

Como citar este artigo:

Shitsuka C, Ibuki FK, Nogueira FN, Mendes FM, Bönecker M. Avaliação do estresse oxidativo da saliva de crianças com erosão dentária. *einstein* (São Paulo). 2018;16(2):eAO4203.

Autor correspondente:

Caleb Shitsuka
Rua Amaral Gama, 349 – Santana
CEP: 02018-001 – São Paulo, SP, Brasil
Tel.: (11) 98779-7442 – E-mail: caleb@usp.br

Data de submissão:

11/8/2017

Data de aceite:

9/1/2018

Conflitos de interesse:

não há.

Copyright 2018

Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

ARTIGO ORIGINAL

Avaliação do estresse oxidativo da saliva de crianças com erosão dentária

Assessment of oxidative stress in saliva of children with dental erosion

Caleb Shitsuka¹, Flávia Kazue Ibuki¹, Fernando Neves Nogueira¹, Fausto Medeiros Mendes¹, Marcelo Bönecker¹

¹ Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

DOI: 10.1590/S1679-45082018AO4203

RESUMO

Objetivo: Avaliar o estresse oxidativo da saliva de crianças que possuíam erosão dentária, comparadas àquelas que não apresentavam esta situação. **Métodos:** Um único examinador, treinado e calibrado para o diagnóstico de erosão dentária, segundo o índice de *Basic Erosive Wear Examination*, selecionou 40 crianças de 4 a 6 anos de idade que frequentavam uma clínica de prevenção de odontopediatria. Dois grupos foram formados - um com aquelas que apresentavam erosão (n=22) e outro sem erosão (n=18). A quantidade do biofilme dental foi obtida utilizando o Índice de Higiene Oral Simplificado, tendo sido feita a coleta de saliva não estimulada para as análises bioquímicas. O fluxo salivar, a capacidade tampão da saliva, o pH salivar e a proteína total da saliva foram avaliados. Também foi verificado o valor do malondialdeído para determinação do estresse oxidativo e o total antioxidante. **Resultados:** A quantidade de biofilme foi menor nas crianças, com erosão dentária média ± desvio padrão (0,76 ± 0,25) comparadas àquelas sem erosão dentária (1,18 ± 0,28). Não houve diferença estatística nos parâmetros salivares de estresse oxidativo em crianças com erosão dentária. **Conclusão:** A ação do estresse oxidativo na saliva não influenciou na erosão dentária, quando ainda nos estágios iniciais.

Descritores: Erosão dentária; Saliva; Estresse oxidativo; Odontopediatria

ABSTRACT

Objective: To evaluate oxidative stress in saliva of children with dental erosion as compared to children with no erosion. **Methods:** One single examiner, trained and prepared to make diagnosis of dental erosion according to the Basic Erosive Wear Examination index, selected 40 children aged 4 to 6 years, who attended a pediatric dentistry prevention clinic. Two groups were formed - one comprising children with dental erosion (n=22), and another with no dental erosion (n=18). The quantity of dental biofilm was verified using the Simplified Index of Oral Hygiene, and unstimulated saliva was collected for biochemical analyses. The following were assessed in saliva: flow rate, buffering capacity, pH, and total protein concentration. Malondialdehyde levels were also verified to determine oxidative stress and total antioxidant status. **Results:** The quantity of biofilm was smaller in children with mean dental erosion ± standard deviation (0.76 ± 0.25), as compared to those with no dental erosion (1.18 ± 0.28). There was no statistical difference in saliva parameters of oxidative stress in children with dental erosion. **Conclusion:** The activity of oxidative stress in saliva did not influence dental erosion process when in its early stages.

Keywords: Tooth erosion; Saliva; Oxidative stress; Pediatric dentistry

I INTRODUÇÃO

A erosão dentária é um problema de saúde bucal que afeta principalmente crianças e adolescentes, pelas recentes mudanças no estilo de vida.⁽¹⁾ É ocasionada por um processo químico de perda irreversível da estrutura mineral e superficial dos dentes, decorrente de uma agressão ácida sem o envolvimento bacteriano.⁽²⁾ Sua etiologia é complexa e multifatorial, podendo ser de origem intrínseca, quando associada à chegada do ácido gástrico na cavidade bucal ou de origem extrínseca, ocasionada principalmente pelo alto consumo de alimentos e bebidas ácidas.⁽³⁾ Nos últimos anos, a erosão dentária tem estado em evidência, principalmente devido à sua alta e crescente prevalência. Este problema tem se tornado uma preocupação para os pacientes, especialmente quando ela alcança um estágio mais avançado, podendo causar perda na função e estética, como também gerar desconforto. Nesses casos, o tratamento se torna um desafio para os profissionais da saúde.⁽³⁾

Para evitar o agravamento desse problema, os cirurgiões-dentistas podem utilizar medidas preventivas, como uso terapêutico de fluoretos e orientação da dieta alimentar. O próprio organismo apresenta importante forma de proteção natural presente no meio bucal, que é o fluido salivar.⁽⁴⁾

A saliva age de diversas maneiras no processo de proteção dos dentes contra a erosão dentária, pois possui muitas propriedades físico-químicas que desempenham funções específicas de proteção da estrutura dentária, como diluição de substâncias ácidas erosivas na cavidade bucal por meio do fluxo salivar, neutralização e tamponamento dos ácidos pelo pH, e também o fornecimento de íons de cálcio e fosfato.^(5,6)

Uma importante função protetora presente na saliva e ainda pouco estudada é o sistema antioxidante, responsável por controlar os danos oxidativos. Ele é considerado a primeira linha de defesa para o estresse oxidativo, que pode causar danos celulares e levar até a morte da célula.⁽⁷⁾

Quando o estresse oxidativo está presente no meio bucal, os danos celulares são maiores, ocasionando alteração na formação e possível diminuição na quantidade do biofilme dental, que é considerado fator de proteção contra a erosão dentária, ao agir como barreira mecânica. A diminuição na quantidade de biofilme dental diminui a proteção contra a agressão ácida nos dentes, podendo tornar-se um agravante para este problema de saúde bucal.⁽⁷⁾

Este estresse oxidativo tem sido apontado como importante contribuinte para diversas doenças inflamatórias, crônicas e degenerativas, incluindo patologias orais, como as doenças cárie e periodontal. Apesar destas in-

formações, pouco se conhece sobre a atividade do sistema antioxidante em crianças com erosão dentária.

I OBJETIVO

Avaliar o estresse oxidativo da saliva de crianças com erosão dentária em relação àquelas que não apresentam problema de saúde bucal.

I MÉTODOS

Este estudo transversal foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (USP), parecer 177.451, CAAE: 11100412.7.0000.0075.

O estudo foi composto por amostra de 40 crianças na faixa etária de 4 a 6 anos de idade, que passavam em atendimento na Clínica de Odontopediatria e Prevenção da Faculdade de Odontologia da USP nos anos de 2013 e 2014. A amostra foi dividida em dois grupos, sendo o primeiro grupo (n=18) para crianças sem erosão dentária e o segundo grupo (n=22), para crianças com erosão.

De acordo com os critérios estabelecidos, as crianças e os respectivos responsáveis que frequentavam a clínica foram convidados a participar. Caso o responsável aceitasse, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi preenchido e assinado por ele; na sequência, as crianças eram levadas para a realização do exame clínico.

A quantidade do biofilme dental foi feita utilizando o Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S), que avalia a superfície de alguns dentes, para mensurar a quantidade de biofilme e a condição de higiene oral do paciente.⁽⁸⁾ O exame clínico foi realizado com auxílio de um evidenciador de placa (fucsina 3%), aplicado sobre as superfícies dentais com um cotonete.

O diagnóstico de erosão dentária foi realizado por um único examinador, treinado e calibrado. O examinador foi submetido a duas sessões de 4 horas cada, de treinamento e calibração com exercícios de diagnóstico da erosão, utilizando 20 imagens de fotos clínicas, e 20 dentes extraídos e concedidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da USP, com diferentes graus de desgaste. O valor do teste Kappa para confiabilidade intraexaminador foi de 0,89.

Para realizar o exame clínico de diagnóstico da erosão, foi utilizado o isolamento relativo, com roletes de algodão e secagem com jato de ar, espelho clínico número 5 e iluminação pelo refletor. O índice utilizado para registro das lesões de erosão presentes foi o *Basic Erosive Wear Examination* (BEWE).⁽⁹⁾

Após os exames clínicos, as crianças foram convidadas para voltar outro dia para realizar a coleta de saliva

padronizada, para que não ocorressem alterações com relação ao conteúdo e ao ritmo circadiano. Todas elas foram orientadas previamente a não fazerem a higiene bucal e a estarem em dieta por, pelo menos, 2 horas, antes da saliva ser coletada.

Realizou-se a coleta da amostra salivar não estimulada sempre no período entre 14h e 16h. Antes da coleta, foi dado a cada criança um copo com água destilada, para ela fazer um bochecho por 30 segundos e cuspir. Posteriormente, a criança foi orientada a acumular a saliva no assoalho da boca e deixar escorrer, gotejando-a em um tubo de plástico graduado por um período inicial de 10 minutos, que foi controlado por cronômetro digital.

A avaliação do fluxo salivar, da capacidade tampão da saliva e do pH salivar foi feita logo após a coleta de saliva e anotada na ficha de coleta salivar. Imediatamente após a coleta as amostras foram mantidas em gelo e, em seguida, armazenadas sob baixas temperaturas (-80°C), para não perderem suas propriedades químicas.

Durante a coleta da amostra de saliva, a velocidade do fluxo salivar foi determinada pela relação entre o volume coletado e o tempo de 10 minutos, expressa em mL/minuto.

Em seguida utilizou-se uma pipeta de vidro graduada para coletar 1mL da saliva contida no tubo de plástico graduado. Esta amostra de 1mL de saliva foi colocada em outro tubo de plástico graduado, que também tinha sido mantido em gelo com baixas temperaturas.

Para estimar o pH inicial da saliva, utilizou-se o pHmetro portátil digital UltraBASIC UB-10 (Denver Instrument, Bohemia, NY), que foi calibrado por meio de imersão do eletrodo em duas soluções diferentes, seguindo instruções do fabricante, com valores conhecidos de pH.

A capacidade tampão foi determinada por titulação com solução de HCl 0,01N, imediatamente após a coleta da amostra salivar e as avaliações de fluxo salivar e pH inicial. Utilizando o fragmento de 1mL de saliva selecionado no tubo de plástico graduado, foram adicionados 0,2mL de HCl 0,01N com o auxílio de uma pipeta de vidro. A ponta do medidor de pH (eletrodo) foi lavada com água destilada e seca com papel absorvente para que fosse realizada nova medição, agora com o ácido adicionado à amostra salivar. Esse processo foi repetido sempre com a adição de 0,2mL de HCl, e o valor de pH foi anotado na ficha clínica, até que o valor do pH $\leq 5,5$.

Assim, foram obtidos dados relativos à capacidade tampão total, e representaram-se os três principais tampões com valores da escala do pH: até 7, entre 6,9 e 6, e entre 5,9 e 5,5. Armazenou-se a quantidade remanescente das amostras salivares a -80°C para, posteriormente, ser avaliada no laboratório.

O total antioxidante (TAS - *total antioxidant status*) foi determinado de acordo com as orientações contidas no Kit TAS (Randox, UK). Neste método, o reagente ABTS é incubado com a peroxidase e com o peróxido de hidrogênio, para produzir o radical ABTS, cuja coloração estável é verde-azulada e pode ser medida a 600nm. Para este método, foram utilizadas cubetas de plástico, e a reação foi acompanhada espectrofotometricamente em duplicatas.

O estresse oxidativo foi determinado por peroxidação lipídica e seguiu o método descrito por Karatas et al.,⁽¹⁰⁾ que se baseia na determinação de malondialdeído (MDA) através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *high-performance liquid chromatography*).

O preparo da amostra foi feito com a homogeneização de 0,5mL da amostra de saliva em 1,75mL de ácido perclórico 0,4M por 1 minuto. Essa mistura foi mantida no gelo por 30 minutos e, na sequência, foi centrifugada a 27.000g, por 10 minutos. O sobrenadante foi retirado e neutralizado com K_2CO_3 5M (4uL para 50uL de sobrenadante) e colocado em espera por 1 hora, a -80°C .

Para o preparo dos padrões, foram diluídos 5uL de tetraetoxipropano em 5mL de HCl 0,01N. Foram retirados 0,5mL dessa solução em 50mL de H_2O .

A leitura foi feita em duplicata através de HPLC, com leitura de 254nm, com tempo total de 5 minutos.

Análise estatística

Todos os dados (fichas clínicas e laboratoriais) foram inseridos em planilha do programa *Microsoft Excel* e conferidos posteriormente pelo próprio pesquisador. Para análise estatística, os dados foram transferidos para o programa *Stata* versão 9.0 (Stata Corp LP, College Station, EUA). Inicialmente, para fazer a comparação entre os grupos de crianças com erosão dentária e do grupo de crianças sem erosão dentária, foi realizado o teste Kolmogorov-Smirnov de normalidade e, na sequência, também foi feito o teste paramétrico “*t*” de *Student*. Para todas as variáveis estudadas, o nível de significância foi estabelecido com 5%.

RESULTADOS

Um total de 40 crianças participou deste estudo, sendo 22 (55%) crianças do sexo feminino, 22 (55%) com erosão nos dentes e 18 (45%) sem esse problema de saúde bucal. A média \pm desvio padrão de idade das crianças do grupo com erosão dentária foi de $5,50 \pm 0,74$ anos e, das crianças do grupo sem erosão, foi de $5,16 \pm 0,85$ anos.

A análise do teste “*t*” de *Student* mostrou que a média do IHO-S (quantidade de biofilme) foi menor ($p < 0,0001$) nas crianças que apresentavam erosão den-

tária, comparadas com aquelas sem lesões erosivas nos dentes (Tabela 1).

As variáveis relacionadas com o sistema antioxidante são expressas na tabela 2. Não houve alterações para os valores de MDA e TAS.

Tabela 1. Análise entre possíveis fatores relacionados com a erosão dentária em crianças

Variáveis	Sem erosão Média (DP)	Com erosão Média (DP)	Valor de p*
IHO-S	1,18 (0,28)	0,76 (0,25)	<0,0001
Fluxo salivar, mL/minuto	0,26 (0,09)	0,26 (0,07)	0,998
pH inicial	7,16 (0,14)	7,26 (0,23)	0,107
Capacidade tampão total, mL (HCl 0,01N)	1,12 (0,21)	1,23 (0,17)	0,071
Capacidade tampão por faixa de pH, mL (HCl 0,01N)			
pH -7,0	0,30 (0,14)	0,39 (0,20)	0,124
6,9-6,0	0,55 (0,16)	0,62 (0,18)	0,209
5,9-5,0	0,26 (0,09)	0,22 (0,07)	0,145

* Calculado pelo teste "t" de Student (p<0,05).

DP: desvio padrão; IHO-S: Índice de Higiene Oral Simplificado.

Tabela 2. Análise do total antioxidante e estresse oxidativo relacionados com a erosão dentária em crianças

Variáveis	Sem erosão Média (DP)	Com erosão Média (DP)	Valor de p*
MDA, nM/mL	1.427,5 (1.701,0)	2.895,4 (4.057,6)	0,178
TAS, nM/mL	5.559,2 (5.839,2)	15.332,06 (35.372,4)	0,255

* Calculado pelo teste "t" de Student (p<0,05).

DP: desvio padrão; MDA: malondialdeído; TAS: total antioxidante.

DISCUSSÃO

Apesar da alta prevalência de erosão dentária na população, principalmente em crianças e jovens, esse problema de saúde bucal encontra-se, na maioria dos casos, em estágios iniciais, nos quais as lesões geralmente são observadas no esmalte.⁽¹¹⁻¹³⁾ No presente estudo, das 22 crianças diagnosticadas com erosão pelo índice de BEWE, 86% apresentavam baixo risco de erosão dentária.

Apontado como proteção natural da superfície dental, o biofilme dental pode agir como uma barreira física contra o desafio ácido erosivo,^(7,11,14) e atuar de maneira seletiva, impedindo a saída de cálcio e fosfato.⁽¹⁵⁾ Este conhecimento está de acordo com os achados do nosso estudo, no qual as crianças com erosão dentária tinham uma quantidade de biofilme menor (p<0,0001), sendo a média±desvio padrão de 0,76±0,25, se comparadas com as crianças sem erosão (1,18±0,28).

Existem também outras mudanças que podem ocorrer na cavidade bucal, como no pH e na temperatura, que influenciam na microbiota bucal, podendo modificar o biofilme dental.⁽¹⁶⁾ Com relação ao pH salivar, não houve alteração entre os grupos estudados, de acordo com estudos anteriores.⁽¹⁷⁻²⁰⁾

A média do fluxo salivar para a coleta de saliva não estimulada entre as crianças com e sem erosão dentária foi de 0,26mL/minuto, o que condiz com a média da população em geral (0,3mL/minuto),⁽²¹⁾ levando em conta que o fluxo salivar na dentição decídua é menor do que na permanente.⁽²²⁾ Estes achados corroboram outros estudos que mostraram não haver relação entre o fluxo salivar e erosão dentária.^(17,18,20) Apenas um estudo expôs que a média do fluxo salivar dos que apresentavam erosão dentária foi menor do que aqueles que não tinham esse problema de saúde.⁽¹⁹⁾

A capacidade tampão da saliva tem a função protetora de resistência do pH a uma indução ácida. Nossos dados não mostraram haver relação entre essa capacidade de proteção e crianças com erosão dentária, estando de acordo com outros estudos.⁽¹⁷⁻¹⁹⁾

A amostra do presente estudo foi composta por crianças de 4 a 6 anos com a dentição decídua. Essa escolha foi feita para minimizar as alterações do sistema antioxidante diante de quadros de inflamação que poderiam existir no processo de irrompimento dos dentes.⁽²³⁾

As análises do TAS e do estresse oxidativo não mostraram diferença estatística na saliva não estimulada de crianças com erosão dentária. A maioria das crianças foi diagnosticada como possuindo baixo risco de erosão, então não se sabe a atuação TAS e do estresse oxidativo diante um quadro de lesões mais severas.

Não foi possível fazer a relação entre o TAS e o estresse oxidativo na saliva de crianças com um risco severo de erosão dentária, devido a uma limitação do estudo, que adotou amostra de conveniência. Possivelmente, em estágios mais avançados da erosão dentária, a camada mais superficial formada de uma matriz orgânica desmineralizada na dentina, que atua como uma camada protetora contra a progressão da perda mineral,⁽²⁴⁻²⁵⁾ poderia sofrer influências do estresse oxidativo e do TAS presentes na saliva.

Apesar da ação direta do TAS e do estresse oxidativo não influenciarem na erosão dentária, eles podem ter influenciado na formação do biofilme dental. Isso é apontado em alguns estudos em que o sistema antioxidante age como regulador na formação do biofilme dental e, assim, apresenta relação com algumas doenças bucais, como doenças periodontais e cárie.⁽²⁶⁻²⁸⁾ Mais estudos são necessários para compreender essa possível relação em pacientes com erosão.

CONCLUSÃO

Crianças com erosão dentária tinham uma quantidade de biofilme dental menor do que aquelas sem erosão. Não houve alteração no total antioxidante, nem nos valores de malondialdeído (estresse oxidativo) na saliva de crianças com erosão dentária em estágios iniciais.

REFERÊNCIAS

- Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:55-73. Review.
- Shitsuka C, Tello G, Corrêa MS. [Erosive tooth wear in infants, children and adolescents: a contemporary view]. *Rev Odontol.* 2016;19(2):100-8. Review. Spanish.
- Schlueter N, Jaeggi T, Lussi A. Is dental erosion really a problem? *Adv Dent Res.* 2012;24(2):68-71. Review.
- Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent.* 2005;33(2):223-33. Review.
- Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2012;20(5):493-502. Review.
- Hara AT, Zero DT. The potential of saliva in protecting against dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:197-205. Review.
- Honório HM, Rios D, Santos CF, Buzalaf MA, Machado MA. Influence of dental plaque on human enamel erosion: in situ/ex vivo study. *Oral Health Prev Dent.* 2010;8(2):179-84.
- Greene JC, Vermillion JR. The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc.* 1964;68:7-13.
- Bartlett D, Ganss C, Lussi A. Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Investig.* 2008;12(Suppl 1):S65-8.
- Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem.* 2002;311(1):76-9.
- Salas MM, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: an epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *J Dent.* 2015;43(1):42-50. Review.
- Abanto J, Shitsuka C, Murakami C, Ciamponi AL, Raggio DP, Bönecker M. Associated factors to erosive tooth wear and its impact on quality of life in children with cerebral palsy. *Spec Care Dentist.* 2014;34(6):278-85.
- Murakami C, Tello G, Abanto J, Oliveira LB, Bonini GC, Bönecker M. Trends in the prevalence of erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Int J Paediatr Dent.* 2016;26(1):60-5.
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):2-12. Review.
- Larsen MJ, Ravnholt G. Dissolution of various calcium fluoride preparations in inorganic solutions and in stimulated human saliva. *Caries Res.* 1994;28(6):447-54.
- Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl 11):28-35. Review.
- Järvinen VK, Rytömaa II, Heinson OP. Risk factors in dental erosion. *J Dent Res.* 1991;70(6):942-7.
- Wang P, Zhou Y, Zhu YH, Lin HC. Unstimulated and stimulated salivary characteristics of 12-13-year-old schoolchildren with and without dental erosion. *Arch Oral Biol.* 2011;56(11):1328-32.
- Zwier N, Huysmans MC, Jager DH, Ruben J, Bronkhorst EM, Truin GJ. Saliva parameters and erosive wear in adolescents. *Caries Res.* 2013;47(6):548-52.
- Bardow A, Lykkeaa AJ, Qvist V, Ekstrand K, Twetman S, Flehn NE. Saliva composition in three selected groups with normal stimulated salivary flow rates, but yet major differences in caries experience and dental erosion. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(6):466-73.
- Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85(2):162-9. Review.
- Santos VL, Long SM. [Dental caries risk evaluation through CEO-D index determination and salivar tets (salivar flow and buffer capacity) in children with deciduous dentition from 3 to 6 years old]. *Rev ABO Nac.* 1994;2(4):253-61. Portuguese.
- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000;408(6809):239-47. Review.
- Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I, Newman HN, Bullon P. The antioxidant capacity of saliva. *J Clin Periodontol.* 2002;29(3):189-94. Review.
- Kato MT, Leite AL, Hannas AR, Calabria MP, Magalhães AC, Pereira JC, et al. Impact of protease inhibitors on dentin matrix degradation by collagenase. *J Dental Res.* 2012;91(12):1119-23.
- Hegde AM, Rai K, Padmanabhan V. Total antioxidant capacity of saliva and its relation with early childhood caries and rampant caries. *J Clin Pediatr Dent.* 2009;33(3):231-4.
- Honma K, Mishima E, Inagaki S, Sharma A. The OxyR homologue in *Tannarella forsythia* regulates expression of oxidative stress responses and biofilm formation. *Microbiology.* 2009;155(Pt 6):1912-22.
- Kumar D, Pandey RK, Agrawal D, Agrawal D. An estimation and evaluation of total antioxidant capacity of saliva in children with severe early childhood caries. *Int J Paediatr Dent.* 2011;21(6):459-64.