A superóxido dismutase (SOD) é encontrada em todos os tecidos e alguns fluidos como a saliva, como componente do sistema antioxidante do corpo. Foi localizada no ligamento periodontal e pode representar uma defesa importante dos fibroblastos gengivais contra o superóxido ( $O_2^-$ ). A atividade desta enzima na saliva protege o organismo contra os efeitos deletérios do fumo do cigarro, a SOD converte o radical superóxido  $O_2^-$  em peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ). Posteriormente, a catalase vai atuar sobre o  $H_2O_2$  e convertê-lo num produto não tóxico,  $H_2O + O_2$  (Arbabi-Kalati et al., 2017; Baliga et al., 2012; Jenifer et al., 2015).

No estudo de Abdolsamadi, Goodarzi, Mortazavi, Robati, & Ahmadi-Motemayel, (2011), ao comparar o nível de antioxidantes salivares em indivíduos fumadores e não fumadores, concluiu-se que o nível da superóxido dismutase foi significativamente inferior em indivíduos fumadores.

A peroxidase encontrada na cavidade oral é composta por duas enzimas peroxidase, a peroxidase salivar, secretada principalmente pela glândula parótida, e a mieloperoxidase produzida pelos leucócitos em regiões inflamadas na cavidade oral. Esta enzima desempenha um duplo papel: reduz os níveis de peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e aumenta a atividade antimicrobiana inibindo o metabolismo e a proliferação de várias bactérias na cavidade oral. Se a atividade da peroxidase for significativamente reduzida, como ocorre após a exposição ao fumo do cigarro, o  $H_2O_2$  na cavidade oral não é eliminado e permanece disponível para participar em reações prejudiciais no ADN (ácido desoxirribonucleico) celular (Reznick, Klein, Eiserich, Cross, & Nagler, 2003).

Reznick et al. (2003), num estudo *in-vivo* e *in-vitro*, mostraram uma grande diminuição da atividade da peroxidase oral, em indivíduos fumadores e não fumadores após fumarem apenas um cigarro.

Dado que o tabaco apresenta substâncias tóxicas que podem promover alterações na composição, secreção e função da saliva, e a saliva apresenta características e funções de grande relevância a nível oral e sistémico, é oportuno estudar possíveis estimulantes salivares, com efeitos benéficos e reduzidos efeitos adversos, nomeadamente o rizoma *Zingiber officinale Roscoe* (gengibre).

#### 1.4 O gengibre

O rizoma *Zingiber officinale Roscoe*, pertencente à família *Zingiberaceae*, conhecido como gengibre, é usado como uma especiaria há mais de 2000 anos. Originário da região Indo-Malásia, é agora amplamente distribuído pelos trópicos da Ásia, África, América e Austrália (Yeh et al., 2014).

O gengibre tem mostrado a sua importância como um medicamento de diversas patologias, podendo atuar como anti-inflamatório, anticancerígeno, antimicrobiano, antiemético, hepatoprotetor, gastroprotetor, tratamento da dor, tratamento de condições reumatológicas, desconforto muscular (Terry, Posadzki, Watson, & Ernst, 2011; Baliga et al., 2012; Rahmani et al., 2014; Zadeh & Kor, 2014).

Com base em estudos fitoquímicos, o gengibre contém mais de 400 compostos diferentes e estes variam dependendo do local de origem e se os rizomas são frescos ou secos. O rizoma é também conhecido pela sua atividade antioxidante e esta característica deve-se à presença dos gingeróis, gingeronas e sogaóis, compostos presentes no gengibre que conferem o seu sabor e aroma característicos (Andreo & Jorge, 2010; Chamani, Zarei, Mehrabani, & Taghiabadi, 2011; Kubra & Rao, 2012; Prasad & Tyagi, 2015).

Os sogaóis são formados a partir de gingeróis quando o gengibre é seco. O gengibre seco apresenta concentrações de gingeróis reduzidas em relação ao gengibre fresco, já as concentrações de sogaóis são superiores (Kubra & Rao, 2012).

O gengibre em pó tem uma capacidade de dispersão superior ao gengibre fresco e uma grande solubilidade dos compostos, o que torna mais fácil a sua incorporação nos alimentos e a absorção do gengibre pelo organismo (Kubra & Rao, 2012).

Depois de elaborados vários estudos sobre as diferentes propriedades farmacológicas do *Zingiber officinale*, parecem existir poucas evidências, na literatura, sobre os seus efeitos na secreção salivar. Muitos dos sialogogos estimulam a secreção de saliva através dos seus efeitos colinérgicos nas células acinares funcionais (Chamani et al., 2011). A atividade procinética do gengibre foi confirmada em 2005 por Ghayur & Gilani e em 2007 por Ghayur, Khan, & Gilani, os autores do estudo acreditam que o efeito do gengibre na saliva pode ser conferido a algum tipo de ação colinérgica. Estes dados parecem sugerir que o gengibre tem influência no aumento da secreção salivar.

O gengibre é considerado uma planta inofensiva, cujos efeitos colaterais são raros. É considerado pela *US Food and Drug Administration* (FDA) "geralmente reconhecido como seguro". O óleo volátil de gengibre está relatado como isento de efeitos irritantes e

alergénicos, no entanto pode existir um risco de dermatite em indivíduos mais sensíveis (Kubra & Rao, 2012; Mardani, Ghannadi, Rashnavadi, & Kamali, 2017)

Os estudos realizados sobre a influência do tabaco no fluxo salivar são escassos, mas são perceptíveis os efeitos nocivos que o fumo do cigarro tem na qualidade da saliva, e os efeitos negativos orais e sistémicos que advêm da diminuição da quantidade e qualidade da mesma. Dada a insuficiente literatura sobre o efeito do gengibre na estimulação do fluxo salivar, surgiu o interesse de estudar o efeito da infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores que apresentam diminuição de fluxo salivar, de forma a encontrar um possível estimulante salivar.

Neste estudo é também determinado o conteúdo de fenóis totais, flavonoides e capacidade antioxidante do gengibre, por existirem investigações que referem que são estes os fatores principais para o seu poder de ação e proteção sobre as células da cavidade oral.

Assim, a questão de investigação colocada neste estudo é: Existe diferença no fluxo salivar antes e após a toma de uma infusão de gengibre, em indivíduos fumadores?

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da ingestão de uma infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores com diminuição do fluxo salivar.

### **1.5.2 Objetivos Específicos**

- ❖ Comparar o fluxo salivar antes e após a ingestão da infusão de gengibre;
- ❖ Determinar o conteúdo em fenóis e flavonoides totais e quantificar a capacidade antioxidante do gengibre.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo é realizado em fases diferenciadas: a Análise Química, onde se realiza a caracterização do gengibre relativamente à quantidade de fenóis e flavonóides totais e à sua capacidade antioxidante e um Ensaio Clínico, durante um período de 28 dias com dois momentos de avaliação,  $t_0$  e  $t_{29}$ .

Durante a fase de Ensaio Clínico os participantes do estudo ingerem 250 mL de uma infusão com 0,5g de gengibre em pó, três vezes por dia (meio da manhã, tarde e ceia) durante 28 dias.

### 2.1 Análise Química

#### 2.1.1 Reagentes e Soluções

Quercitina, adquirida à Extrasynthese; Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), TPTZ (2,4,6-tri (2-piridil) -s-triazina); ABTS (2,20-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) e Nitroblue tetrazolium (NBT) adquiridos à *Sigma-Aldrich*. Procurou-se que todos os outros reagentes tivessem um grau de pureza pro-análise.

#### 2.1.2 Equipamento

Balança Sartorius, espectrofotómetro UV-visível Perkin-Elmer 25.

#### 2.1.3 Preparação do Extrato

A análise química foi realizada através de um extrato etanólico, um extrato metanólico e um extrato aquoso de gengibre em pó (gengibre em pó biológico, Biodharma, origem: Índia). O gengibre é equivalente ao utilizado na infusão preparada pelos indivíduos do estudo.

A preparação do extrato etanol foi efetuada através da adaptação de Yeh et al. (2014). Foram realizadas duas extrações. Adicionou-se 50 mL de etanol 80% (v/v) a 1 g de gengibre em pó, agitou-se durante 45 minutos e o sobrenadante foi filtrado com recurso a um papel de filtro. Juntaram-se os extratos e concentrou-se no evaporador rotativo a 40°C, extrato final que foi conservado a -57°C.

O extrato metanólico foi realizado de acordo com Ghasemzadeh, Jaafar, & Rahmat (2010). Foram adicionados 50 mL de metanol a 1 g de gengibre em pó, procedeu-se à agitação da solução durante duas horas. O sobrenadante foi filtrado com recurso a papel de filtro, a amostra final que foi conservada a  $-57^{\circ}\text{C}$ .

O extrato aquoso foi preparado adicionando 0,2 g de gengibre em pó a 100 mL de água fervida, deixou-se repousar durante 10 min e filtrou-se o sobrenadante. A amostra foi conservada a  $-57^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.1.4 Quantificação de Fenóis Totais**

A quantificação do conteúdo de fenóis totais foi realizada de acordo com Prabha & Vasantha (2011) utilizando o extrato de etanol, metanol e aquoso. Foi realizada uma curva de calibração utilizando o ácido gálico como padrão em etanol:água 50:50 (v/v), nas concentrações 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/L.

A 250  $\mu\text{L}$  de amostra em etanol:água 50:50 (v/v) adicionaram-se 2,5 mL da solução reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1:10 em água destilada) e 2 mL solução aquosa de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 1M. O branco foi realizado substituindo a amostra pelo solvente. Agitaram-se os tubos e mediu-se a absorvância a 765 nm após 15 min de repouso. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico/g de extrato de gengibre.

#### **2.1.5 Quantificação de Flavonoides totais**

A quantificação de flavonoides totais realizou-se segundo uma adaptação do método descrito por Prabha & Vasantha (2011). A 2 mL de amostra foram adicionados 0,1 mL de cloreto de alumínio ( $\text{AlCl}_3$ ) 10%. Homogeneizou-se e adicionou-se 0,1 mL de acetato de potássio 1M e 2,8 mL de água destilada.

O branco foi realizado substituindo o cloreto de alumínio por água destilada. Agitaram-se os tubos, deixou-se repousar durante 30 minutos à temperatura ambiente e mediu-se a absorvância a 415 nm. Com o mesmo procedimento foi realizada a curva de calibração usando a quercitina em metanol:água (2:1) (v/v) com concentrações de 10, 30, 50, 70, 90, 100 mg/L. Os resultados foram expressos em mg quercitina/g de extrato de gengibre.

## 2.1.6 Quantificação da capacidade antioxidante

### 2.1.6.1 Método FRAP – Ferric Reducing Antioxidante Power

O método FRAP baseou-se em Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, & Byrne (2006). Foi preparada, previamente, uma solução com: 25 mL de tampão acetato 300 mM pH=3,6; 2,5 mL de TPTZ 10 mM e 2,5 mL de FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 20 mM, que foi aquecida a 37°C antes de ser utilizada.

Adicionaram-se 150 µL de amostra; a esta solução foram adicionados 2850 µL de FRAP. Deixou-se repousar, na ausência de luz durante 30 minutos e leu-se a absorvância a 593 nm.

O branco foi realizado substituindo a amostra pelo solvente, para cada extrato. Foi realizada a curva padrão usando o Trolox com concentrações de 25 a 800 µmol. Os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de extrato de gengibre.

### 2.1.6.2 Método de captação do radical ABTS

O poder antioxidante é determinado pela capacidade de regaste deste radical, utilizando o antioxidante Trolox como padrão.

Para a formação do radical ABTS foi preparada uma solução com 176 µL de persulfato de potássio 140 mM e 10 mL de ABTS 7 mM, que ficou na ausência de luz durante 12h (tempo de formação do radical), à temperatura ambiente. Após este tempo a solução foi diluída em etanol até que a 734 nm a absorvância fosse 0,7 (Zulueta, Esteve, & Frígola, 2009).

Adicionou-se 150 µL de amostra a 2850 µL da solução ABTS. O controlo foi realizado substituindo a amostra pelo solvente e a absorvância foi medida a 734nm.

Com o mesmo procedimento foi realizada a curva de calibração usando concentrações de Trolox de 0, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 µmol em etanol:água 80:20 (v/v).

Os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de extrato de gengibre.

A percentagem de inibição do radical ABTS foi calculada através da equação 1:

$$\% I = \frac{A_{controlo} - A_{amostra}}{A_{controlo}} \times 100 \quad \text{equação 1}$$

### 2.1.6.3 Teste de inibição do anião $O_2^{\cdot-}$

O anião  $O_2^{\cdot-}$  é considerado uma espécie reativa de oxigénio primária. É importante conhecer compostos que possam inibir este radical tendo em conta que este pode interagir com outras moléculas e decompor-se, formando outras espécies reativas de oxigénio mais potentes que ficam disponíveis na cavidade oral podendo participar em danos celulares (Indo et al., 2015; Karadag, Ozcelik, & Saner, 2009).

O teste de inibição foi realizado por adaptação de Yu et al. (2006) citado por Morais et al. (2009). Pipetaram-se 0,5 mL de amostra e 2 mL de uma solução composta por: NADH 189  $\mu$ M e NBT 120  $\mu$ M em Tris-HCl 40 mM, pH=8. A reação iniciou-se após a adição de 0,5 mL de fenazina metosulfato (PMS) 60  $\mu$ M, foi deixada em repouso por cinco minutos à temperatura ambiente.

No controlo substituiu-se a solução amostra pelo solvente. Foi realizado um branco adicionando 2 mL da solução previamente preparada a 0,5 mL de amostra, substituindo 0,5 mL de PMS por água destilada.

A absorvância foi medida a 560 nm. A percentagem de inibição do anião  $O_2^{\cdot-}$  foi calculada através equação 1.

### 2.1.6.4 Teste de inibição do radical óxido nítrico (NO $\cdot$ )

O NO funciona como uma molécula de sinalização de vários processos fisiológicos, no entanto, é potencialmente tóxica em situações de *stress* oxidativo (Dusse, Vieira, & Carvalho, 2003).

Este teste foi realizado com base no método descrito por Nikkhah, Khayami, & Heitari, (2008). Colocou-se 1 mL de nitroprussiato de sódio 10 mM juntamente com 250  $\mu$ L de PBS e 250  $\mu$ L de amostra. Homogeneizou-se e incubou-se a 25° durante 150 minutos. Após esse período, adicionou-se 3 mL de ácido sulfanílico (0,33% em ácido acético glacial 20%) e deixou-se repousar durante 5 minutos após os quais se adicionou 3 mL de N-(1-naftil) etilenodiamina dicloridrato (NED 0,1% m/v). Homogeneizou-se e incubou-se a 25°C durante 30 minutos.

O branco foi realizado substituindo a amostra pelo solvente. A absorvância foi medida a 533 nm. A percentagem de inibição do radical óxido nítrico foi calculada através equação 1.

### 2.1.6.5 Método DPPH

O método baseou-se em Thaipong et al. (2006). Foi, previamente, preparada uma solução *stock* onde se dissolveu 24 mg de DPPH em 100 mL de metanol, ficou conservada a -20°C até ser utilizada. A 45 mL de metanol adicionaram-se 10 mL da solução *stock* para obter uma absorvância de  $1,1 \pm 0,02$  a 515 nm.

Adicionou-se 150 µL de amostra a 2850 µL da solução de DPPH e armazenou-se, na ausência de luz, durante 24h. O controlo foi realizado substituindo a amostra pelo solvente e a absorvância foi medida a 515 nm. Os resultados foram expressos em µmol Trolox/g de extrato de gengibre. Foi realizada a curva padrão usando o Trolox com concentrações de 25 a 800 µmol. A percentagem de inibição do radical DPPH foi calculada através da equação 1.

## **2.2 Ensaio Clínico**

### **2.2.1 Questões Éticas**

Este estudo de investigação foi aprovado pela Comissão Científica do Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz e pela Comissão de Ética da Egas Moniz (Anexo 1).

O termo de Consentimento Informado (Anexo 2) foi assinado por todos os participantes do estudo, são esclarecidos o contexto, procedimentos e objetivos do estudo.

Os intervenientes foram informados que a qualquer momento e se o desejarem, poderão desistir de participar no estudo, não envolvendo qualquer tipo de contingências face à sua recusa ou eventual desistência.

### **2.2.2 População/amostra e variáveis de estudo**

Os participantes foram selecionados de forma voluntária e preenchem os critérios de inclusão abaixo mencionados.

A amostra do estudo é constituída por 16 indivíduos com idade superior a 20 anos, de ambos os sexos. Os indivíduos são fumadores há mais de cinco anos, têm diminuição do fluxo salivar e não apresentam outras patologias.

Os participantes foram informados e esclarecidos da metodologia e pressupostos do estudo. Ao participante foi apenas solicitado o consentimento de participação no estudo e a recolha de saliva.

Este estudo apresenta como variável dependente o volume (mL/min) de fluxo salivar e como variáveis independentes a infusão de gengibre, a idade, a duração do tabagismo e o número de cigarros fumados por dia.

### **2.2.3 Critérios de inclusão e exclusão**

Critérios de inclusão:

- ❖ Indivíduos fumadores há mais de 5 anos;
- ❖ Diminuição do fluxo salivar estimulado e não estimulado;
- ❖ Idade superior a 20 anos.

Critérios de exclusão:

- ❖ Indivíduos com fluxo salivar normal;
- ❖ Alergia ao gengibre;
- ❖ Grávidas;
- ❖ Indivíduos com *pacemaker*;
- ❖ Terapêutica medicamentosa regular;
- ❖ Indivíduos com perturbações psíquicas;
- ❖ Indivíduos com compreensão comprometida.

#### 2.2.4 Desenho de Estudo

O estudo trata-se de um ensaio clínico não controlado que consiste na ingestão de 250 mL de uma infusão com 0,5g (gengibre em pó), três vezes por dia durante 28 dias.

Os instrumentos de recolha de dados usados no estudo são: Questionário Sociodemográfico e Sialometria (técnica de medição do fluxo salivar).

A recolha de dados foi totalmente anónima e confidencial, os dados dos participantes foram registados com recurso a uma codificação.

A recolha da informação foi repartida por dois momentos: 1ª e 2ª avaliação. Os indivíduos do estudo foram contactados previamente às avaliações relembrando que não podiam lavar os dentes, fumar, comer ou beber durante 1-2 horas antes dos momentos de recolha dos dados.

Na 1ª avaliação ( $t_0$ ) os indivíduos iniciaram o estudo com a leitura e assinatura do Consentimento Informado, seguido da realização da Sialometria (técnica de medição do fluxo salivar) onde se concluiu se estão cumpridos os critérios de inclusão no estudo. Os indivíduos do estudo são fumadores e apresentam uma diminuição no fluxo salivar. De seguida foi aplicado o Questionário Sociodemográfico.

Aos intervenientes foram entregues 84 doses de gengibre em pó (para 28 dias), juntamente com documento explicativo de todo o procedimento de preparação da infusão (Anexo 4).

A 2ª avaliação ocorreu ao fim de 28 dias ( $t_{29}$ ). Foi verificado o cumprimento do protocolo do estudo e realizada nova Sialometria, de modo a verificar a existência de alterações no volume dos fluxos salivares.

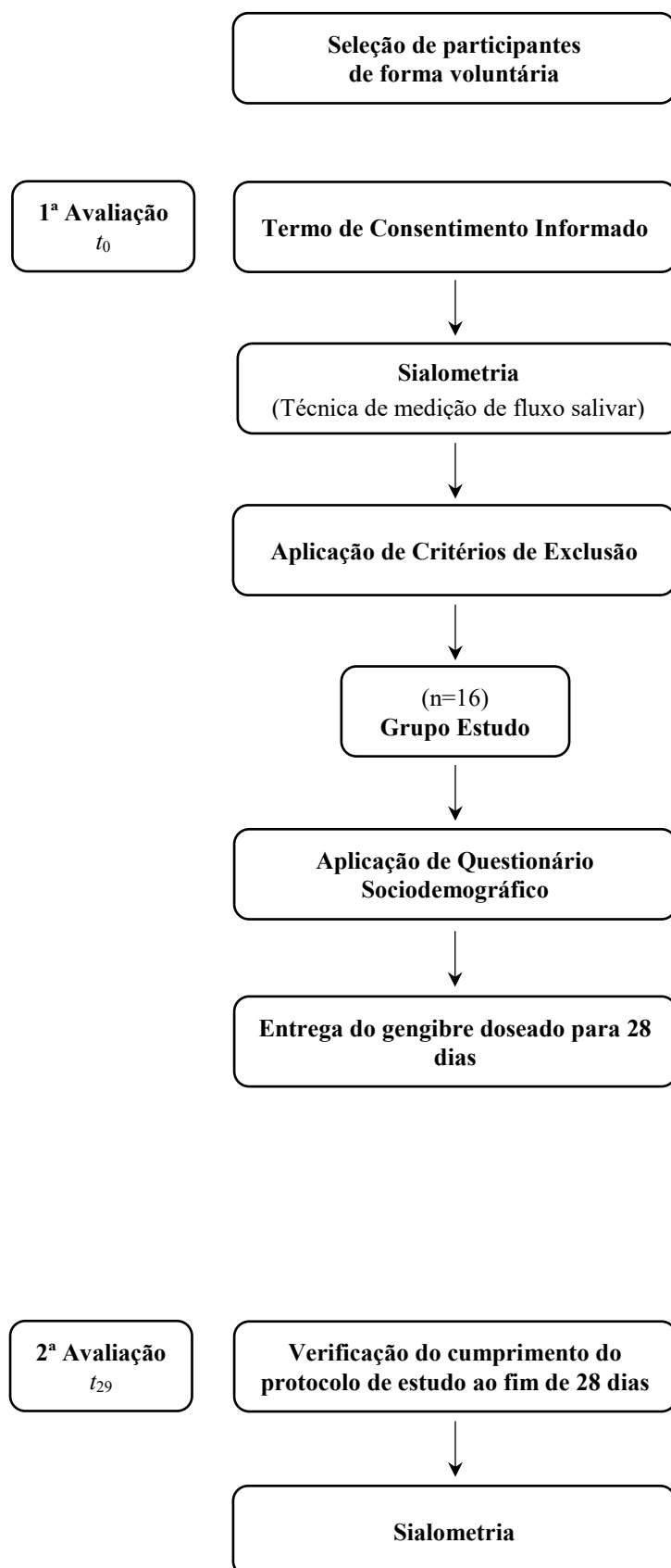


Figura 1. Fluxograma do procedimento experimental seguido

## 2.2.5 Instrumentos de recolha de dados

### 2.2.5.1 Sialometria

A sialometria efetuada foi realizada segundo o modelo proposto por Navazesh (1993). A medição do fluxo salivar foi efetuada sem estímulo (fluxo salivar não estimulado - FSNE)) e com estímulo (fluxo salivar estimulado - FSE) com recurso a uma pastilha de parafina *CRT<sup>®</sup> Buffer*.

O fluxo não estimulado representa a saliva que está presente na cavidade oral durante 14h por dia, fornecendo proteção aos tecidos orais. O fluxo estimulado representa a secreção salivar durante a ingestão de alimentos e está presente na cavidade oral até duas horas. Assim, o estudo do FSNE avalia a condição de secreção glandular enquanto o estudo do FSE avalia a reserva funcional das glândulas salivares (Gopal et al., 2016).

Na Tabela 1 encontram-se descritas as categorias de fluxo salivar sugeridas por Sreebny e Valdini em 1988 (Navazesh & Kumar, 2008).

**Tabela 1** - Categorias de fluxo salivar não estimulado e estimulado sugeridas por Sreebny e Valdini em 1988 (Navazesh & Kumar, 2008).

<b>Categoria</b>	<b>Fluxo Salivar Não Estimulado</b>	<b>Fluxo Salivar Estimulado</b>
<b>Normal</b>	0,25 – 0,35 mL/min	≥ 1,00 mL/min
<b>Diminuição de fluxo</b>		
<b>Hipossialia</b>	≤0,10 mL/min	≤ 0,70 mL/min

A colheita de saliva não estimulada e estimulada tiveram uma duração de 5 minutos. Os resultados expressam-se em mL/min.

Os procedimentos para a recolha de saliva não estimulada (FSNE) são:

- ❖ Ao minuto zero o indivíduo engole toda a saliva que contém na boca;
- ❖ A língua deve apoiar as superfícies linguais dos incisivos superiores;
- ❖ A cabeça está inclinada para a frente para deixar cair a saliva para o interior do tubo, sem cuspir ou mastigar.

A colheita de saliva estimulada (FSE) foi efetuada após a realização do teste FSNE.

Os procedimentos para a recolha de saliva estimulada são:

- ❖ Ao minuto zero o participante engole toda a saliva que contém na boca;
- ❖ De seguida coloca na boca uma pastilha de parafina *CRT® Buffer*, para estímulo mastigatório;
- ❖ A saliva produzida no primeiro minuto é descartada, é recolhida a saliva produzida durante os restantes minutos.

Durante a colheita de saliva o sujeito deve estar sentado, direito, em posição relaxada, com a cabeça ligeiramente inclinada para a frente e com os olhos abertos (Navazesh, 1993).

A realização da colheita foi avaliada há mesma hora (nove horas até onze horas da manhã) de modo a evitar a variação circadiana. Os indivíduos foram informados que não podem lavar os dentes, fumar, comer ou beber durante 1-2 horas antes da sialometria. (Martín-Piedra, Aguilar-Salvatierra, Herrera, & Gómez-Moreno, 2011; Navazesh, 1993)

A amostra foi colocada num tubo graduado de *Falcon*, devidamente tapado, previamente rotulado e identificado.

### **2.2.5.2 Questionário Sociodemográfico**

Cada um dos participantes respondeu a um questionário (Anexo 3) que consiste na recolha de dados sóciodemográficos como idade, género, número de cigarros que fuma por dia e duração do tabagismo. A sua recolha foi totalmente anónima e confidencial.

### **2.2.5.3 Preparação do Gengibre**

O gengibre entregue aos indivíduos do estudo foi pesado numa balança de precisão e distribuído por saquetas com 0,5g de gengibre em pó cada. Foram entregues 84 doses (saquetas) de gengibre em pó a cada indivíduo no dia da avaliação inicial.

Todos os participantes tomaram conhecimento do modo de preparação da infusão:

- ❖ Ferver 250 mL de água (250 mL para uma dose);
- ❖ Acrescentar o gengibre (uma saqueta – 0,5g) à água fervida e mexer;
- ❖ Deixar repousar durante 5-10 minutos até atingir a temperatura ambiente;
- ❖ Bochechar durante a ingestão da infusão.

#### 2.2.5.4 Materiais Utilizados

Materiais utilizados na realização do estudo:

- ❖ Gengibre em pó biológico, *Biodharma*, origem: Índia;
- ❖ Balança;
- ❖ 64 Tubos graduados de *Falcon*;
- ❖ 32 Pastilhas de parafina (*CRT<sup>®</sup> Buffer*, Ivoclar-Vivadent, Lichenstein);
- ❖ Questionários.

#### 2.2.6 Plano de análise estatística

Os dados obtidos através das observações clínicas e questionários foram submetidos a análises estatísticas através do *software* Microsoft Excel<sup>®</sup> versão 2013 e IBM SPSS<sup>™</sup> (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 24. Foram realizados os testes de normalidade de dados, *t-Student* para amostras emparelhadas e teste de correlação de *Spearman*. Foram calculadas médias, desvio padrão e outras medidas de estatística descritiva. Os testes foram aplicados com um nível de confiança de 95% e um nível de significância de 5% (0,05).



### 3 RESULTADOS E TRATAMENTO ESTATÍSTICO

#### 3.1 Análise Química

##### 3.1.1 Quantificação de fenóis e flavonoides totais

A quantificação de fenóis e flavonoides totais foi realizada para um extrato de etanol, um extrato de metanol e um extrato aquoso utilizando gengibre em pó (Tabela 2). Os resultados de fenóis são expressos em mg de equivalentes de ácido gálico/L e em mg de equivalentes de ácido gálico/g de extrato de gengibre. Os resultados de flavonoides são expressos em mg de equivalentes de quercitina/L e em mg de equivalentes de quercitina/g de extrato de gengibre.

**Tabela 2.** Quantificação de fenóis e flavonoides totais do extrato de etanol, metanol e água.

	Extrato	Valor Médio (±SEM)	Equação da reta de calibração
<b>Fenóis Totais</b> (mg equivalentes de ácido gálico/L) (mg equivalentes de ácido gálico/g de extrato de gengibre)	Etanol	241,74 (±2,96) 10,88 (±0,13)	$y = 6,431 \times 10^{-3}x + 1,787 \times 10^{-2}$ ( $R^2 = 0,999$ )
	Metanol	201,64 (±5,51) 8,27 (±0,23)	
	Água	22,57 (±0,59) 1,02 (±0,03)	
<b>Flavonoides Totais</b> (mg equivalentes de quercitina /L) (mg equivalentes de quercitina/g de gengibre)	Etanol	58,95 (±1,41) 2,65 (±0,07)	$y = 2,144 \times 10^{-2}x + 6,668 \times 10^{-2}$ ( $R^2 = 0,983$ )
	Metanol	73,44 (±2,30) 3,01 (±0,09)	
	Água	4,65 (±0,08) 0,21 (±0,01)	

Com os valores obtidos na quantificação de fenóis e flavonoides, verifica-se que a concentração de flavonoides pode estar dependente do solvente extrator dada a diferença de concentrações obtidas. O extrato de metanol apresenta uma maior capacidade de extração de flavonoides (36,4%), quando comparado com os outros dois extratos que apresentam 24,4% (extrato etanólico) e 20,6% (extrato aquoso), no entanto, o extrato

aquoso apresenta uma concentração de flavonoides de cerca de 10 vezes menor que os outros extratos.

### 3.1.2 Capacidade antioxidante

#### 3.1.2.1 Quantificação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante das amostras de gengibre está exposta na Tabela 3.

**Tabela 3.** Resultados dos testes FRAP, captação do radical ABTS e radical DPPH, para os extratos de etanol e metanol

Capacidade Antioxidante	Extrato	Valor Médio (±SEM)	Equação da reta de calibração do Trolox
<b>Teste FRAP</b> (µmol E Trolox/L) (µmol E Trolox /g de extrato de gengibre)	Etanol	1895,11 (±14,19) 85,29 (±0,64)	$y = 1,957 \times 10^{-3}x - 1,744 \times 10^{-3}$ ( $R^2 = 0,999$ )
	Metanol	1666,56 (±27,71) 68,33 (±1,14)	
<b>Teste radical ABTS</b> (µmol E Trolox/L) (µmol E Trolox /g de extrato de gengibre)	Etanol	2982,86 (±109,66) 134,24 (±4,94)	$y = - 1,330 \times 10^{-3}x + 8,298 \times 10^{-1}$ ( $R^2 = 0,996$ )
	Metanol	2389,25 (±332,32) 97,96 (±13,22)	
<b>Teste radical DPPH</b> (µmol E Trolox/L) (µmol E Trolox /g de extrato de gengibre)	Etanol	2211,46 (±140,62) 99,53 (±6,33)	$y = - 1,177 \times 10^{-3}x + 1,182$ ( $R^2 = 0,996$ )
	Metanol	2062,13 (±129,45) 92,81 (±5,83)	

O poder de redução do ião férrico pelos extratos de gengibre é elevado, mas a capacidade antioxidante do gengibre no teste FRAP é inferior ao poder de resgate dos radicais ABTS e DPPH. Os extratos de gengibre demonstram um poder de resgate dos radicais ABTS e DPPH semelhante.

Foram então determinados os valores do IC<sub>50</sub> para os radicais ABTS e DPPH, que correspondem à concentração de compostos antioxidantes necessários para inibir 50% dos radicais (Tabela 4).

**Tabela 4.** Resultado do teste de captação do radical ABTS e DPPH pelo padrão Trolox e pelos extratos de etanol e metanol.

	Extrato	Radical	Valor Médio (±SEM)	Equação da curva
<b>IC<sub>50</sub> para Trolox</b> (mg/L)	Trolox	ABTS	72,00 (±1,47)	$y = -1,106 \times 10^{-5}x^3 + 1,649 \times 10^{-3}x^2 + 6,082 \times 10^{-1}x + 1,687$ ( $R^2 = 0,995$ )
		DPPH	229,80 (±11,34)	$y = 3,743 \times 10^{-5}x^2 + 2,778 \times 10^{-1}x - 14,715$ ( $R^2 = 0,996$ )
<b>IC<sub>50</sub> para amostra de gengibre</b> (mg equivalentes de ácido gálico/L)	Etanol	ABTS	24,38 (±1,23)	$y = -1,088 \times 10^{-2}x^2 + 2,369x - 6,816 \times 10^{-1}$ ( $R^2 = 0,993$ )
		DPPH	67,43 (±0,65)	$y = -2,463 \times 10^{-3}x^2 + x - 4,636$ ( $R^2 = 0,991$ )
	Metanol	ABTS	24,46 (±0,68)	$y = -1,270 \times 10^{-2}x^2 + 2,228x + 2,518$ ( $R^2 = 0,993$ )
		DPPH	53,66 (±1,23)	$y = -3,533 \times 10^{-3}x^2 + 1,188x - 3,207$ ( $R^2 = 0,991$ )

O antioxidante padrão Trolox demonstrou uma inibição do radical ABTS três vezes superior em relação ao DPPH, como é ilustrado na Tabela 4 com os valores de IC<sub>50</sub>. No entanto, para os extratos de etanol e de metanol os valores de inibição dos radicais são semelhantes.

Os extratos em análise apresentam um poder de resgate do radical ABTS de 100% com um valor de IC<sub>50</sub> inferior ao do Trolox, demonstrando assim um efeito de inibição do radical ABTS superior ao do antioxidante padrão (Tabela 4 e Figura 2).

Com o radical DPPH, os extratos de etanol e metanol apresentam um poder de inibição do radical praticamente total e muito superior ao do antioxidante padrão Trolox, como é exposto na Tabela 4, é necessária uma menor concentração para inibir 50% do radical.

Com base nos resultados descritos, o método ABTS é o método mais sensível para determinar a atividade antioxidante dos extratos em análise.

Na Figura 2 é apresentado o traçado da curva do poder antioxidante dos extratos de gengibre sobre o radical ABTS, com uma percentagem de inibição de 100%.

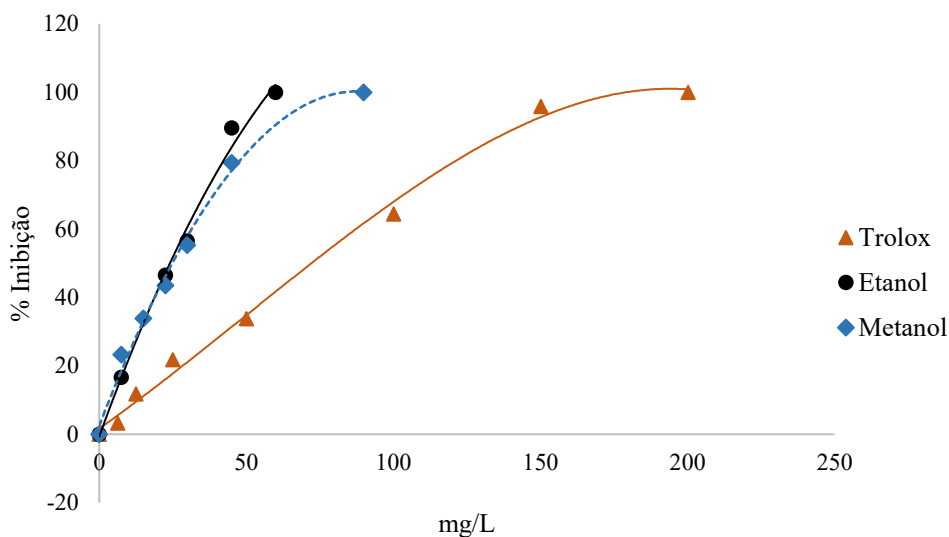


Figura 2. Traçado das curvas de percentagem de inibição do radical ABTS para os extratos de gengibre e para o Trolox.

### 3.1.2.2 Quantificação da % de inibição

No teste de inibição do anião  $O_2^-$ , o extrato etanólico revela inibição do radical superóxido tanto em concentrações baixas como elevadas, tal não acontece com o extrato de metanol como é ilustrado na Figura 3.

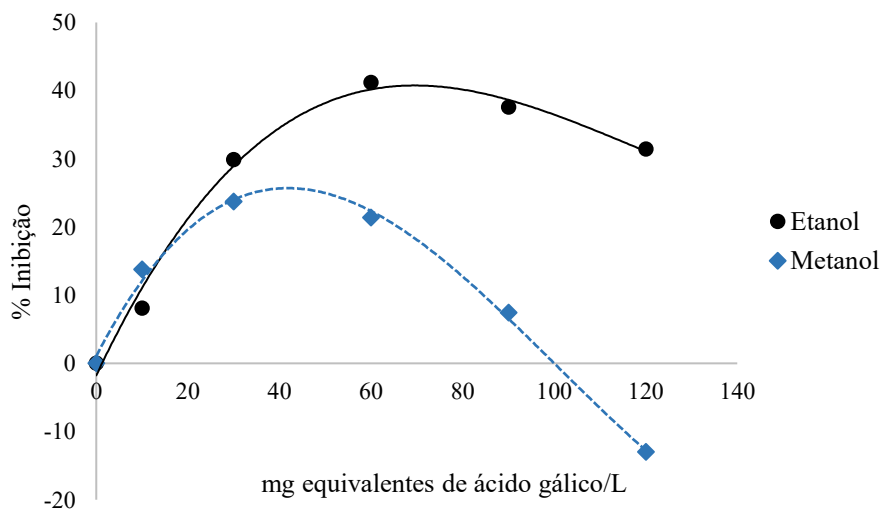


Figura 3. Traçado das curvas de percentagem de inibição do anião  $O_2^-$  para os extratos de etanol e metanol.

A uma concentração de 120 mg de equivalentes de ácido gálico/L, o extrato de etanol continua a demonstrar o seu poder antioxidante. No entanto, na mesma concentração, o extrato de metanol já não inibe o superóxido  $O_2^{\cdot-}$  mas promove a sua formação (Figura 3).

O extrato etanólico apresenta também uma percentagem de inibição máxima superior à do extrato de metanol, ilustrado na Figura 3 e na Tabela 5.

**Tabela 5.** Resultados dos testes da percentagem inibição máxima do anião  $O_2^{\cdot-}$  e do  $NO^{\cdot}$ .

		Valor Médio ( $\pm$ SEM)	Equação da curva
% Inibição $O_2^{\cdot-}$ (Inibição máxima)	Etanol (60 mg E ácido gálico/L)	41,19% ( $\pm$ 5,64)	$y = 4,160 \times 10^{-5}x^3 - 1,457 \times 10^{-2}x^2 + 1,424x - 1,769$ ( $R^2 = 0,989$ )
	Metanol (30 mg E ácido gálico/L)	23,73% ( $\pm$ 1,87)	$y = 6,485 \times 10^{-5}x^3 - 1,950 \times 10^{-2}x^2 + 1,291x + 1,076$ ( $R^2 = 0,994$ )
% Inibição $NO^{\cdot}$ (Inibição máxima)	Água (11,28 mg E ácido gálico/L)	24,23% ( $\pm$ 1,02)	

O teste de inibição do radical  $NO^{\cdot}$  foi realizado com o extrato aquoso, por existir interferência do solvente com os extratos de etanol e metanol, aquando da realização do teste de inibição do radical. A percentagem de inibição máxima foi obtida a uma concentração de 11,28 mg ácido gálico/L, metade da concentração de fenóis existentes no extrato aquoso.

## **3.2 Ensaio Clínico**

### **3.2.1 Caracterização da amostra**

A amostra do presente estudo é constituída por 16 indivíduos fumadores com diminuição do fluxo salivar, que respeitam os critérios de inclusão do estudo.

A amostra é constituída por indivíduos de ambos os sexos. Nove indivíduos (56%) pertencem ao género feminino e sete indivíduos (44%) pertencem ao género masculino. A distribuição é apresentada na Figura 4.

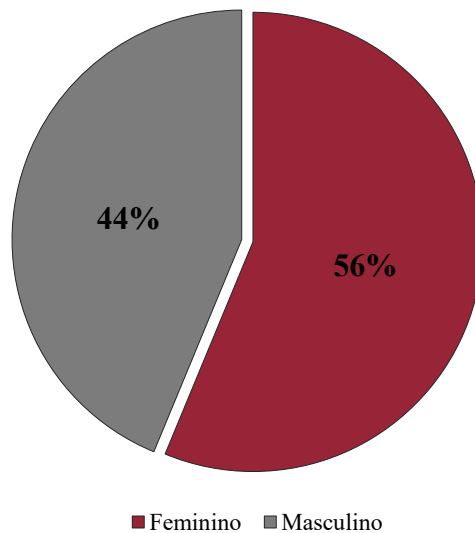


Figura 4. Distribuição da amostra por género

Os indivíduos do estudo apresentam uma média de idades de  $36 \pm 11$  anos com uma distribuição entre os 24 e os 58 anos como é apresentada na Tabela 6.

**Tabela 6** - Distribuição de idades dos indivíduos fumadores participantes no Ensaio Clínico

Idade	Frequência	Porcentagem (%)
24	2	12,50
25	2	12,50
27	1	6,25
31	3	18,75
34	1	6,25
37	1	6,25
38	1	6,25
42	2	12,50
47	1	6,25
58	2	12,50
TOTAL	16	100,00

Depois da análise descritiva para caracterização da amostra em estudo, procede-se à análise descritiva e inferencial das variáveis fluxo salivar não estimulado (FSNE) e fluxo salivar estimulado (FSE).

### 3.2.2 Estudo Clínico

Os volumes de fluxo salivar estimulado e não estimulado foram analisados. Concluiu-se que o estudo é constituído por uma amostra homogênea, tendo em conta que dentro de cada fluxo os volumes salivares são idênticos entre os indivíduos. Na Tabela 7 estão representadas as médias de volume de fluxo salivar antes da toma da infusão de gengibre.

**Tabela 7** - Médias dos volumes (mL/min) dos fluxos salivares não estimulado (FSNE) e estimulado (FSE) antes (V inicial) da toma da infusão de gengibre

Grupo Estudo	Média de volume $\pm$ desvio padrão	Categoria
FSNE	0,12 $\pm$ 0,05	Diminuição de fluxo
FSE	0,69 $\pm$ 0,18	Hipossialia

Verificados os pressupostos de aplicação dos testes de análise estatística, foram realizadas correlações entre os volumes do fluxo salivar estimulado e não estimulado e algumas variáveis como idade, anos de duração de tabagismo e número de cigarros fumados por dia, de modo a ser possível entender se estes fatores afetam, ou não, o fluxo salivar dos indivíduos fumadores.

Na Figura 5 encontra-se representada a correlação entre o fluxo salivar não estimulado (FSNE) antes da toma da infusão de gengibre e a idade.

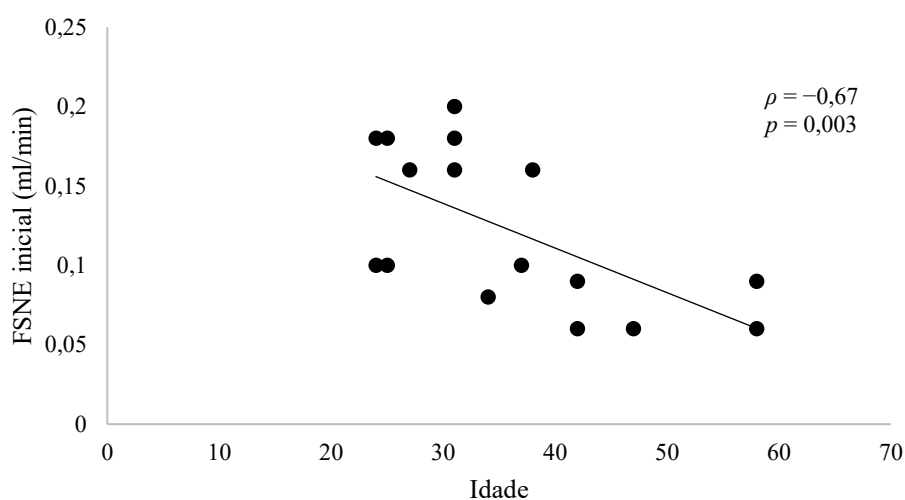


Figura 5. Correlação entre o volume (mL/min) de fluxo salivar não estimulado (FSNE) e a idade (anos), antes (inicial) da toma da infusão de gengibre.

Os resultados demonstraram que existe uma forte correlação negativa entre o FSNE e a idade ( $\rho = -0,67$ ). A saliva não estimulada reduziu significativamente com o aumento da idade ( $p = 0,003$ ). Indivíduos mais velhos têm menor volume de saliva não estimulada em comparação com indivíduos mais novos.

Foi também realizado o teste para o FSE, no entanto não se verificou uma correlação entre a saliva estimulada e a idade.

Em relação ao tempo de duração do tabagismo, foi também verificada a existência de uma correlação entre o volume do fluxo salivar não estimulado (FSNE) e estimulado (FSE) antes da toma da infusão de gengibre e o tempo (número de anos que os indivíduos do estudo fumam).



**Tabela 8** - Comparação das médias dos volumes (mL/min) dos fluxos salivares não estimulado (FSNE) e estimulado (FSE), antes (V inicial) e após (V final) a toma da infusão de gengibre.

Grupo Estudo		Média de volume ± desvio padrão	Significância Estatística
FSNE	V inicial	0,12 ±0,05	valor $p < 0,001$
	V final	0,24 ±0,05	
FSE	V inicial	0,69 ±0,18	valor $p < 0,001$
	V final	0,90 ± 0,18	

Os resultados obtidos na Tabela 8 demonstram uma diferença estatisticamente significativa entre as médias de volume salivar antes (inicial) e após (final) a toma da infusão de gengibre. Há um aumento significativo do FSNE e do FSE após a toma da infusão de gengibre durante 28 dias. A infusão revela ter sido eficaz na melhoria do fluxo salivar.

Respondida a questão do estudo e verificado o aumento do volume do fluxo salivar estimulado e não estimulado, é importante entender se após a toma da infusão de gengibre, todos os indivíduos do estudo se encontram na categoria de fluxo salivar “Normal”.

Na Tabela 9 encontram-se descritas as categorias de fluxo salivar, de modo a classificar os indivíduos do estudo tendo em conta os volumes salivares dos seus fluxos.

**Tabela 9.** Categorias de fluxo salivar não estimulado e estimulado sugeridas por Sreebny e Valdini em 1988 (Navazesh & Kumar, 2008)

Categoria	Fluxo Salivar Não Estimulado	Fluxo Salivar Estimulado
Normal	0,25 – 0,35 mL/min	$\geq 1$ mL/min
<b>Diminuição de fluxo</b>		
Hipossialia	$\leq 0,1$ mL/min	$\leq 0,7$ mL/min

Na Figura 7 e Figura 8 estão representadas as categorias “Normal”, “Diminuição de fluxo” e “Hipossialia”, do FSNE e FSE a que os indivíduos fumadores pertencem, antes e após a toma da infusão de gengibre.

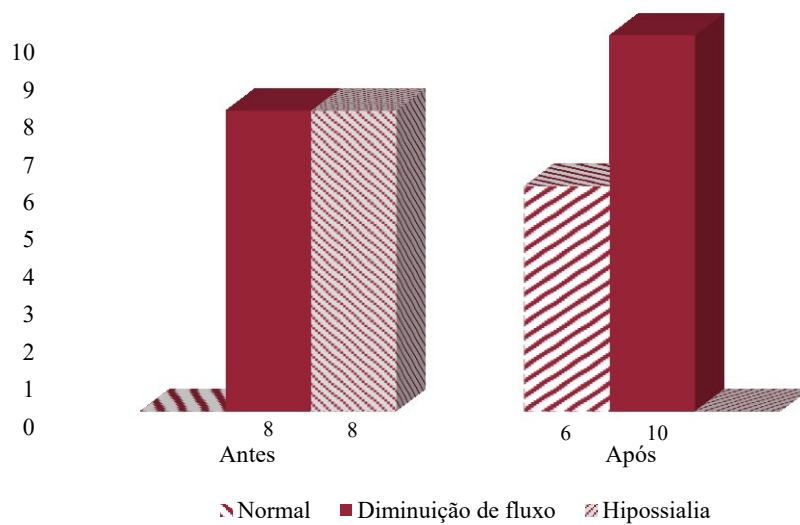


Figura 7. Distribuição dos indivíduos por categorias, no FSNE, antes e após a toma da infusão de gengibre (28 dias).

Em relação ao fluxo salivar não estimulado (FSNE) (Figura 7), antes da toma da infusão de gengibre oito indivíduos encontravam-se na categoria “Diminuição de fluxo” e os restantes oito na categoria “Hipossialia”.

Os resultados revelam que após a toma da infusão de gengibre seis indivíduos do estudo (37,5%) passaram para a categoria “Normal” e que, embora existam 10 indivíduos na categoria “Diminuição de fluxo”, nenhum indivíduo se encontra na categoria “Hipossialia”.

No fluxo salivar estimulado (FSE) (Figura 8), a distribuição antes da toma da infusão de gengibre é análoga à do FSNE. Após a toma da infusão, cinco dos 16 indivíduos passaram para a categoria “Normal”, nove indivíduos encontram-se na categoria “Diminuição de fluxo”, no entanto dois deles ainda se mantêm na categoria “Hipossialia”.

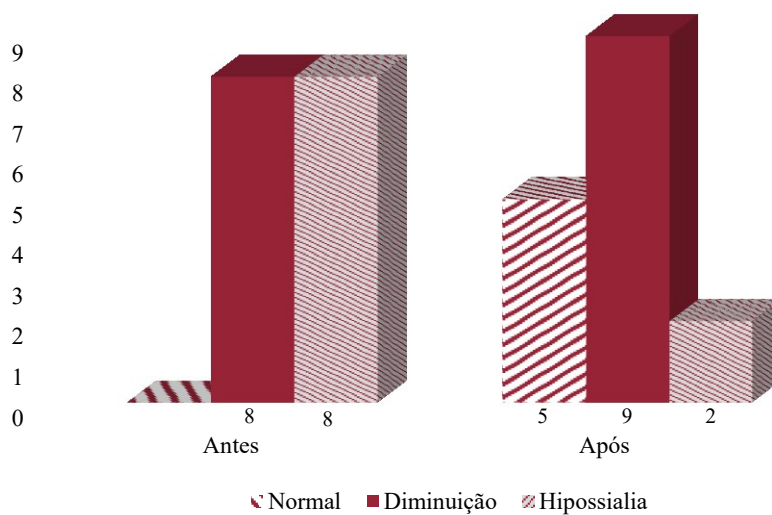


Figura 8. Distribuição dos indivíduos por categorias, no FSE, antes e após a toma da infusão de gengibre (28 dias).

A toma da infusão de gengibre revela um efeito positivo no fluxo salivar dos indivíduos fumadores.

#### 4 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que a taxa de fluxo salivar estimulado e não estimulado teve um aumento estatisticamente significativo em resposta à toma da infusão de gengibre, com uma dose de 0,5g, três vezes por dia, durante 28 dias.

Este efeito está de acordo com os resultados do estudo realizado por Simão et al. (2016), onde foi testada uma infusão de gengibre, com a mesma dose, em indivíduos com Síndrome de Sjögren e concluído que a infusão aumentou significativamente a secreção salivar e permitiu a diminuição dos níveis de xerostomia.

Em 2007, Ghayur et al., demonstraram que o gengibre está envolvido na ativação de recetores M3 muscarínicos, recetor este que leva ao aumento da função secretora. Chamani et al. (2011) revelaram que após a injeção de um extrato de gengibre em ratos, a secreção salivar foi significativamente superior em comparação com outros extratos de ervas. Após a toma de um *spray* de gengibre, Mardani et al. (2017) demonstraram em pacientes diabéticos um aumento da secreção salivar e a existência de alívio da sensação de boca seca.

A saliva desempenha um papel importante na manutenção da saúde oral (Feio & Sapeta, 2005) e a diminuição do fluxo salivar ou alterações na composição da saliva podem ter repercussões a vários níveis na cavidade oral, podendo alterar a qualidade de vida dos indivíduos (Mese & Matsuo, 2007).

No presente estudo os resultados obtidos demonstraram que o volume salivar (não estimulado e estimulado) diminuiu significativamente com o aumento da duração do tabagismo. Estes dados estão de acordo com os estudos de Gopal et al. (2016) e Petrušić et al. (2015) que demonstraram que o consumo prolongado de tabaco é um dos fatores de redução do volume salivar. A quantidade reduzida de saliva pode ser explicada como resultado dos efeitos nocivos do fumo do tabaco ao longo do tempo.

O fumo do tabaco é uma fonte de espécies reativas de oxigénio (Cross et al., 1993). O aumento da produção dessas espécies associadas ao tabagismo pode superar a capacidade do sistema de defesa antioxidante e resultar em *stress* e dano oxidativo (Aycicek, Erel, & Kocyigit, 2005). O *stress* oxidativo tem demonstrado ter um papel importante nas alterações das estruturas celulares (Yamauchi, Matsuno, Omata, & Satoh, 2017). Este fenómeno ocorre quando não existe um equilíbrio entre o sistema antioxidante e a produção de espécies reativas de oxigénio. Em concentrações baixas ou moderadas, as espécies reativas de oxigénio podem ser benéficas para as células por estarem envolvidas em processos fisiológicos de sinalização e de regulação. Quando há um excesso de

radicais livres, ocorre um desequilíbrio que pode dar origem a danos celulares, levando à modificação e inibição da função das células (Ferreira & Abreu, 2007).

Jenifer et al. (2015) observaram que os níveis da enzima superóxido dismutase foram significativamente superiores em indivíduos fumadores e que a atividade da enzima aumenta diretamente após o *stress* oxidativo. O aumento dos níveis desta enzima em indivíduos fumadores pode ser um mecanismo de defesa para contrariar o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio induzidas pelo fumo do tabaco.

No entanto, também em 2015, Bakhtiari et al. realizaram um estudo onde observaram que a capacidade antioxidante da saliva é superior em indivíduos não fumadores quando comparada com indivíduos fumadores. Abdolsamadi et al. (2011) sugeriram igualmente que o tabagismo está relacionado com uma diminuição significativa das concentrações dos antioxidantes salivares. No seu estudo, os níveis médios das enzimas superóxido dismutase e peroxidase foram significativamente menores em indivíduos fumadores.

Os baixos valores de capacidade antioxidante em indivíduos fumadores podem estar relacionados com a presença de uma elevada quantidade de radicais livres provenientes do fumo do tabaco, que geram *stress* oxidativo cumulativo causando a saturação dos mecanismos antioxidantes do organismo (Bakhtiari et al., 2015). Se a ação antioxidante diminui, os radicais livres não são eliminados e vão estar disponíveis no organismo para participar em ações prejudiciais ao ADN, podendo afetar a função secretora das glândulas salivares (Yamauchi et al., 2017).

O sistema antioxidante salivar tem atraído a atenção nos últimos anos (Bakhtiari et al., 2015). Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através de mecanismos como inibição de radicais livres (Duarte-Almeida, Santos, Genovese, & Lajolo, 2006). Os resultados obtidos na análise química do presente estudo demonstraram que o rizoma de gengibre utilizado tem uma grande quantidade de compostos fenólicos que mostraram ter uma capacidade antioxidante elevada, como a inibição do radical ABTS<sup>•+</sup>, em 100%, a inibição do radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e do NO<sup>•</sup>. Autores como Sabli, Mohamed, Rahmat, Ibrahim, & Abu Bakar (2012) e Tohma et al. (2016) também mostraram que os compostos fenólicos contribuem para a capacidade antioxidante do gengibre e que essa capacidade se deve ao alto teor de compostos fenólicos.

Para que os compostos fenólicos sejam considerados antioxidantes e possam exercer o seu papel biológico, é necessário que, em baixa concentração, sejam capazes de impedir, retardar e prevenir a oxidação mediada por radicais livres, e que o produto formado após a reação seja estável (Duarte-Almeida et al., 2006).

O fumo do tabaco contém uma elevada concentração de espécies reativas de oxigénio nomeadamente o anião superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) que pode causar danos biológicos significativos (Nishikawa, Kudo, Kakemizu, Ikeda, & Okubo, 1996). A análise química do  $O_2^{\cdot-}$  revelou uma percentagem de inibição máxima de 41,19, a uma baixa concentração. Estudos anteriores também demonstram que o gengibre possui características de inibição do radical  $O_2^{\cdot-}$  (Rahmani, Al shabrmi, & Aly, 2014).

Em relação ao número de cigarros fumados por dia, os resultados do presente estudo demonstram que não existe uma correlação com o volume do fluxo salivar. Este resultado é também demonstrado no estudo de Petrušić et al. (2015) quando analisaram o efeito do fumo do cigarro na saliva e concluíram que a quantidade de saliva não está significativamente associada ao número de cigarros.

Para além dos efeitos nocivos do fumo do tabaco, a diminuição do volume de fluxo salivar pode estar relacionada com o aumento da idade que pode levar a mudanças na composição e função dos tecidos glandulares, (Yamauchi et al., 2017)

A meta-análise realizada em 2015 por Affoo, Foley, Garrick, Siqueira, & Martin sobre a taxa de fluxo salivar em jovens adultos e em idosos, sugere que o fluxo salivar diminui com o envelhecimento. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o fluxo salivar não estimulado reduz significativamente com o aumento da idade dos indivíduos.

Análises histológicas parecem mostrar que com o aumento da idade podem existir alterações nas glândulas salivares, como uma diminuição do número de ácinos, assim como uma substituição do parênquima glandular por tecido adiposo e fibroso (de Almeida, Grégio, Machado, de Lima, & Azevedo, 2008).

Estas alterações estruturais estão de acordo com a investigação realizada por Waterhouse, Chisholm, Winter, Patel, & Yale em 1973, onde foi demonstrado que o volume de células do parênquima glandular diminui com a idade ao serem substituídas por tecido conjuntivo e adiposo. Choi, Park, Kim, Lim, & Kim em 2013 analisaram glândulas salivares de ratos e observaram um aumento do número de células apoptóticas, alterações histopatológicas e funcionais nas glândulas salivares com o aumento da idade. Yamauchi et al. em 2017 realizaram um exame histológico com imunofluorescência em glândulas submandibulares de ratos e também demonstraram um aumento do número de células apoptóticas e uma diminuição da proliferação celular ao longo do tempo. As mudanças estruturais relacionadas com o aumento da idade podem, então, reduzir a função das glândulas salivares e por sua vez diminuir o volume de fluxo salivar.

O gengibre revela uma ação de estimulação e produção de saliva e uma elevada capacidade antioxidante, o que poderá justificar o aumento do volume salivar encontrado neste estudo. A utilização de estimulantes salivares com reduzidos efeitos adversos e a terapia antioxidante podem evitar a diminuição salivar.

## 5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados desta investigação é possível inferir que:

- ❖ Existe uma melhoria estatisticamente significativa no fluxo salivar dos indivíduos fumadores após a toma de 0,5g de uma infusão de gengibre;
- ❖ Os extratos de gengibre analisados demonstram uma elevada capacidade antioxidante;
- ❖ A idade dos indivíduos fumadores e a duração do tabagismo estão correlacionados com a redução do fluxo salivar;

### **Limitações do estudo e perspetivas futuras**

Este estudo tem limitações o que nos leva a propor a continuação do mesmo com um grupo de controlo, utilizando como referência um estimulante salivar *gold standart*, de modo a não comprometer a validade interna dos resultados.



## 6 BIBLIOGRAFIA

- Abdolsamadi, H., Goodarzi, M., Mortazavi, H., Robati, M., & Ahmadi-Motemayel, F. (2011). Comparison of Salivary Antioxidants in Healthy Smoking and Non-smoking Men. *Chang Gung Medical Journal*, 34(6), 607–611.
- Affoo, R. H., Foley, N., Garrick, R., Siqueira, W. L., & Martin, R. E. (2015). Meta-Analysis of Salivary Flow Rates in Young and Older Adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, 63(10), 2142–2151. <http://doi.org/10.1111/jgs.13652>
- Andreo, D., & Jorge, N. (2010). Capacidade Antioxidante e Estabilidade Oxidativa de *Gengiber officinale*. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas E Da Saúde*, 13(1), 33–38.
- Arbabi-Kalati, F., Salimi, S., Nabavi, S., Rigi, S., & Miri-Moghaddam, M. (2017). Effects of Tobacco on Salivary Antioxidative and Immunologic Systems. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 18(5), 1215–1218. <http://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.5.1215>
- Aycicek, A., Erel, O., & Kocyigit, A. (2005). Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. *Pediatrics International*, 47, 635–639. <http://doi.org/10.1111/j.1442-200x.2005.02137.x>
- Bakhtiari, S., Azimi, S., Mehdipour, M., Amini, S., Elmi, Z., & Namazi, Z. (2015). Effect of Cigarette Smoke on Salivary Total Antioxidant Capacity. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 9(4), 281–284. <http://doi.org/10.15171/joddd.2015.049>
- Baliga, M. S., Haniadka, R., Pereira, M. M., Thilakchand, K. R., Rao, S., & Arora, R. (2012). Radioprotective effects of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger): past, present and future. *Food & Function*, 3(7), 714–723. <http://doi.org/10.1039/c2fo10225k>
- Brimhall, J., Jhaveri, M. A., & Yepes, J. F. (2013). Efficacy of cevimeline vs. pilocarpine in the secretion of saliva: A pilot study. *Special Care in Dentistry*, 33(3), 123–127. <http://doi.org/10.1111/scd.12010>
- Chamani, G., Zarei, M. R., Mehrabani, M., & Taghiabadi, Y. (2011). Evaluation of Effects of *Zingiber officinale* on Salivati in Rats. *Acta Medica Iranica*, 49(6), 336–340. Retrieved from <http://eds.b.ebscohost.com.ezproxy.endeavour.edu.au/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=11&sid=4076299c-5a26-4d16-9374-c6e4a3ab528d@sessionmgr106&hid=117>
- Choi, J.-S., Park, I. S., Kim, S.-K., Lim, J.-Y., & Kim, Y.-M. (2013). Analysis of age-related changes in the functional morphologies of salivary glands in mice. *Archives of Oral Biology*, 58(11), 1635–1642. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.07.008>

- Cross, C. E., O'Neill, C. A., Reznick, A. Z., Hu, M.-L., Marcocci, L., Packer, L., & Frei, B. (1993). Cigarette Smoke Oxidation of Human Plasma Constituents. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 686, 72–89.
- de Almeida, P. D. V., Grégio, A. M. T., Machado, M. Â. N., de Lima, A. A. S., & Azevedo, L. R. (2008). Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 9(3), 72–80.
- Duarte-Almeida, J. M., Santos, R. J. dos, Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2006). Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 26(2), 446–452. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200031>
- Dusse, L. M. S., Vieira, L. M., & Carvalho, M. das G. (2003). Revisão sobre óxido nítrico. *Jornal Brasileiro de Patologia E Medicina Laboratorial*, 39(4), 343–350. <http://doi.org/10.1590/S0102-86502002000600011>
- Ekstrom, J., Khosravani, N., Castagnola, M., & Messana, I. (2012). Saliva and the Control of Its Secretion. In O. Ekberg (Ed.), *Dysphagia - Diagnosis and Treatment*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/174>
- Falcão, D., da Mota, L., Pires, A., & Bezerra, A. (2013). Sialometria : aspectos de interesse clínico. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 53(6), 525–531. <http://doi.org/10.1016/j.rbr.2013.03.001>
- Feio, M., & Sapeta, P. (2005). Xerostomia em Cuidados Palitivos. *Acta Medica Port*, 18, 459–466.
- Ferreira, I. C. F. R., & Abreu, R. M. V. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Sociedade Portuguesa de BioAnalistas Da Saúde*, 4(2), 32–39.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15(6), 4324–4333. <http://doi.org/10.3390/molecules15064324>
- Ghayur, M. N., & Gilani, A. H. (2005). Pharmacological Basis for the Medicinal Use of Ginger in Gastrointestinal Disorders. *Digestive Diseases and Sciences*, 50(10), 1889–1897. <http://doi.org/10.1007/s10620-005-2957-2>
- Ghayur, M. N., Khan, A. H., & Gilani, A. H. (2007). Ginger facilitates cholinergic activity possibly due to blockade of muscarinic autoreceptors in rat stomach fundus. *Pak J Pharm Sci*, 20(3), 231–235.
- Gopal, K. S., Amala, M., & Harshavardhan, B. G. (2016). Effect of Smoking and Chewing Tobacco on resting salivary flowrate and pH. *International Journal of Current Research*, 8(12), 44344–44348.

- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169. <http://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
- Indo, H. P., Yen, H.-C., Nakanishi, I., Matsumoto, K., Tamura, M., Nagano, Y., ... Majima, H. J. (2015). A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 56(1), 1–7. <http://doi.org/10.3164/jcbtn.14>
- Jenifer, H. D., Bhola, S., Kalburgi, V., Warad, S., & Kokatnur, V. M. (2015). The influence of cigarette smoking on blood and salivary super oxide dismutase enzyme levels among smokers and nonsmokersd - A cross sectional study. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(2), 100–105. <http://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.003>
- Karadag, A., Ozelik, B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2, 41–60. <http://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Khan, G. J., Javed, M., & Ishaq, M. (2010). Effect of smoking on salivary flow rate. *Gomal Journal of Medical Sciences*, 8(2), 221–224.
- Khemiss, M., Ben Khelifa, M., & Ben Saad, H. (2017). Preliminary findings on the correlation of saliva pH, buffering capacity, flow rate and consistency in relation to waterpipe tobacco smoking. *Libyan Journal of Medicine*, 12(1), 1289651. <http://doi.org/10.1080/19932820.2017.1289651>
- Kubra, I. R., & Rao, L. J. M. (2012). An impression on Current Developments in the Technology, Chemistry, and Biological Activities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(8), 651–688. <http://doi.org/10.1080/10408398.2010.505689>
- Mardani, H., Ghannadi, A., Rashnavadi, B., & Kamali, R. (2017). The Effect of ginger herbal spray on reducing xerostomia in patients with type II diabetes. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 7(4), 308–316. <http://doi.org/10.22038/AJP.2017.8755>
- Martín-Piedra, M. A., Aguilar-Salvatierra, A., Herrera, D., & Gómez-Moreno, G. (2011). Effectiveness of a recent topical sialogogue in the management of drug-induced xerostomia. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 3(4), 268–273. <http://doi.org/10.4317/jced.3.e268>
- Mese, H., & Matsuo, R. (2007). Salivary secretion, taste and hyposalivation. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34, 711–723. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2007.01794.x>
- Morais, Z. B., Pintão, A. M., Costa, I. M., Calejo, T., Bandarra, N. M., & Abreu, P. (2009). Composition and In Vitro Antioxidant Effects of Jellyfish *Catostylus tagi* from Sado Estuary (SW Portugal). *Journal of Aquatic Food Product Technology*,

18, 90–107. <http://doi.org/10.1080/10498850802581799>

- Navazesh, M. (1993). Methods for Collecting Saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694, 72–77. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>
- Navazesh, M., & Kumar, S. K. S. (2008). Measuring salivary flow - Challenges and opportunities. *The Journal of the American Dental Association*, 139, 35S–40S. <http://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0353>
- Nikkhah, E., Khayami, M., & Heitari, R. (2008). In Vitro Screening for Antioxidant Activity and Cancer Suppressive Effect of Blackberry (*Morus Nigra*). *Iranian Journal of Botany*, 1(4), 2005–2008. <http://doi.org/10.13140/RG.2.1.5060.6163>
- Nishikawa, M., Kudo, M., Kakemizu, N., Ikeda, H., & Okubo, T. (1996). Role of Superoxide Anions in Airway Apyerresponsiveness Induced by Cigarette Smoke in Conscious Guinea Pigs. *Lung*, 174(5), 279–289. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8843054>
- Petrušić, N., Posavac, M., Sabol, I., & Mravak-Stipetić, M. (2015). The Effect of Tobacco Smoking on Salivation. *Acta Stomatologica Croatica*, 49(4), 309–315. <http://doi.org/10.15644/asc49/4/6>
- Prabha, M. R., & Vasantha, K. (2011). Antioxidant, cytotoxicity and polyphenolic content of calotropis procera (A it.) R. Br. Flowers. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(7), 136–140.
- Prasad, S., & Tyagi, A. K. (2015). Ginger and its Constituents: Role in prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer. *Gastroenterology Research and Practice*, 1–11. <http://doi.org/10.1155/2015/142979>
- Rad, M., Kakoie, S., Brojeni, F. N., & Pourdamghan, N. (2010). Effect of Long-term Smoking on Whole-mouth Salivary Flow Rate and Oral Health Maryam. *Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 4(4), 110–114.
- Rahmani, A. H., Al shabrmi, F. M., & Aly, S. M. (2014). Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities, 6(2), 125–136. [http://doi.org/10.1016/0029-7844\(94\)00457-O](http://doi.org/10.1016/0029-7844(94)00457-O)
- Rahmani, A. H., Shabrmi, F. M. Al, & Aly, S. M. (2014). Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 6(2), 125–136. [http://doi.org/10.1016/0029-7844\(94\)00457-O](http://doi.org/10.1016/0029-7844(94)00457-O)
- Reznick, A. Z., Klein, I., Eiserich, J. P., Cross, C. E., & Nagler, R. M. (2003). Inhibition of oral peroxidase activity by cigarette smoke: In vivo and in vitro studies. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(3), 377–384. [http://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01297-2](http://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01297-2)

- Sabli, F., Mohamed, M., Rahmat, A., Ibrahim, H., & Abu Bakar, M. F. (2012). Antioxidant Properties of Selected Etiligera ans Zingiber Species (Zingiberceae) from Borneo Island. *International Journal of Biological Chemistry*, 6(1), 1–9.
- Sala, E. C., & Garcia, P. (2013). *Odontologia preventiva y comunitaria, principios, métodos y aplicaciones* (3<sup>a</sup> edición). Barcelona, España: Elsevier Masson.
- Simão, A. R. F., Mesquita, M. F. de, Patto, V. J., & da Mata, A. (2016). *O Efeito da Ingestão de uma Infusão de Gengibre no Fluxo Salivar, Grau de Xerostomia e Qualidade de vida em indivíduos com Síndrome de SjÖgren Primário do Instituto Português de Reumatologia*. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.
- Terry, R., Posadzki, P., Watson, L. K., & Ernst, E. (2011). The use of ginger (*Zingiber officinale*) for the treatment of pain: a systematic review of clinical trials. *Pain Med*, 12(12), 1808–1818. <http://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2011.01261.x>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669–675. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Gören, A. C., Alwasel, S. H., & Köksal, E. (2016). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 556–566. <http://doi.org/10.1007/s11694-016-9423-z>
- Tommasi, A. F., & Lima, A. A. S. de. (2014). Semiologia das Glândulas Salivares. In *Diagnóstico em Patologia Bucal* (4 ed, pp. 276–284). Elsevier Ltd.
- Trandafir, V., Trandafir, D., Gogalniceanu, D., Popescu, E., Vicol, C., & Burlui, V. (2011). TOBACCO-INDUCED ORAL MUCOSAL MODIFICATIONS. *International Journal of Medical Dentistry*, 1(1), 84–91.
- Tschope, P., Wolgin, M., Pischon, N., & Kielbassa, A. M. (2010). Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health. *Quintessence International*, 41(4), 321–333. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20305867>
- Villa, A., Connell, C. L., & Abati, S. (2015). Diagnosis and management of xerostomia and hyposalivation. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, 45–51. <http://doi.org/10.2147/TCRM.S76282>
- Waterhouse, J. P., Chisholm, D. M., Winter, R. B., Patel, M., & Yale, R. S. (1973). Replacement of functional parenchymal cells by fat and connective tissue in human submandibular salivary glands: An age-related change. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2(1), 16–27. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1973.tb01670.x>
- Yamauchi, Y., Matsuno, T., Omata, K., & Satoh, T. (2017). Relationship between

hyposalivation and oxidative stress in aging mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 61(1), 40–46. <http://doi.org/10.3164/jcbrn.16>

- Yeh, H., Chuang, C., Chen, H., Wan, C., Chen, T., & Lin, L. (2014). Bioactive components analysis of two various gingers (*Zingiber officinale* Roscoe) and antioxidant effect of ginger extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 55, 329–334. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.003>
- Yu, H. H., Liu, X. G., Xing, R. E., Liu, S., Guo, Z. Y., Wang, P. B., ... Li, P. C. (2006). In vitro determination of antioxidant activity of proteins from jellyfish *Rhopilema esculentum*. *Food Chemistry*, 95(1), 123–130. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.025>
- Zadeh, J. B., & Kor, N. M. (2014). Physiological and pharmaceutical effects of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe ) as a valuable medicinal plant. *European Journal of Experimental Biology*, 4(1), 87–90.
- Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310–316. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>

## ANEXOS

### Anexo 1 – Autorização da Comissão de Ética da Egas Moniz

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 582

Ex.ma Senhora  
**Margarida Antunes da Silva**

Monte de Caparica, 27 de setembro de 2017.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“O efeito da infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores”** foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz

  
Prof.ª. Doutora Maria Fernanda de Mesquita



## Anexo 2 – Consentimento Informado



### Consentimento Informado

Código | IMP:EM,PE,17\_02

Monte de Caparica, de de 2017

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular de Orientação Tutorial de Projeto Final do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob a orientação da Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita e coorientação do Professor Doutor Carlos Zagalo e Professora Doutora Margarida Moncada, solicita-se autorização para a participação no estudo com o tema “O efeito da infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores” com o objetivo de avaliar a ingestão da infusão de gengibre no fluxo salivar, em indivíduos fumadores com diminuição de fluxo salivar.

O estudo terá uma duração de 28 dias e a recolha da informação é repartida por dois momentos: 1ª avaliação no início do estudo e 2ª avaliação ao fim de 28 dias.

A participação neste estudo é voluntária e implica:

- Realização de Sialometria: técnica de medição do fluxo de saliva não estimulado e estimulado (com recurso a pastilha de parafina) com duração de 5 minutos cada – no início e no fim do estudo.

Cada participante com diminuição do fluxo salivar irá ingerir a infusão de gengibre (250 ml) 3x por dia – meio da manhã, lanche e ceia, à temperatura ambiente.

A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação e será tratada pelos orientadores e pelos seus mandatados. A sua recolha é anónima e confidencial.

*(Riscar o que não interessa)*

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

---

*(Assinatura do participante)*



## Anexo 3 – Questionário Sociodemográfico



### Questionário Sociodemográfico

“O efeito da infusão de gengibre no fluxo salivar em indivíduos fumadores”

Este questionário enquadra-se num estudo realizado no âmbito de Dissertação de Mestrado do Mestrado Integrado em Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. O presente trabalho encontra-se a ser realizado pela aluna Margarida Andrade Mira Antunes da Silva, orientado pela Professora Doutora Maria Fernanda de Mesquita e coorientado pelo Professor Doutor Carlos Zagalo e pela Professora Doutora Margarida de Moncada.

Os resultados obtidos serão utilizados meramente para fins académicos e científicos, estando desde já assegurado todo o sigilo da identificação dos sujeitos participantes no estudo. O presente questionário é totalmente anónimo.

Nº de Identificação: \_\_\_\_\_

1. **Idade:** \_\_\_\_\_
2. **Sexo:** \_\_\_\_\_
3. **Há quantos anos fuma:** \_\_\_\_\_
4. **Quantos cigarros fuma por dia:** \_\_\_\_\_



#### **Anexo 4 – Informações para o doente**

- ❖ Beber 250 mL do chá de gengibre **3 vezes ao dia** (meio da manhã, lanche e ceia) durante 28 dias;
- ❖ Não esquecer a segunda avaliação após 28 dias (Dia: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ );

**No dia da segunda avaliação** não podem lavar os dentes, fumar, comer ou beber durante 1-2 horas antes da avaliação.

#### **Para fazer o chá:**

- ❖ Ferver 250 mL de água (250 mL para uma dose);
- ❖ Acrescentar o gengibre (uma saqueta – 0,5g) à água fervida e mexer;
- ❖ Deixar repousar durante 5-10 minutos até atingir a temperatura ambiente;
- ❖ Bochechar durante a ingestão da infusão.

**Nota:** Cada saqueta de gengibre é para uma dose.

Se tiver alguma dúvida contacte-me.

Muito obrigada pela sua colaboração,

Margarida da Silva (914126407)