

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

AMANDA DOS SANTOS PINTO FERREIRA

**PARÂMETROS SALIVARES EM PACIENTES
SUBMETIDOS À GASTROSTOMIA**

BAURU

2016

AMANDA DOS SANTOS PINTO FERREIRA

**PARÂMETROS SALIVARES EM PACIENTES
SUBMETIDOS À GASTROSTOMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do título de Cirurgiã dentista em odontologia sob orientação da Profa. Dra. Sara Nader Marta.

BAURU

2016

Ferreira, Amanda dos Santos Pinto

F3831p

Parâmetros salivares em pacientes submetidos à
gastrostomia / Amanda dos Santos Pinto Ferreira. -- 2016.
29f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Sara Nader Marta.

Coorientadora: Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia)
- Universidade do Sagrado Coração - Bauru – SP

1. Paralisia cerebral. 2. Gastrostomia. 3. Saliva. 4. Refluxo.
I. Marta, Sara Nader. II. Kato, Melissa Thiemi Kato. III. Título.



ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ata de Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de Amanda dos Santos Pinto Ferreira.

Ao dia vinte de outubro de dois mil e dezesseis, reuniu-se a banca examinadora do trabalho apresentado como Trabalho de Conclusão de Curso em Odontologia de AMANDA DOS SANTOS PINTO FERREIRA intitulado: **"Parâmetros salivares em pacientes submetidos à gastrostomia."** Compuseram a banca examinadora os professores Dra. Sara Nader Marta, (orientadora), Dra. Solange de Oliveira Braga Franzolin e Dra. Melissa Thiemi Kato. Após a exposição oral, a candidata foi arguida pelos componentes da banca que se reuniram, e decidiram, aprovada, com a nota 10,0 a monografia. Para constar, fica redigida a presente Ata, que aprovada por todos os presentes, segue assinada pela Orientadora e pelos demais membros da banca.

Dra. Sara Nader Marta (Orientadora)

Dra. Solange de Oliveira Braga Franzolin (Avaliador 1)

Dra. Melissa Thiemi Kato (Avaliador 2)

Dedico esse trabalho a meu avô Ruy dos Santos Pinto e à minha avó Mercês Cunha dos Santos Pinto que fundaram o CAOÉ de Araçatuba que assiste pacientes especiais e que me motivaram a sempre ajudar essas pessoas e ter um carinho e amor especial por elas.

E dedico à minha mãe Nancy dos Santos Pinto Ferreira que é a peça chave de tudo isso. Ela trabalha no CAOÉ de Araçatuba e sempre me levou até lá e me ensinou como amar essas pessoas mais que especiais. E por vê-la ser tratada com tanto carinho, amor e respeito por seus pacientes, e a felicidade que ela lhes proporcionava, fez com que eu quisesse fazer parte de alguma forma, para conseguir ganhar esse sorriso que ela recebe a cada dia em seu trabalho. Pois o sorriso é a única linha torta que endireita a vida.

AGRADECIMENTO

Agradeço, primeiramente, à Profa. Dra. Melissa Thiemi Kato pela dedicação a meu projeto, por me instruir tão bem e auxiliar-me sempre, tanto no desenvolvimento quanto na escrita deste trabalho. Nesse período ela engravidou, mas isso não foi problema nenhum para nós, pois ela sempre esteve presente. Sofremos juntas com as dificuldades encontradas no meio do percurso, tanto na coleta quanto nos experimentos difíceis de serem desenvolvidos. Agradeço ao Davi, seu filhinho que logo ao nascer, já roubei sua mamãe por algumas horinhas para fazer com que tudo saísse perfeito!

Agradeço à Profa. Dra. Sara Nader Marta por cuidar desses pacientes especiais de uma forma toda especial, sempre carinhosa e muito cuidadosa e, por pensar tanto neles, me ajudar a desenvolver este projeto maravilhoso.

Agradeço muito à Ms. Heloísa Aparecida Barbosa da Silva que me auxiliou no desenvolvimento dos experimentos que, também, várias vezes largou tudo para poder me ajudar. Quantas vezes pediu para cuidarem de sua filha, pois nosso experimento tinha dado tudo errado e tivemos que ficar até tarde refazendo-o, graças a ela, deu tudo certo.

Agradeço ao Wilson Aparecido Orcini que, mesmo com várias dificuldades encontradas, nunca desistiu de me ajudar e me ensinar sempre criando novas formas para resolver nossos problemas. Para ele não existe a palavra não dá certo, ele faz dar certo.

Agradeço à professora Vivian Biella Passos que me ajudou a coletar saliva dos pacientes da APAE.

Agradeço aos pais e aos pacientes que confiaram em nosso trabalho, que passaram horas na clínica esperando coletarmos a saliva com tamanha dificuldade. Sem eles não seria possível a concretização de nosso trabalho.

Agradeço a todos os meus colegas que "perderam" algumas horinhas para a coleta de saliva.

Agradeço à Vanilza Aparecida Clara de Assis que agendou os pacientes e estava sempre ali presente.

Agradeço ao CNPq pela confiança depositada, dando-me o privilégio de receber a bolsa para a realização deste trabalho.

Agradeço a Deus sempre, pois tudo isso foi Ele quem me proporcionou.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À Universidade do Sagrado Coração USC, representada pela digníssima reitora Profa. Irmã Susana de Jesus Fadel.

À Pró-Reitoria de Pesquisa, representada pela digníssima Pró-Reitora Sandra de Oliveira Saes.

À profa. Marília Buzalaf por ceder o laboratório de bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, FOB-USP como sede para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq; pelo apoio financeiro concedido em forma de bolsa PIBIC (processo número 126073/2014-7) fundamental para a realização da minha iniciação científica.

RESUMO

O paciente com paralisia cerebral (PC) é frequentemente submetido à gastrostomia, recebendo a alimentação através de sonda, a qual pode causar problemas de manifestação bucal. Estes pacientes apresentam com frequência grande acúmulo de cálculo dental, menor incidência de cárie, mas maior índice de erosão dentária por causa do refluxo gastroesofásico comumente associado à doença. Além disso, uma vez que esses pacientes são submetidos à gastrostomia, a fim de reduzir a incidência de pneumonia, alterações sialoquímicas e sialométricas são esperadas. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar possíveis alterações salivares em pacientes com PC submetidos à gastrostomia. Vinte e cinco sujeitos de pesquisa foram selecionados. Entre eles, 15 com PC e gastrostomia (grupo de estudo), e 10 voluntários saudáveis (controle). Saliva não estimulada foi coletada e foram avaliados o pH salivar, a capacidade tampão, a concentração de proteínas, fosfato e cálcio. Os dados foram analisados pelo teste *t* (capacidade tampão, concentração de fosfato e concentração de cálcio) ou Teste de Mann-Whitey (pH e concentração de proteínas). O nível de significância foi de 5%. O pH e concentração de fosfato para os pacientes com gastrostomia não foi significativamente diferente dos controles, mas sua capacidade tampão, concentração de proteína e cálcio foram significativamente maiores que aqueles observados para os controles. Alterações nesses parâmetros poderiam explicar porque pacientes submetidos à gastrostomia tem excessivo acúmulo de cálculo, apesar de serem alimentados exclusivamente por sonda.

Palavras-chave: paralisia cerebral, gastrostomia, saliva, refluxo.

ABSTRACT

Patients with cerebral palsy (CP) are submitted to gastrostomy, receiving nutrition through tubes, which can cause oral problems. These patients often present higher accumulation of calculus, lower caries incidence, but higher erosion incidence due to the gastroesophageal reflux commonly associated with the disease. In addition, since these patients are submitted to gastrostomy in order to reduce the incidence of pneumonia, sialochemical and sialometric alterations are expected. Thus, the objective of this study was to evaluate possible salivary changes in patients with CP submitted to gastrostomy. Twenty-five subjects were included. Among them, 15 had CP and gastrostomy (study group), while another 10 were healthy (control). The unstimulated saliva was collected for evaluation of pH, buffering capacity, protein, phosphate and calcium concentration. Data were analyzed by *t* test (buffering capacity, phosphate and calcium concentration) or by Mann-Whitney test (pH and protein concentration). The significance level was 5%. The salivary pH and phosphate concentration of the gastrostomy patients did not significantly differ from the controls, but their buffer capacity, protein and calcium concentrations were significantly higher than those observed for the controls. Alterations in these parameters might explain why gastrostomy patients have excessive calculus accumulation, despite being fed exclusively by tubes.

Keywords: Cerebral palsy. Gastrostomy. Saliva. Gastroesophageal reflux.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	10
2 OBJETIVO	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1. ASPECTOS ÉTICOS	11
3.2 COLETA DE SALIVA	11
3.2.1 Fluxo salivar e capacidade tampão	13
3.2.2 Determinação da concentração de proteínas	13
3.2.3 Determinação do fósforo na saliva	14
3.2.4 Determinação do Cálcio presente na saliva	15
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
4 RESULTADOS	17
5 DISCUSSÃO	22
6 CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS	25
ANEXOS	28

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Uma alta prevalência de refluxo gastroesofágico ou doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) tem sido observado em indivíduos com paralisia cerebral (PC).

As enfermidades respiratórias são frequentes nesses pacientes, evidenciando-se as doenças infecciosas como as pneumonias, as quais podem ser responsáveis pela maioria dos óbitos (Kringer, 2006). nesse particular, a falta de higiene bucal (Barbosa et al., 2001), imunossupressão (Gaetti-jardim jr. et al., 2008a), desenvolvimento de alterações inflamatórias de natureza infecciosa nos tecidos periodontais (Gaetti-jardim Jr. et al., 2008a; Gaetti-Jardim jr. et al., 2008b), emprego de medicamentos psicoativos, bem como outros agentes capazes de interferir com a reatividade imunológica dos pacientes, além das condições ambientais estressantes (Glaser e Kiecolt-Glaser, 2005; Curtin et al., 2009) podem criar condições para a implantação de microrganismos superinfectantes, como aqueles associados às infecções respiratórias supramencionadas.

A presença da DRGE, associado à pneumonias e internações recorrentes e perda e/ou não ganho de peso pode levar à indicação da gastrostomia, na qual a alimentação do paciente passa a ser exclusivamente via sonda. A gastrostomia é um procedimento cirúrgico que estabelece o acesso à luz do estômago através da parede abdominal. As vias de acesso, habitualmente empregadas para realização da gastrostomia são: laparotomia, endoscopia e laparoscopia. A profilaxia da infecção de parede abdominal, sobretudo ao redor da sonda, é feita mediante antibioticoterapia profilática intravenosa com cefalosporina (Santos et al. 2011). Destacam-se os principais benefícios observados com a colocação da gastrostomia: ganho de peso, diminuição dos problemas respiratórios e redução de internações (Susin et al. 2012).

A experiência com o atendimento a pacientes com deficiência tem-se mostrado que quando da realização da gastrostomia há mudança no ambiente

bucal, uma vez que o fator alimentação via oral é eliminada. Contudo, observa-se um grande acúmulo de cálculo dental e a redução de incidência de cárie e, em alguns casos, a presença de erosão dentária que é uma condição multifatorial. Com relação à erosão, há diversos mecanismos fisiológicos que são considerados como medidas de propriedades anti-erosivas, incluindo a saliva, a estrutura e composição do dente e movimentos fisiológicos, como a deglutição (Zero, 1996). Um dos principais parâmetros biológicos é a saliva, ela promove proteção contra a erosão ácida de diferentes formas (Zero, 1996). A saliva apresenta ação solvente sobre os ácidos e a liberação gradual de saliva, eliminando os ácidos através da deglutição. Existe a influência da película adquirida, formada a partir de proteínas salivares, sendo que a saliva ainda apresenta capacidade de tamponamento, causando neutralização de ácidos alimentares. Além disso, a saliva é supersaturada em relação aos minerais do dente, fornecendo cálcio, fósforo e fluoreto necessários para a remineralização.

A saliva é secretada por três pares de glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) além de numerosas glândulas salivares menores (Sreebny, 2000). A saliva é constituída por componentes inorgânicos e orgânicos. Dentre os componentes inorgânicos está o bicarbonato, que permite o tamponamento, enquanto o cálcio e o fosfato permitem a manutenção da integridade mineral do dente. Na composição orgânica, existe um grande número de proteínas e glicoproteínas na saliva humana que podem influenciar diversos aspectos da saúde bucal (Dodds et al., 2005).

Muitas destas proteínas contêm altos níveis (35-40%) de prolina, e são, portanto, designadas proteínas ricas em prolina (PRPs), representando quase 70% do conteúdo total de proteínas da saliva proveniente da parótida humana. Entre as proteínas presentes na saliva, há as metaloproteinases da matriz (MMPs). Além disso, outros estudos sugerem que pelo menos as gelatinases (MMP-2 e MMP-9) também são secretadas pela glândula parótida (Mäkelä et al., 1994) e elas estão presentes na saliva total (Ingman et al., 1994; Mäkelä et al., 1994; Uitto et al., 1990) e dentina (Martin-De Las Heras et al., 2000; Mazzoni et al., 2007; Santos et al., 2009; Sulkala et al., 2007). É possível que nem todas as MMPs-9 sejam secretadas na saliva, mas algumas são retidas nos tecidos, porque níveis muito baixos de

atividade enzimática foram encontrados em excreções glandulares (Mäkelä et al., 1994).

2 OBJETIVO

Em virtude do exposto, o objetivo do presente trabalho foi analisar os parâmetros salivares de fluxo salivar, capacidade tampão, quantificação proteica e concentração de cálcio e fosfato de pacientes com histórico de refluxo gastroesofágico submetido à gastrostomia. A hipótese nula testada foi que os parâmetros salivares analisados em pacientes submetidos à gastrostomia não se diferenciam da saliva de pacientes saudáveis.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ASPECTOS ÉTICOS

Esse estudo foi submetido inicialmente à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sagrado Coração, Bauru-SP, Brasil. A aprovação foi em 15/04/2014, com parecer no. 662.788 (Anexo I) e parecer final número 1.702.274 em 25/08/2016 (Anexo II). Após sua aprovação, 25 sujeitos de pesquisa foram selecionados, composto por 15 pacientes com histórico de refluxo gastroesofágico e pneumonia recorrente, submetidos à gastrostomia que recebiam atendimento odontológico no Programa de Extensão em Odontologia para Pacientes Especiais (PAIPE), que utilizavam medicamentos de rotina similares, bem como, dez voluntários saudáveis (controle) e não fumantes. Todos os participantes fizeram parte da amostra após a leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

3.2 COLETA DE SALIVA

Cerca de 20 ml de saliva não estimulada dos voluntários foi coletada utilizando-se válvula de aspiração (pipeta Pasteur) e armazenada em tubo falcon, sob refrigeração em gelo. A seguir, foi centrifugada (5.000 rpm, 10 min a 4°C) e o

sobrenadante foi utilizado para os experimentos. As amostras foram armazenadas a -80°C até a análise. As amostras de saliva ($n=10-15/\text{grupo}$) foram divididas em várias alíquotas para análise da capacidade tampão, concentração proteica, concentração de cálcio e fosfato em triplicada descritas a seguir:

3.2.1 Fluxo salivar e capacidade tampão

Não foi possível realizar a análise do fluxo salivar proposta inicialmente, a qual seria considerada a saliva coletada em 5 min para a posterior determinação em mililitro de saliva produzida por minuto (ml/min). Não é possível determinar o fluxo salivar nos pacientes com gastrostomia, uma vez que por serem pacientes com problemas psicomotores, não conseguem cuspir ou desprezar a saliva no recipiente. Sendo assim, foi considerado apenas o fluxo salivar dos voluntários do grupo controle para garantir que este grupo tivesse fluxo salivar normal (0,25 a 0,35 ml/min). Também não foi possível utilizar algumas amostras do grupo de pacientes gastrostomizados, devido à viscosidade aumentada ou pelo volume reduzido obtido pela coleta. Portanto, foram realizadas as análises do maior número possível de amostras, sendo $n=10$ para o grupo controle e $n=15$ para o grupo gastrostomizados.

A capacidade tampão foi analisada por meio da obtenção do acompanhamento do pH em 1 ml de saliva e pela quantidade em volume (μl), adicionando-se HCl a 0,1 mol/L de 10 em 10 μl até que a saliva mudasse seu pH inicial, tornando-se ácido a pH 5. O volume de ácido (μl) adicionado foi anotado e utilizado para análise. Quanto maior a quantidade necessária de HCl, maior a capacidade tampão da saliva.

3.2.2 Determinação da concentração de proteínas

A quantificação da concentração total de proteína na saliva foi mensurada individualmente pelo método de Lowry et al. (1951), utilizando o kit DC Protein Assay Reagent albumina como padrão. A leitura da absorbância foi realizada por espectrofotometria (Cary 50, Pharmacia Biotech, Cambridge, England), com

comprimento de onda 660 nm. Foram feitas determinações do conteúdo total de proteína em triplicata individualmente e separadas por grupo (controle ou pacientes especiais).

3.2.3 Determinação do fosfato na saliva

Inicialmente, foi realizado um estudo piloto para a determinação da concentração de fósforo presente na saliva. O estudo piloto serviu de base para garantir a realização do experimento propriamente dito. A determinação da concentração de fosfato (P) foi determinada a partir da amostra de dois voluntários sadios para o estudo piloto. Foi realizada colorimetricamente em triplicata pelo método de Fiske e Subarrow (1925) [Fiske and Subarrow, 1925], utilizando-se um espectrofotômetro digital (Cary 50, Pharmacia Biotech, Cambridge, England). As amostras de saliva foram lidas contra os padrões contendo 0,75, 1,5, 3,0, 6,0 µg P/mL. Empregando os seguintes reagentes:

1- Reativo Redutor

- Ácido alfa amino naftol sulfônico (AANS): 0,2 g
- Sulfeto de sódio: 1,2 g
- Dissulfito de sódio: 1,2 g

A mistura acima foi triturada em gral e armazenado em frasco escuro. Na hora da análise, cada 0,025 g da mistura foi dissolvida em 1 ml de água deionizada.

2- Ácido Molibdico

- Molibdato de amônio: 6,25 g
- Ácido sulfúrico concentrado: 27,0 mL

O volume final foi completado para 250 mL com água deionizada.

3- Padrão contendo 3 mg% P

A reação foi feita de acordo com o quadro 1.

Quadro 1. Dosagem de fosfato de acordo com o método de FISKE; SUBBAROW (1925).

	Blanck	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Amostra
Água deionizada	2,3 mL	2,275 mL	2,250 mL	2,2 mL	2,1 mL	2,2 mL
Padrão P 3 mg %	-	0,025mL	0,05 mL	0,1 mL	0,2 mL	-
Amostra	-	-	-	-	-	0,1 mL
Ácido Molibdico	0,5 mL em todos, agitar e esperar 10 minutos					
Redutor	0,2 mL em todos, agitar imediatamente, esperar 20 minutos e ler					
660 nm						
µg P/mL	0	0,75	1,50	3,00	6,00	-

Inicialmente foi colocada água deionizada nos tubos de ensaio de acordo com os volumes descritos no quadro 1. A seguir, foram colocados, em triplicatas, os padrões de P ou as amostras. Então foi colocado 0,5 mL de ácido molibdico em todos os tubos, seguido de agitação e posterior espera de 10 minutos. A coloração da reação foi desenvolvida pela adição de 0,2 mL de reativo redutor. Após 20 minutos da colocação do reativo redutor foi feita a leitura em espectrofotômetro (Cary 50) a 660 nm de absorbância.

Para determinação da concentração do fósforo de todos os voluntários foi repetido exatamente o protocolo obtido no estudo piloto, descrito anteriormente.

3.2.4 Determinação do Cálcio presente na saliva

Assim como a determinação da concentração de fósforo presente na saliva, foi realizado um estudo piloto a fim de se determinar a quantidade de cálcio presente na saliva. Foi utilizada amostra de dois voluntários para o estudo piloto, o qual foi

repetido para os outros voluntários. Determinou-se colorimetricamente em triplicata pelo método do Arsenazo III (Reagente Fluitest Ca-A-III Biocon® AM Miihlenberg D – 35104 Lichtenfels), adaptado de Attin et al. (2005) [Attin et al., 2005], utilizando-se um espectrofotômetro digital (Cary 50, Pharmacia Biotech, Cambridge, England). As amostras de saliva foram lidas contra os padrões contendo 1,25, 2,5, 5 e 10 µg/mL Ca. O padrão foi preparado a partir do sal de CaCl₂ e o solvente utilizado foi água destilada e deionizada. Com o intuito de se obter uma margem segura na leitura, a fim de que as amostras fiquem dentro da curva de calibração, não foi necessário fazer a diluição, como previsto. No blanck foi utilizada água deionizada. A reação foi feita de acordo com o quadro 2.

Quadro 2. Para a dosagem de cálcio foi utilizada a técnica do Arsenazo III (Reagente Fluitest Ca-A-III Biocon® AM Miihlenberg D – 35104 Lichtenfels).

Volume (µL) 25 °C	Blanck	Padrão				Amostra de saliva
Água deionizada	10					
Padrão Ca 200 ppm diluído		10	10	10	10	
Amostra de saliva						10
tampão + arsenazo	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Concentrações µg/mL Ca	0	1,25	2,5	5	10	
Esperar 5 minutos e depois fazer a leitura						
Absorbância	650 nm					

Inicialmente foram colocadas as amostras de saliva e os padrões de Ca em cada tubo de ensaio, em triplicata. Então foi adicionado para a obtenção da coloração

da reação, o Arsenazo III em todos os tubos, e aguardados 5 minutos. Foi feita a leitura em espectrofotômetro (Cary 50) a 650 nm de absorbância.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram apresentados pela média e desvio padrão (DP). Foi utilizado o software GraphPad InStat (versão 4.0 para Windows; GraphPad software Inc., La Jolla, CA, EUA). Inicialmente foi verificado se os dados apresentavam distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov) e se eram homogêneos (teste de Bartlett). Os dados foram então analisados por teste *t* (capacidade tampão, concentração de fosfato e cálcio) ou teste de Mann-Whitney (pH e concentração de proteína). O nível de significância adotado em todos os testes foi de 5%.

4 RESULTADOS

A média (\pm DP) do pH da saliva dos pacientes com gastrostomia foi levemente básico ($7,33 \pm 0,39$) mas não foi significativamente diferente ($p=0,1123$) do controle ($6,94 \pm 0,39$). Entretanto a média (\pm DP) da capacidade tampão dos pacientes gastrostomizados ($83,33 \pm 24,62 \mu\text{l}$) foi significativamente maior ($p=0,0231$) do que para o controle ($58,89 \pm 19,00 \mu\text{l}$). (Tabela 1).

Pacientes com gastrostomia tiveram significativamente maior média na concentração de cálcio ($73,24 \pm 22,33 \text{ ppm}$) que os controles ($50,05 \pm 18,66 \text{ ppm}$; $p=0,02$), mas concentrações de fosfato não foi significativamente diferente ($5,04 \pm 1,65 \mu\text{g/mL}$ e $5,91 \pm 1,52 \mu\text{g/mL}$, respectivamente; $p=0,201$). (Tabelas 2 e 3, respectivamente).

Pacientes submetidos à gastrostomia tiveram concentração de proteína na saliva três vezes maior ($686,83 \pm 295,89 \text{ g/mL}$) que os pacientes do grupo controle ($211,42 \pm 99,91 \text{ g/mL}$) e essa diferença foi significativa ($p<0,0001$). (Tabela 4).

Tabela 1 – pH inicial da saliva e volume total (μL) de HCl a 0,01 M adicionado à saliva até atingir pH=5 (capacidade tampão) em pacientes submetidos à gastrostomia ou paciente do grupo controle

Voluntário	GASTROSTOMIA		CONTROLE	
	pH saliva	Volume de HCl (μL) pH=5	pH saliva	Volume de HCl (μL) pH=5
1	7,5	90	7,5	80
2	7,0	60	7,0	70
3	7,0	70	7,0	50
4	8,0	150	7,0	50
5	7,5	80	6,5	60
6	7,5	80	7,0	40
7	7,5	90	6,5	30
8	6,5	60	7,5	90
9	7,0	60	6,5	60
11	7,5	80		
12	7,5	100		
13	7,5	80		
Média	7,33^A	83,33^a	6,94^A	58,89^b
DP	0,39	24,62	0,39	19,00

Teste de Mann-Whitney para análise do pH, $p < 0,05$. Letras maiúsculas iguais significam que não houve diferença do pH quando comparado ao grupo controle. Teste t para análise da capacidade tampão. Letras minúsculas diferentes significam que houve diferença significativa da capacidade tampão da saliva quando comparado com o grupo controle.

Tabela 2 – Concentração de cálcio (ppm) na saliva de pacientes submetidos à gastrostomia e em pacientes controle

Voluntário	[Cálcio] ppm	
	GASTROSTOMIA	CONTROLE
1	77,57	45,72
2	42,00	90,49
3	72,36	56,64
4	80,12	34,70
5	70,99	30,55
6	39,97	44,34
7	79,83	31,60
8	91,57	39,84
9	48,34	50,24
10	66,11	76,33
11	55,48	
12	108,12	
13	123,13	
14	82,58	
15	60,46	
Média	73,24*	50,05*
DP	22,33	18,66

Teste *t*, $p < 0,05$. *Significa que houve diferença significativa da concentração de cálcio quando comparado ao grupo controle ($p = 0,02$).

Tabela 3 – Concentração de fósforo (P, $\mu\text{g/mL}$) na saliva de pacientes submetidos à gastrostomia e em pacientes controle

Voluntário	Concentração de P ($\mu\text{g/mL}$)	
	GASTROSTOMIA	CONTROLE
1	2,90	6,53
2	4,16	7,15
3	3,99	8,99
4	7,93	3,87
5	4,63	5,09
6	3,13	5,26
7	5,56	3,95
8	5,42	5,72
9	6,68	6,29
10	3,28	6,25
11	5,66	
12	4,40	
13	4,61	
14	8,16	
MÉDIA	5,04*	5,91*
DP	1,65	1,52

Teste *t*, $p > 0,05$. * Significa que não houve diferença significativa da concentração de P quando comparado ao grupo controle ($p = 0,2001$).

Tabela 4 – Dosagem de proteína (g/mL) na saliva de pacientes submetidos à gastrostomia ou pacientes controle

Voluntários	[proteína] (g/mL)	
	GASTROSTOMIA	CONTROLE
1	857,29	120,07
2	762,86	128,87
3	456,72	298,95
4	1249,07	143,85
5	993,36	144,12
6	206,87	237,95
7	939,98	127,69
8	888,37	430,91
9	527,68	253,20
10	381,64	228,57
11	546,45	
12	731,19	
13	782,22	
14	291,91	
Média	686,83*	211,42*
DP	295,89	99,91

ANOVA após transformação logarítmica, teste t

*significa diferença significativa ($p < 0,0001$) quando comparado ao grupo controle

5 DISCUSSÃO

O paciente com paralisia cerebral (PC) é acometido por diversas desordens no Sistema Estomatognático, sendo muitas delas expressas sob a forma de alterações no fluxo e composição salivar. Como consequência, frequentemente ocorrem complicações gerais e bucais em pessoas com PC. Uma alta prevalência de doenças orais são características nesses pacientes (Nunn, Murray, 1987, Dos Santos, 2002). A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é muito comum nesses pacientes e, geralmente também estão associadas às enfermidades respiratórias como as pneumonias, as quais podem ser responsáveis pela maioria dos óbitos (Kringer, 2006). Por esse motivo, é indicado a gastrostomia. Dessa maneira, é de se esperar, que pacientes com PC e submetidos à gastrostomia apresentem alterações sialoquímicas e sialométricas. É nesse contexto que a análise dos parâmetros salivares possui grande importância.

Foi proposto inicialmente a análise do fluxo salivar, no entanto, problemas psicomotores dos pacientes gastrotomizados impossibilitaram a coleta da saliva não estimulada, uma vez que não são capazes de cuspir. É importante salientar que o escape de saliva não é decorrente de hipersalivação. Por meio da análise comparativa do fluxo salivar em pacientes com paralisia cerebral e em pacientes saudáveis, pode ser verificado que não há diferenças significativas entre os grupos e que portanto, o escape ocorre decorrente da deficiência de controle motor (Erasmus et al., 2009). Existem trabalhos, inclusive, em que a média de fluxo salivar para o grupo com PC é até menor que os valores do grupo controle, podendo ser considerada como estatisticamente significativa (Davis, 1979; Rodrigues Santos, 2007).

Apesar do maior escoamento de saliva externamente à cavidade oral, os pacientes com PC muitas vezes são medicados com a finalidade de redução no fluxo salivar. Esta redução de fluxo compromete a capacidade tampão e a quantidade absoluta de constituintes antibacterianos da saliva, indicando maiores riscos à lesões cariosas e inflamatória (Hallett et al., 1995). Tivemos dificuldade na coleta da saliva dos pacientes submetidos à gastrostomia decorrente do baixo fluxo

salivar. Nesta situação, foi indicado a suspensão do medicamento por dez dias anteriormente a data da coleta. Mesmo assim, não foi possível coletar volume suficiente para todos os testes de dois pacientes.

Valores encontrados na literatura mostram que outros valores sialométricos e sialoquímicos estão alterados (Davis, 1979; Rodrigues Santos, 2007). Em relação à concentração dos componentes salivares, demonstram valores aumentados de potássio, cálcio, fósforo, ureia e proteínas totais. No presente estudo, os valores de cálcio e proteínas totais também apresentaram-se aumentados significativamente, mas o fósforo não foi diferente do grupo controle. A ureia possui papel na capacidade tampão da saliva e seu aumento pode sugerir prejuízos na neutralização da acidez salivar. Entretanto, a capacidade tampão é modulada também por outras substâncias, como amônia, bicarbonatos e fosfatos (Humphrey, Williamson, 2001). No caso, essas substâncias não foram analisadas. Já em relação aos componentes sódio e cloreto, valores reduzidos foram encontrados em sujeitos com PC, em comparação a sujeitos controle (Davis, 1979). Diante disso, fica evidente a importância do emprego da análise da saliva como recurso diagnóstico, tornando-se necessária a compreensão da característica da saliva normal como padrão de comparação com as alterações apresentadas na PC.

A dosagem de proteínas totais foi significativamente maior nos pacientes submetidos à gastrostomia. Esse aumento do conteúdo proteico pode explicar o aumento da viscosidade salivar que era nítido nesses pacientes. A variação da viscosidade indica alterações na constituição salivar, particularmente, devido ao excesso de secreção de glicoproteínas salivares (Waterman et al., 1988). Outra explicação do alto valor proteico, pode ser decorrente da dieta à base de suplementos, a qual visa promover a manutenção e/ou melhora do estado nutricional (Araújo, Menezes, 2005). Como recebem o alimento via sonda abdominal, esses pacientes possuem uma dieta restrita e especial, rica em minerais e proteínas.

Em relação às substâncias inorgânicas presentes na saliva, o cálcio e o fósforo atuam diretamente no mecanismo de calcificação tecidual, modulando a desmineralização e remineralização, a capacidade de tamponamento e o pH da saliva. A saliva supersaturada de cálcio e fósforo promoverão a sua precipitação e

formação de cálculo dental. A concentração de cálcio nos pacientes com gastrostomia apresentou aumentada em 50%, quando comparada ao grupo controle. Isso explica o fato desses pacientes possuírem facilidade de formação de cálculo dental. O intrigante é que esses pacientes possuem alimentação estritamente via sonda. Mesmo assim, a formação de biofilme e cálculo dental está exacerbada. Além disso, como a concentração de cálcio está aumentada nos pacientes com gastrostomia, explica a diferença significativa da sua maior capacidade de tamponamento. Embora não tenha sido significativa a diferença do pH entre os grupos, o pH da saliva dos pacientes com gastrostomia apresentou-se menos ácido, ou até mesmo básica, já que o pH normal da saliva é entre 6 e 7, significando que ela é ligeiramente ácida (Aframian et al., 2006).

6 CONCLUSÃO

Em virtude do exposto, concluiu-se que os parâmetros salivares de capacidade tampão, quantificação proteica e concentração de cálcio de pacientes com histórico de refluxo gastroesofágico submetido à gastrostomia apresentaram valores significativamente aumentados comparados à saliva do grupo controle. Portanto, a hipótese nula testada foi rejeitada. Sendo assim, alterações desses parâmetros salivares podem explicar porque pacientes com gastrostomia tem excessivo acúmulo de cálculo, apesar de possuírem alimentação exclusiva via sonda.

REFERÊNCIAS

- Aframian DJ, Davidowitz T, Benoliel R. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. *Oral Dis.* 2006; 12(4): 420-3.
- Araújo EM, Menezes HC. Composição centesimal, lisina disponível e digestibilidade in vitro de proteínas de fórmulas para nutrição oral ou enteral. *Cienc Tecnol Aliment* 2005; 4(25): 768-771.
- Attin T, Becker K, Hannig C, Buchalla W, Hilgers R: Method to detect minimal amounts of calcium dissolved in acidic solutions. *Caries Res* 2005;39:432-436.
- Barbosa FCB, Mayer MPA, Saba-Chujfi, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16(5):306-10.
- Curtin NM, Boyle NT, Mills KH, Connor TJ. Psychological stress suppresses innate IFN- γ production via glucocorticoid receptor activation: reversal by the anxiolytic chlordiazepoxide. *Brain Behav Immun.* 2009;23(4):535-47.
- Davis MJ. Parotid Salivary Secretion and Composition in Cerebral Palsy. *J Dent Res.* 1979; 58(8):1808.
- Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK: Health benefits of saliva: A review. *J Dent* 2005;33:223-233.
- Dos Santos MT, Masiero D, Simionato MRL. Risk factors for dental caries in children with cerebral palsy. *Spec Care Dentist.* 2002; 22(3): 103-7.
- Erasmus CE, Van Hulst K, Rotteveel LJ, Jongerius PH, Van Den Hoogen FJ, Roeleveld N et al. Drooling in cerebral palsy: hypersalivation or dysfunctional oral motor control? *Dev Med Child Neurol.* 2009; 51(6): 454-9.
- Fiske CH, Subarrow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66:375-400.
- Gaetti-Jardim Jr E, Nakano V, Wahasugui TC, Cabral FC, Gamba R, Avila-Campos MJ. Occurrence of yeasts, enterococci and other enteric bacteria in

- subgingival biofilm of HIV-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. *Braz J Microbiol.* 2008a;39(2):257-61.
- Gaetti-Jardim Jr E, Wahasugui TC, Tomazinho PH, Marques MM, Nakano V, Avila-Campos MJ. Distribution of biotypes and leukotoxic activity of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolated from Brazilian patients with chronic periodontitis. *Braz J Microbiol.* 2008b;39(4):658-63.
- Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(3):243-51.
- Hallett KB, Lucas JO, Johnston T, Reddihough DS, Hall RK. Dental health of children with cerebral palsy following sialodochoplasty. *Spec Care Dentist.* 1995; 15(6): 234-8.
- Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001; 85(2): 162-9.
- Ingman T, Sorsa T, Lindy O, Koski H, Kontinen YTI: Multiple forms of gelatinases/type iv collagenases in saliva and gingival crevicular fluid of periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1994;21:26-31.
- Krigger KW. Cerebral palsy: an overview. *Am Fam Physician.* 2006;73(1):91-100.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- Mäkelä M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H: Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the oral cavity: Cellular origin and relationship to periodontal status. *J Dent Res* 1994;73:1397-1406.
- Martin-De Las Heras S, Valenzuela A, Overall CM: The matrix metalloproteinase gelatinase a in human dentine. *Arch Oral Biol* 2000;45:757-765.
- Mazzoni A, Mannello F, Tay FR, Tonti GA, Papa S, Mazzotti G, Di Lenarda R, Pashley DH, Breschi L: Zymographic analysis and characterization of mmp-2 and -9 forms in human sound dentin. *J Dent Res* 2007;86:436-440.
- Nunn JH, Murray JJ. The dental health of handicapped children in Newcastle and Northumberland. *Br Dent J.* 1987; 162(1): 9-14.

- Rodrigues Santos MT, Siqueira WL, Nicolau J. Amylase and peroxidase activities and sialic acid concentration in saliva of adolescents with cerebral palsy. *Quintessence Int.* 2007; 38(6): 467-72.
- Santos J, Carrilho M, Tervahartiala T, Sorsa T, Breschi L, Mazzoni A, Pashley D, Tay F, Ferraz C, Tjaderhane L: Determination of matrix metalloproteinases in human radicular dentin. *J Endod* 2009;35:686-689.
- Santos JS, Kemp R, Sankarankutty AK, Salgado WJ, Tirapelli LF, Castro e Silva OJ. Gastrostomia e Jejunostomia: aspectos da evolução técnica e da ampliação das indicações. *Medicina* 2011; 44(1):39-50.
- Sreebny LM: Saliva in health and disease: An appraisal and update. *Int Dent J* 2000;50:140-161.
- Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L: Matrix metalloproteinase-8 (mmp-8) is the major collagenase in human dentin. *Arch Oral Biol* 2007;52:121-127.
- Susin FP, Bortolini V, Sukiennik R, Mancopes R, Barbosa LR. Perfil de pacientes com paralisia cerebral em uso de gastrostomia e efeito nos cuidadores. *Rev. CEFAC* São Paulo. disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rcefac/2012nahead/93-11.pdf> acesso em 11/03/2014.
- Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T: Salivary collagenase. Origin, characteristics and relationship to periodontal health. *J Periodontal Res* 1990;25:135-142.
- Waterman HA, Blom C, Holterman HJ, 's-Gravenmade EJ, Mellema J. Rheological properties of human saliva. *Arch Oral Biol, Oxford.* 1988; 33(8): 589-96.
- Zero DT: Etiology of dental erosion--extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996;104:162-177.

Anexo I

UNIVERSIDADE DO SAGRADO
CORACÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Parâmetros salivares em pacientes submetidos a gastrostomia

Pesquisador: Sara Nader Marta

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30284314.4.0000.5502

Instituição Proponente: Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 662.788

Data da Relatoria: 15/04/2014

Apresentação do Projeto:

A amostra será constituída por 20 pacientes sendo 10 com paralisia cerebral e gastrostomia (grupo de estudo), fazendo uso de medicamentos de rotina similares e 10 pacientes voluntários saudáveis não fumantes (controle). A saliva será coletada e serão avaliados o fluxo salivar, a capacidade tampão, a concentração de proteínas, fósforo e cálcio. Os resultados serão avaliados com teste estatístico mais adequado após a verificação da normalidade e homogeneidade da amostra, com nível de significância de 5%.

Objetivo da Pesquisa:

Analisar os parâmetros salivares de fluxo salivar, capacidade tampão, quantificação proteica e concentração de cálcio e fósforo de pacientes com histórico de refluxo gastroesofágico submetido à gastrostomia. A hipótese nula testada será que os parâmetros salivares analisados em pacientes submetidos à gastrostomia não se diferenciam da saliva de pacientes normais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não apresenta riscos aos sujeitos da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa que trará contribuições para os indivíduos com paralisia facial e refluxo esofágico.

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Bairro: Rua Irmã Armanda Nº 10-50 **CEP:** 17.011-160

UF: SP **Município:** BAURU

Telefone: (14)2107-7260 **E-mail:** prppg@usc.br

Continuação do Parecer: 662.788

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta todos os termos obrigatórios.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não apresenta pendências e inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

BAURU, 27 de Maio de 2014

Assinado por:
Marcos da Cunha Lopes Virmond
(Coordenador)

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pos-Graduação
Bairro: Rua Irmã Arminda Nº 10-50 **CEP:** 17.011-160
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)2107-7260 **E-mail:** prppg@usc.br

Anexo II

UNIVERSIDADE DO SAGRADO
CORACÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Parâmetros salivares em pacientes submetidos a gastrostomia

Pesquisador: Sara Nader Marta

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30284314.4.0000.5502

Instituição Proponente: Universidade do Sagrado Coração - Bauru - SP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Final

Detalhe:

Justificativa: Solicito o parecer deste Comitê após o término do trabalho. Em anexo o relatório

Data do Envio: 25/08/2016

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.702.274

Apresentação da Notificação:

com documentação oportuna

Objetivo da Notificação:

solicita estudo do parecer final de estudo

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

os mesmos

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

nada a declarar

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

nada a declarar

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Bairro: Rua Irmã Aminda N° 10-50 **CEP:** 17.011-180

UF: SP **Município:** BAURU

Telefone: (14)2107-7051

E-mail: comitadedeethumanos@uac.br

Continuação do Parecer: 1.702.274

Recomendações:

aprovado o final do relatório

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

nada a declarar

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Final	RelatorioFinal.doc	25/08/2016 09:52:41	Sara Nader Maria	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 29 de Agosto de 2016

Assinado por:

Marcos da Cunha Lopes Vimond
(Coordenador)

Endereço: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
 Bairro: Rua irmã Arminda Nº 10-50 CEP: 17.011-180
 UF: SP Município: BAURU
 Telefone: (14)2107-7051 E-mail: comitedeeticidadehumanos@usc.br