

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

**EFEITO DA GASTROSTOMIA NA SAÚDE ORAL E NA
COMPOSIÇÃO SALIVAR DE CRIANÇAS COM
PARALISIA CEREBRAL**

CRISTIANE DA SILVA SAITO

MESTRADO PROFISSIONAL

2018

CRISTIANE DA SILVA SAITO

**EFEITO DA GASTROSTOMIA NA SAÚDE ORAL E NA
COMPOSIÇÃO SALIVAR DE CRIANÇAS COM
PARALISIA CEREBRAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof^ª. Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo

Coorientador (a): Prof^ª. Dra. Késia Lara dos Santos Marques

UBERLÂNDIA

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

CRISTIANE DA SILVA SAITO

**EFEITO DA GASTROSTOMIA NA SAÚDE ORAL E NA
COMPOSIÇÃO SALIVAR DE CRIANÇAS COM
PARALISIA CEREBRAL**

Presidente da banca: Prof^a. Dra. Vivian Mara Gonçalves de Oliveira
Azevedo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.

Banca Examinadora

Titular: Prof^a. Dra. Marília Rodrigues Moreira
Instituição: Faculdade Pitágoras

Titular: Prof.^a Dra. : Prof^a. Dra. Alessandra Maia de Castro Prado
Instituição: Universidade Federal de Uberlândia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S158e Saito, Cristiane da Silva, 1985
2018 Efeito da gastrostomia na saúde oral e na composição salivar de
crianças com paralisia cerebral / Cristiane da Silva Saito. - 2018.
38 f. : il.

Orientadora: Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo.
Coorientadora: Késia Lara dos Santos Marques.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.785>
Inclui bibliografia.

1. Ciências médicas - Teses. 2. Paralisia cerebral - Teses. 3.
Gastrostomia - Teses. 4. Saúde bucal - Teses. I. Azevedo, Vivian Mara
Gonçalves de Oliveira. II. Marques, Késia Lara dos Santos. III.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Benedito (in memoriam) e Marlene, e ao meu irmão Juliano por me apresentaram à importância da família e ao caminho da educação, dedicação e persistência, essa vitória também é de vocês! Ao meu esposo José Victor pelo apoio incondicional em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Prof^a Dr^a Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo, pela confiança, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e por ser a maior incentivadora na superação dos meus limites.

A Prof^a Késia Lara dos Santos Marques pela presteza e dedicação nas observações sempre oportunas e colaboração inestimável.

Ao Prof^o Robinson Sabino-Silva pelo compartilhamento de conhecimentos e observações oportunas em todo o estudo.

À coordenação e secretárias do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Uberlândia, pela atenção, dedicação e resolubilidade de todos os problemas e questões que surgiram ao longo dessa caminhada.

Aos colegas do Setor de Pacientes Especiais da Faculdade de Odontologia da UFU que sempre fizeram contribuições oportunas para a melhora do trabalho e me abraçaram de forma acolhedora.

Aos pacientes e seus responsáveis pela oportunidade, paciência e compreensão em prol da ciência.

RESUMO

Introdução: A encefalopatia crônica não progressiva da infância, também denominada de paralisia cerebral(PC), é consequência de uma lesão cerebral ocorrida durante o período pré-natal, perinatal ou pós-natal, que provoca alterações sensoriais e/ou motoras. Devido o comprometimento das funções motoras, como dificuldade de deglutição, engasgos e aspirações pulmonares, alguns pacientes com PC são submetidos a gastrostomia(GTT). Conhecer e identificar as propriedades e as alterações salivares dos indivíduos com paralisia cerebral (PC), associados ou não a gastrostomia, e correlacionar a composição salivar com índices de cárie desses indivíduos, é fundamental a fim de contribuir para o planejamento de ações efetivas para melhoria da saúde bucal e sistêmica destes pacientes. **Objetivo:** Avaliar o efeito da gastrostomia na saúde bucal e na composição salivar de crianças com Paralisia Cerebral. **Métodos:** Tratou-se de um estudo transversal, descritivo e analítico que avaliou 23 crianças com PC divididas em: pacientes com Paralisia Cerebral Sem Gastrostomia (PCSG, n=12) e pacientes com Paralisia Cerebral Com Gastrostomia (PCCG, n=11), na faixa etária de 5 a 12 anos. A saúde bucal foi avaliada pelo índice de dentes cariados, perdidos e obturados (CPO-D/ceo-d) e a composição salivar analisada por meio de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Para esta análise foi coletada 1ml de saliva utilizando uma bomba a vácuo por sucção. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste Mann-Whitney ou teste t não-pareado. **Resultados:** O CPO-D/ceo-d foi reduzido ($p=0,0034$) em crianças PCCG comparado ao PCSG. O perfil espectral de FTIR na saliva de PCCG e PCSG apresentou 12 modos vibracionais descritos em lipídios, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos. A concentração salivar de tiocianato (2057 cm^{-1} , SCN^-) foi aumentada em pacientes PCCG em comparação com PCSG. No entanto, não foi evidenciada correlação ($p>0,05$) entre a concentração salivar de SCN^- e CPO-D/ceo-d. **Conclusão:** Os pacientes com

PCCG apresentaram aumento na concentração salivar de SCN^- em comparação aos PCSG. Apesar de também apresentarem menores índices de CPO-D/ceo-d em relação ao PCSG, não foi evidenciado correlação deste com a concentração de SCN^- na saliva.

Palavras chave: Paralisia Cerebral; gastrostomia; saúde bucal; FTIR; saliva

ABSTRACT

Introduction: Non-progressive chronic childhood encephalopathy, also called cerebral palsy (CP), is a consequence of a brain injury that occurred during the prenatal, perinatal or postnatal period, causing sensory and / or motor changes. Due to impairment of motor functions, such as difficulty in swallowing, choking and pulmonary aspiration, some patients with CP are submitted to gastrostomy (GTT). To know and identify the salivary properties and salivary changes of individuals with cerebral palsy (CP), associated or not with gastrostomy, and to correlate the salivary composition with caries indices of these individuals, is fundamental in order to contribute to the planning of effective actions to improve health buccal and systemic of these patients. **Objective:** to evaluate the effect of gastrostomy on oral health and salivary composition of children with Cerebral Palsy (CP). **Methods:** This was transversal, descriptive and analytical study that evaluated 23 children with CP divided in: patients with Cerebral Palsy Without Gastrostomy (PCSG, n = 12) and patients with Cerebral Palsy With Gastrostomy (PCCG, n = 11), in the age group from 5 to 12 years. Oral health was evaluated by the index of decayed and decayed teeth (CPO-D/ceo-d) and salivary composition analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). For this analysis, 1ml of saliva was collected using a vacuum suction pump. Statistical analyzes were performed using the Mann-Whitney test or unpaired t-test. **Results:** CPO-D/ceo-d was reduced ($p = 0.0034$) in PCCG children compared to PCSG. The spectral profile of FTIR in PCCG and PCSG saliva presented 12 vibrational modes described in lipids, carbohydrates, proteins and nucleic acids. The salivary concentration of thiocyanate (2057 cm^{-1} , SCN⁻) was increased in PCCG patients compared to PCSG. However, no correlation ($p > 0.05$) was found between the salivary concentration of SCN⁻ and CPO-D / ceo-d. **Conclusion:** Patients with PCCG presented increased salivary concentration of SCN⁻ compared to PCSG. Although they also presented lower CPO-D/ceo-d indexes in relation to PCSG, no correlation of this with SCN⁻ concentration in saliva was observed.

Keywords: Cerebral Palsy; gastrostomy; oral health; FTIR; saliva.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Média dos espectros do FTIR obtidos a partir das amostras dos grupos avaliados.....	31
Figura 2. Concentração de componentes salivares presentes na saliva de crianças PCSG e PCCG.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Característica da população estudada	30
Tabela 2. Identificação dos componentes específicos e o modo vibracional encontrados em cada frequência de onda analisadas nas amostras.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

PC	Paralisia Cerebral
GTT	Gastrostomia
PCSG	Paralisia Cerebral Sem Gastrostomia
PCCG	Paralisia Cerebral Com Gastrostomia
FTIR	Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de <i>Fourier</i>
CPO-D	Índice de dentes cariados, perdidos e restaurados na dentição permanente.
ceo-d	Índice de dentes cariados, perdidos e restaurados na dentição decídua.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
2. Fundamentação Teórica.....	14
2.1 Paralisia Cerebral.....	14
2.2 Gastrostomia.....	15
2.3 Saúde bucal dos pacientes com PC.....	15
2.4 Saliva.....	16
2.5 Espectrômetro de infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> (FTIR).....	18
3. Objetivos.....	19
3.1 Objetivo Geral.....	19
3.2 Objetivo Específico.....	19
4. Cópia de artigo submetido.....	20
5. Referências.....	34

1. INTRODUÇÃO

A encefalopatia crônica não progressiva da infância, denominada também como Paralisia Cerebral (PC), é consequência de uma lesão cerebral ocorrida nos períodos pré-natal, perinatal ou pós-natal, e que leva o indivíduo a uma alteração sensorial e/ou motora (REDDIHOUGH, COLLINS, 2003). Foi descrita pela primeira vez em 1843 por William John Little, que avaliou crianças com quadro clínico de espasticidade (BAX, 2005).

A PC compõe um grupo heterogêneo quanto à etiologia, gravidade e quadro clínico e, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as alterações e manifestações clínicas são variadas, desde simples dificuldades de locomoção a crises epilépticas graves. Estas alterações, muitas vezes, comprometem o processo de aquisição de habilidades, que por sua vez dificultam o autocuidado (OMS, 2003). Quando a higiene bucal é inadequada, em função das dificuldades e limitações inerentes à PC, ocorre o comprometimento da saúde bucal (UNFER et al., 2000).

Entre os diversos fatores que contribuem para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes com PC estão os resultados positivos oriundos da manutenção da saúde bucal (OLIVEIRA, GIRO, 2011). É importante delinear estratégias preventivas e práticas para o manejo dos pacientes com PC, visto que a saúde bucal é cada vez mais reconhecida como uma base para o bem-estar geral (JAN, JAN, 2016).

Sabe-se que os pacientes com PC apresentam hipotonia muscular facial e mastigatória, palato ogival, sialorréia e movimentos involuntários, esses fatores influenciam negativamente na higienização bucal. Outro fator relevante é o uso de medicamentos anticonvulsivantes, comumente utilizados por pacientes com PC, entre eles a fenitoína e seus derivados, os quais podem causar hiperplasia gengival e ainda contribuir para o aumento do risco de doenças bucais (PRAT et al., 2003).

Diante disso, os profissionais odontólogos especializados em pessoas com deficiência, têm focado no entendimento da epidemiologia e nos fatores de risco para doença cárie e doenças periodontais de crianças com deficiências diversas, entre elas, crianças com PC. No último ano houve interesse de se criar uma nova linha de pesquisa envolvendo, entre outros aspectos, a análise e a correlação de fatores de risco para doença cárie com os componentes salivares quantitativos e qualitativos desses pacientes. Assim, a utilização da saliva para pesquisa tem sido empregada como uma possibilidade de avaliar a saúde bucal, devido à simplicidade da coleta, o custo reduzido e a possibilidade de coleta sem dor (AHMED et al., 2010).

Existem poucos estudos na literatura voltados para a avaliação do perfil da saúde bucal dos pacientes com PC, especialmente relacionando ao uso da gastrostomia. Desta forma, o presente estudo teve como objetivos avaliar os componentes salivares dos pacientes com PC, com ou sem gastrostomia, e o impacto desses na saúde bucal. Identificar os componentes salivares dos pacientes com PC e sua correlação com o índice de cárie, associados ou não à gastrostomia, pode contribuir no planejamento de ações efetivas em prol da melhoria da saúde bucal e, por consequência, a saúde geral desta população.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Paralisia Cerebral

A PC é a deficiência física grave mais comum na infância com uma prevalência variável. No mundo, afeta cerca de 2 crianças a cada 1000 nascidas vivas. Nos países desenvolvidos, a prevalência encontrada varia de 1,5 a 5,9/1.000 nascidos vivos, enquanto que nos países em desenvolvimento acredita-se que a incidência seja de 7 por 1.000 nascidos vivos (ROTTA, 2002). No Brasil, não existe pesquisas específicas que retratam a incidência de casos de PC, mas estima-se que nascem cerca de 30 a 40 mil crianças por ano (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

As encefalopatias crônicas não progressivas podem ser classificadas de diferentes formas, considerando o momento da lesão, localização, etiologia, sintomatologia e distribuição topográfica (ROTTA, 2002). A classificação baseada no tipo de tônus muscular é uma das mais conhecidas e didaticamente é melhor por ressaltar o sistema motor, considerado a principal característica do quadro clínico. Considerando o tônus, a PC é dividida em quatro tipos: Espástica (provocada por uma lesão no córtex cerebral que provoca hipertonia muscular, reflexo de estiramento exacerbado e déficit de força localizado ou generalizado); Atetose (provocada por lesão nos núcleos da base com presença de movimentos involuntários característicos e distonia com posições alternadas, que se explanam geralmente nas mãos e nos pés, durante a movimentação ou manutenção da postura); Atáxicas (frequentemente causada por uma perda na função do cerebelo, ocasionando perda de equilíbrio e coordenação devido à hipotonia muscular) e Mistas. A forma mais frequente é a espástica que, dependendo do local e extensão do comprometimento, é caracterizada pela presença de monoplegia, hemiplegia, diplegia ou quadriplegia (SILVA et al., 2014).

A gravidade dos comprometimentos da PC está associada ao grau das limitações das atividades e as consequências dessas limitações. Entre as complicações e comprometimentos das funções motoras que podem ocorrer com estes pacientes, observa-se a dificuldade de deglutição, com risco de engasgos, aspirações pulmonares, ingestão calórica deficiente e inadequada para um bom funcionamento do organismo. Nestes casos específicos faz-se necessário o uso de gastrostomia (KAWAHARA et al., 2010).

2.2 Gastrostomia

A gastrostomia (GTT) é um procedimento cirúrgico que estabelece o acesso ao estômago através da parede abdominal por meio de uma sonda, indicada para pacientes que já fizeram uso de sonda nasoenteral por 30 dias e que apresentam alta expectativa de vida (KAWAHARA et al., 2010).

A alimentação por GTT, quando bem indicada, permite que o paciente com funções comprometidas saia do quadro de desnutrição e passe a ter um aporte calórico adequado, além de minimizar riscos de aspirações e engasgos (SULLIVAN et. al., 2006).

A GTT é instalada por via endoscópica, em um procedimento cirúrgico minimamente invasivo, ou por procedimento cirúrgico mais invasivo. Esta última é indicada para crianças que necessitam de funduplicatura, uma válvula anti refluxo que tem por objetivo interromper o refluxo gastroesofágico e é frequentemente indicada para crianças maiores e com doença do refluxo gastroesofágico grave (KAWAHARA et al., 2010).

2.3 Saúde bucal dos pacientes com PC

Os pacientes com diagnóstico de PC, com ou sem gastrostomia, apresentam o sistema estomatognático com hipotonia muscular facial e mastigatória, palato ogival, sialorréia e movimentos involuntários. Esses fatores,

associados à dificuldade de higienização, comprometem a manutenção da saúde bucal (PRAT et al., 2003).

A redução no fluxo e pH salivar comprometem a capacidade tampão dos pacientes com PC (SANTOS et al., 2010; RODRIGUES et al., 2007). O aumento da osmolaridade salivar e de proteínas totais, associados à desidratação, podem ser observados, sendo estas condições consideradas de risco para o desenvolvimento de doenças bucais (SANTOS et al., 2011).

Além disso, os pacientes com PC associada à gastrostomia, pelo fato de não terem uma dieta via oral, apresentam diminuição das forças mecânicas intrabuciais. A ausência da mastigação facilita a deposição da placa bacteriana patogênica que resulta em inflamação gengival e presença do cálculo dentário (SANTOS et al., 2003). Em contrapartida, os pacientes com PC sem gastrostomia fazem uso de uma dieta mais pastosa, que por sua vez, fica por mais tempo na cavidade bucal, sendo este um fator de risco para cárie. Assim, alguns estudos indicam que pacientes com PC gastrostomizados apresentam alto índice de cálculo dentário e baixo índice de lesões cariosas em comparação aos pacientes com PC que utilizam a via alimentar oral (CHEN et al., 1997; PREVITALI, SANTOS, 2009; HIDAS et al., 2010; JAWADI et al., 2004; BROWN et al., 2006).

2.4 Saliva

A saliva é uma mistura de secreções das glândulas salivares e de moléculas provenientes do fluido crevicular e microrganismos. A utilização da saliva para pesquisa tem sido empregada como possibilidade de avaliar a saúde bucal, devido à simplicidade da coleta, o custo reduzido e possibilidade de coleta sem dor (MANDEL, 1990).

Sabe-se que um em cada três pacientes com PC apresenta algum grau de sialorréia (aumento do fluxo salivar) de forma involuntária e passiva, devido à

inabilidade de manuseio da secreção bucal (SENNER et al., 2004). Sabe-se que a sialorréia na criança com PC não é causada por hipersalivação, mas sim por disfunção motora oral, por disfagia e/ou por distúrbio da sensibilidade intraoral (TAHMASSEBI, CURZON, 2003).

A saliva apresenta múltiplas funções que ocorrem tanto pela sua característica fluida como pelos componentes específicos. A limpeza da cavidade bucal, a formação do bolo alimentar, a facilitação da mastigação e deglutição, a solubilização de substâncias alimentares, a remoção de bactérias e alimentos, a lubrificação da mucosa e a contribuição para facilitar fala estão relacionadas, especialmente, com as características fluidas da saliva (KAUFMAN et al., 2007). A quantidade total de saliva produzida diariamente é cerca de 1000 ml. A secreção salivar é induzida por estímulos psíquicos, mecânicos, físicos, químicos e biológicos (MANDEL, 1990).

Na saliva existem componentes inorgânicos e orgânicos. A parte inorgânica é composta por íons como cálcio e o fósforo que atuam diretamente no mecanismo de calcificação tecidual, modulando a desmineralização e remineralização. A capacidade tampão da saliva e seu pH são modulados por produtos de nitrogênio, como amônia e uréia, bicarbonatos e fosfatos. O pH normal da saliva é de 6 a 7, sendo ligeiramente ácido (AFRAMIAN et al., 2006).

Em relação os componentes orgânicos, alguns atuam como fatores antimicrobianos (lactoferin, lisozima, lactoperoxidase, deferins), enquanto outros são protetores de mucosa (glicoproteínas, imunoglobulina A (IgA) secretora, fator de crescimento epidermal, fator de crescimento fibroblástico básico) (EPSTEIN et al., 2002). Entre os componentes orgânicos, destacam-se os produtos de uréia, ácido úrico e creatinina, além de proteínas, sendo que mais de 400 tipos já foram identificadas (HUMPHREY, WILLIAMSON, 2001).

Diante do exposto, é fundamental conhecer e identificar às propriedades e as alterações salivares dos indivíduos com PC, associados ou não a gastrostomia, e correlacionar a composição salivar com índices de cárie desses

indivíduos, assim como avaliar o impacto dos componentes salivares na saúde bucal, a fim de contribuir para o planejamento de ações efetivas para melhoria da saúde bucal e sistêmica dos pacientes com PC.

2.4 Espectrômetro de infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR)

A espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica que fornece informações relacionadas à composição molecular, de maneira rápida e não destrutiva. Faz identificação e caracterização de compostos orgânicos, inorgânicos e polímeros (LI et al., 2012; XIE et al., 2011). É uma técnica físico-química bem estabelecida que identifica moléculas estruturais com base na sua absorção a partir do feixe infravermelho. Cada biomolécula exibirá um único espectro que representa o modo vibracional desta ligação estrutural. Os modos de vibração de amostras biológicas, como a saliva, permitem examinar e identificar componentes e estruturas biomoleculares, além de serem considerados como impressões bioquímicas que se correlacionam com a presença ou ausência de doenças (ORPHANOU et al., 2015)

O microscópio FTIR fornece informação visual e documentação da área que foi exposta à radiação Infravermelha e tem sido cada vez mais utilizado pela medicina para a análise de tecidos e fluidos corporais (AHMED et al., 2010).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da gastrostomia em crianças com PC na saúde bucal e na composição salivar por meio do FTIR.

3.2 Objetivo Específico

Avaliar possíveis correlações entre os componentes salivares com o índice de dentes cariados, perdidos e restaurados (CPO-D/ceo-d).

4. ARTIGO

Effect of gastrostomy on oral health and salivary composition of children with cerebral palsy

Cristiane da Silva Saito¹

Késia Lara dos Santos Marques¹

Natália Martins Joaquim¹

Leia Cardoso Sousa²

Emilia Maria Gomes Aguiar²

Lúcio Borges de Araujo³

Robinson Sabino-Silva²

Vivian Mara Gonçalves de Oliveira Azevedo⁴

¹ Sector of Special Patients, Dental Hospital, Federal University of Uberlândia, Brazil.

crissaito10@gmail.com; marqueskls@yahoo.com.br; natalia.mjoaquim@gmail.com

² Department of Physiology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlândia, Brazil. leiacardosos92@gmail.com; mihaguiar@hotmail.com; robinsonsabino@gmail.com

³Department of Mathematics, Federal University of Uberlândia, Brazil. lucio.araujo@ufu.br

⁴College of Physical Education and Physiotherapy, Federal University of Uberlândia, Brazil
vivian.azevedo@ufu.br

Conflicts of interest: Nothing to declare.

Ethical Considerations: The present study was approved by the Research Ethics Committee (CEP) in human beings of the Federal University of Uberlândia (UFU), according to the attributions defined in resolution CNS 466/12, with the opinion nº 1.936.410. Parents and / or legal guardians signed the Free and Informed Consent Form (TCLE), in two ways.

Abstract

Objective: to evaluate the effect of gastrostomy on oral health and salivary age of children with Cerebral Palsy (CP).

Methods: This was a comparative observational study that evaluated 23 children with CP divided by: no gastrostomy (PCSG, n = 12) and with gastrostomy (PCCG, n = 11), aged 5 to 12 years. Oral health was evaluated by caries detection, lost and sealed (CPO-D/ceo-d) and by salivary analysis using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). For this analysis 1ml of saliva was collected using a vacuum pump. The statistical analyzes were performed by Mann-Whitney tests or t-non-paired test.

Results: CPO-D/ceo-d was reduced ($p = 0.0034$) in PCCG children compared to PCSG. The spectral profile of FTIR in PCCG and PCSG saliva presented 12 vibrational modes in lipids, carbohydrates, proteins or nucleic acid. The salivary concentration of thiocyanate (2057cm^{-1} , SCN^-) was increased in patients with PCCG compared to PCSG. However, no correlation ($p > 0.05$) was found between salivary concentration of SCN^- and CPO-D/ceo-d.

Conclusion: The children with PCCG higher salivary concentration of SCN^- compared to PCSG. Although they also presented lower CPO-D/ceo-d levels in relation to PCSG, no correlation of these with the concentration of SCN^- in saliva was not evidenced.

Key words: Cerebral Palsy; gastrostomy; oral health; FTIR; saliva.

Introduction

Non-progressive chronic childhood encephalopathy, also called Cerebral Palsy (CP), is a consequence of a brain injury that occurs during prenatal, perinatal or postnatal periods, which promote sensory and/or motor changes¹. It is the most common serious physical deficiency in childhood and affects about 2 children per 1000 live births².

One in three patients with CP has some degree of involuntary and passive sialorrhea, due to the inability to handle oral secretion³. The reduction of salivary flow is related to greater susceptibility and activity of dental caries⁴. Saliva has multiple functions that occur both by its fluid characteristic and by specific components. Cleaning of the oral cavity, formation of food bolus, solubilization of food substances facilitating chewing and swallowing, removal of bacteria and food, and mucosal lubrication are especially related to the fluid characteristics of saliva⁵. It is known that children with CP have a reduction in salivary flow, a decrease in salivary pH, impairment of buffer capacity⁶, change in enzymatic activity and concentration of sialic acid in saliva⁷. Additionally, it has been demonstrated that children with CP present alteration of salivary osmolality, which may be a potential indicator of the risk of caries⁸.

However, the effect of CP on the salivary composition is difficult to evaluate, since the individuals affected by such a diagnosis also need continuous use of medications that can alter this composition. Patients with CP, with or without gastrostomy, present facial muscular hypotonia and masticatory, oval palate, sialorrhea and involuntary movements. These factors, associated with the difficulty of hygiene, compromise the maintenance of oral health⁹. Usually, these patients may also present an increase in protein concentration, which increases the risk for the development of oral diseases¹⁰. In addition, patients with CP associated with gastrostomy, because they do not have an oral diet, present a decrease in intraoral mechanical forces and the absence of chewing facilitates the deposition of pathogenic plaque, which results in gingival inflammation and presence of dental calculus¹¹. On the other hand, patients without gastrostomy use a more pasty diet, which in turn stays in the oral cavity longer, characterizing a risk factor for caries¹².

Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy is a well-established physicochemical technique that identifies structural molecules based on their absorption from the infrared beam. Each biomolecule will exhibit a single spectrum (wave number), which represents the vibrational mode of this structural bond. The vibration modes of biological samples, such as saliva, allow to identify and quantify specific components quickly and accurately¹³.

Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of gastrostomy in children with CP on oral health and salivary composition through FTIR. In addition, to evaluate possible correlations between the salivary components with the index of decayed, lost and restored teeth (CPO-D/ceo-d).

Methods

This study was approved by the Committee of Ethics in Research (CEP) in human beings of the Federal University of Uberlândia (UFU) (n° 1.936.410). Parents and/or legal guardians signed the Free and Informed Consent Form (FICF), in two copies.

This was a transversal, descriptive and analytical study that evaluated the salivary components and oral health of patients with CP with or without gastrostomy. Considering the data on the variable CPO-D/ceo-d, described in a previous study¹⁴, a significant minimum difference of 2.3 units, 95% confidence level, two groups to be compared and sample standard deviation of 2.7 units, the minimum sample size was $n = 11$ participants in each group.

The patients selected for the present study were assisted by the Special Patients Sector (SEPAE), of the Federal University of Uberlândia. Participants of both sexes, aged between 5 and 12 years, who had a diagnosis of CP, classified as spastic quadriplegics, were included, as evidenced by medical opinion. The eligible children ($n = 23$) were divided into: individuals with CP non-gastrostomy (PCSG, $n = 12$) and individuals with CP and gastrostomy (PCCG, $n = 11$).

The evaluation of oral health was made based on the CPO-D/ceo-d index recommended by the WHO in the Manual of Instructions for Basic Epidemiological Survey on Oral Health¹⁵. The procedures were performed by a single evaluator. Saliva collection was performed with patients comfortably seated in the dental chair in the morning between 8:00 and 10:00 hours, at least 2 hours after the meal and 1 hour after oral hygiene. Saliva was collected (1ml) with the aid of the Nevoni 5005BRST portable vacuum and stored in the sterile eppendorf (Eppendorf Tubes® 3810X). It was stored in a freezer at -80°C until the time of processing¹⁶.

The composition of the saliva by the Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) in regions with an electromagnetic spectrum between 4000 cm^{-1} and 400 cm^{-1} (ATR / FTIR Vertex 70; Bruker, Ettlingen, Germany) was evaluated. For analysis of the salivary

composition, the saliva was thawed and 200 μL of the saliva was lyophilized. The lyophilized samples were placed on the FTIR crystal and the spectra were obtained by means of 32 scans.

For salivary analysis data was normalized by the vector method, the baseline was corrected and the band area analysis was obtained from the Opus 6.5 program (Bruker, Ettlingen, Germany). After the analysis, the data was saved in txt format and later plotted in the Origin Pro 9.0 program. The data were tabulated and the statistical analysis was done using the GraphPad Prism 7.0 (GraphPad, USA) program. For the vibrational modes 2929 cm^{-1} , 2057 cm^{-1} , 1068 cm^{-1} and 836 cm^{-1} , the Mann-Whitney test was used, and for the other vibrational modes, an unpaired t-test was used. To evaluate the association between the quantitative variables, the Spearman correlation coefficient was used. For all analyzes, a significance level of 5% was considered.

Results

Some demographic and oral characteristics of PCSG and PCCG children are shown in table 1. The CPO-D/ceo-d index was reduced ($p = 0.0034$) in the PCCG group compared to the PCSG group.

Figure 1 shows the mean of the FTIR spectra obtained from PCSG and PCCG samples. Twelve vibrational modes were obtained, being 2960 cm^{-1} ; 2929 cm^{-1} ; 2057 cm^{-1} ; 1637 cm^{-1} ; 1544 cm^{-1} ; 1449 cm^{-1} ; 1404 cm^{-1} ; 1307 cm^{-1} ; 1243 cm^{-1} ; 1068 cm^{-1} ; 872 cm^{-1} ; 836 cm^{-1} .

In all the samples analyzed by the FTIR four groups of macromolecules were detected in saliva: lipids, proteins, carbohydrates and nucleic acids. The specific components of macromolecules related to the specific vibrational mode are described in Table 2.

Figure 2 demonstrates that there were no observed changes ($p > 0.05$) in the vibrational modes CH_3 (2960 cm^{-1}), asymmetric stretching of the CH_2 (2929 cm^{-1}), νNH (1637 cm^{-1}), δNH (1544 cm^{-1}) asymmetric folding CH_3 of the methyl group of proteins (1449 cm^{-1}), asymmetric Deformation CH_3 (1404 cm^{-1}), asymmetric stretching (1307 cm^{-1}), PO_2 asymmetric (1243 cm^{-1}), stretching of C-O Ribose (1068 cm^{-1}), C_3' endo/anti (A-helix) (872 cm^{-1}) and C_2' endo/anti (B-helix) (836 cm^{-1}).

However, increase was observed ($p = 0.0336$) in the concentration of salivary SCN^- (2057 cm^{-1}) in PCCG children compared to PCSG.

When correlating the CPO-D/ceo-d with the concentration of the 12 salivary components, no statistically significant correlations were observed ($p > 0.05$).

Discussion

These data indicate that children with CP and gastrostomy have reduced CPO-D/ceo-d indexes compared to children with CP who are given oral feeding. In addition, there was an increase in the concentration of salivary SCN^- in children with gastrostomy. However, no significant correlation was found between the salivary components with the CPO-D/ceo-d index. Taken together, considering the lack of relationship between salivary composition and oral health, the data suggest that the reduction/elimination of diet in the oral cavity of children with CP after gastrostomy insertion may be a preponderant factor for the reduction of CPO-D/ceo-d.

In this study, the salivary composition of the PCSG and PCCG children was evaluated by FTIR. This method has been used extensively in the biomedical area, since it allows a fast and non-destructive analysis of the organic and inorganic composition of components in different physical states of matter^{13,17}.

In the present study that evaluated children with CP and with or without gastrostomy, 12 vibrational modes were detected. In the vibrational mode 2057cm^{-1} , referring to the thiocyanate component, it was possible to observe increase in PCCG children compared to PCSG. Thiocyanate (SCN^-) is an inorganic component present in saliva and toxic to the bacterial cell, since it acts in the glycolytic pathway, mainly of *Streptococcus* species (bacteria responsible for caries)^{18,19}. The causes of the influence of high values of thiocyanate present in the saliva of children with cerebral palsy and gastrostomy have not yet been fully clarified.

In the vibrational modes 1449 cm^{-1} , 1404 cm^{-1} , 1307 cm^{-1} , 1243 cm^{-1} , 1068 cm^{-1} protein and carbohydrate components were found. Saliva proteins are subdivided into mucins, proline-rich proteins, cystathins, histatins and statins, amylases, carbonic anhydrases and salivary peroxidases. It is known that these components, especially mucin (proteins with high carbohydrate content) are responsible for lubrication, protection against dehydration and maintenance of salivary viscoelasticity. They also selectively modulate adhesion of microorganisms to superficial oral tissue, which contributes to the control of bacterial and fungal colonization^{20,21}. In the vibrational modes 872 cm^{-1} and 836 cm^{-1} components were found concerning nucleic acids. Thus, it is possible to use saliva for analysis of DNA and RNA²², since in such groups were identified such a vibrational mode. We did not identify other studies on the analysis of salivary composition in patients with CP using FTIR. However, the studies found in the literature, which aimed to evaluate the relationship between salivary composition and dental caries in this population, have observed that higher osmolarity values increase the risk of caries in children with CP²³.

The results obtained did not show any statistically significant correlation between the 12 vibrational modes detected in the FTIR with the CPO-D/ceo-d for none of the groups. However, Zhang *et al.* have shown that endogenous metabolites, including nucleic acids, lipids, amino acids, peptides, vitamins, organic acids, thiols and carbohydrates present in saliva are substances that contribute to a better understanding of the phenotypes of diseases in the biological system, since the teeth of the sick individuals present changes in the metabolism that can serve as a primary indicator²⁴.

The PCCG children presented a reduction in the CPO-D/ceo-d index compared to PCSG, which corroborates another study by Previtali *et al.*¹⁴, which showed that children with gastric tube-fed CP had a lower caries index when compared to children with CP in oral feeding. Similar results were also found in other studies, in which low caries activity is observed for patients with gastrostomy^{25,26}. Studies that correlate the salivary composition with dental caries are still not conclusive, but with the advancement of research and proteomic analysis a correlation between these factors can be identified²⁸.

Conclusion

The results of the present study suggest that dietary insertion by gastrostomy in children with cerebral palsy may reduce CPO-D/ceo-d indexes as compared to oral feeding. In addition, it was verified that the majority of the salivary components present similar concentration in the saliva of children with cerebral palsy associated or not to the use of gastrostomy. Additionally, we demonstrated that the increase in the concentration of salivary SCN⁻ in individuals with gastrostomy was not correlated with the change in the CPO-D/ceo-d index. We believe that the improvement of oral health observed in children with cerebral palsy under the use of gastrostomy compared to oral feeding may be an important factor to aid in the medical decision of whether or not to indicate gastrostomy.

References

1. Reddihough DS, Collins KJ. The epidemiology and causes of cerebral palsy. *Aust J Physiother.* 2003; 9:7-12.
2. Rotta NT. Cerebral palsy, new therapeutic possibilities. *J. Pediatr.* 2002. 78, (supl.1): S48-S54.
3. Senner JE, Logemann J, Zecker S, Gaebler-Spira D. Drooling, saliva production, and swallowing in cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2004; 46:801-6.
4. Tenovuo J: Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 82-6.
5. Kaufman CL, Kaiser DR, Steinberger J, Kelly AS, Dengel DR. Relationships of cardiac autonomic function with metabolic abnormalities in childhood obesity. *Obesity.* 2007; 15:1164-171.
6. Santos MT, Guaré R, Leite M, Ferreira MC, Nicolau J. Does the neuromotor abnormality type affect the salivary parameters in individuals with cerebral palsy? *J Oral Pathol Med.* 2010; 39:770-774.
7. Rodrigues MTS, Siqueira WL, Nicolau J. Amylase and peroxidase activities and sialic acid concentration in saliva of adolescents with cerebral palsy. *Quintessence Int.* 2007; 38:467- 472.
8. Santos MT, Ferreira MC, Mendes FM, de Oliveira Guaré R. Assessing salivary osmolality as a caries risk indicator in cerebral palsy children. *Int J Paediatr Dent.* 2014; 24:84-89.
9. Prat MJG, Jiménez JL, Quesada JRB. Estúdio epidemiológico de lascariesenun grupo de niños com parálisis cerebral. *Méd Bucal.* 2003; 8: 45-50.
10. Santos MT, Batista R, Guaré RO, Leite MF, Ferreira MC, Durão MS. Salivary osmolality and hydration status in children with cerebral palsy. *J Oral Pathol Med.* 2011; 40:582-6.
11. Santos MTBR, Masiero D, Novo NF, Simionato, MRL. Bucal conditions in children with cerebral palsy. *J Dent Child.* 2003; 70: 40- 6.
12. Hidas A, Cohen J, Beerli M, Shapira J, Steinberg D, Moskovitz M. Salivary bacteria and oral health status in children with disabilities fed through gastrostomy. *Israel Int J of Pediatr Dent.* 2010; 20: 179-185.

13. Orphanou CM, Walton-Williams L, Mountain H, Cassella J. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy. *Forensic Sci Int.* Jul; 2015; 252: 10-16
14. Previtali EF, Santos MTBR. Cárie dentária e higiene bucal em crianças com paralisia cerebral tetraparesia espástica com alimentação por vias oral e gastrostomia. *Pesq Bras Odontoped Clín Integr.* 2009; 9:43-47.
15. World Health Organization. Oral health surveys: basic methods. 4th ed. Geneva: ORH/EPID; 1997.
16. Sabino-Silva R, Okamoto MM, David-Silva, A, Mori RC, Freitas HS, Machado UF. Increased SGLT1 expression in salivary gland ductal cells correlates with hyposalivation in diabetic and hypertensive rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 2003; 5:64.
17. Ellis DI, Goodacre R. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. *Analyst* 2006; 8:875-85.
18. Tenovuo J, Valtakoski J, Knuutila MLE. Antibacterial activity of lactoperoxidase adsorbed by human salivary sediment and hidroxyapatita. *Carie Res.* 1977; 11:252-262.
19. Thomas EL, et al. Leukocyte myeloperoxidase and salivary peroxidase: identification in human mixed saliva. *J Dent Res.* 1994; 73: 544-55.
20. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001; 85:162-169.
21. Tabak LA, Levine MJ, Mandel ID, Ellison SA. Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J Oral Pathol.* 1982; 11: 1-17.
22. Vieira GS, Tavares CAP, Bouchardet FCH. Análise de DNA em Odontologia Forense. *Arqu bras Odont.* 2010; 6 2: 64-70.
23. Santos MT, Ferreira MC, Mendes FM, de Oliveira Guaré R. Assessing salivary osmolality as a caries risk indicator in cerebral palsy children. *Int J Paediatr Dent.* 2014; 24: 84-89.
24. Zhang A, Sun H, Wang X. Saliva metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis, and treatment. *Appl Biochem Biotechnol.* 2012; 168:1718-27.
25. Jawadi AH, Casamassimo PS, Griffen A, Enrile B, Marcone M. Comparison of oral findings in special needs children with and without gastrostomy. *Pediatr Dent.* 2004; 6: 283-288.
26. Dymont HA, Casas MJ. Dental care for children fed by tube: a critical review. *Spec*

- Care Dentist. 1999; 19: 220-224.
27. Castagnola M, Picciotti PM, Messana I, Fanali C, Fiorita A, Cabras T, et al. Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* Dec. 2011; 31:347-357.
 28. Caetano PC Jr, Strixino JF, Raniero L. Analysis of saliva by Fourier transform infrared spectroscopy for diagnosis of physiological stress in athletes. *Res Biomed Eng.* 2015; 31:116-124.
 29. Movasagui Z, Rehman S, I. ur Rehman. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissue. *Applied Spectroscopy Reviews.* 2008; 43:134-179.

Table 1: Characteristics of the studied population

	Group PCSG (n = 12)	Group PCCG (n = 11)	Value p
Sex			
Male n (%)	6 (50%)	7 (63,6%)	0,5090
Female n (%)	6 (50%)	4 (36,4%)	
Age (years) Mean (Standard Deviation)	7,50 (\pm 1,93)	6,73 (\pm 1,79)	0,3135
CPO-D/ceo-d Mean* (Standard Deviation)	5,25(\pm 4,03)	1,09(\pm 2,17)	0,0034

*CPO-D/ceo-d: There were no lost teeth, only decayed and restored.

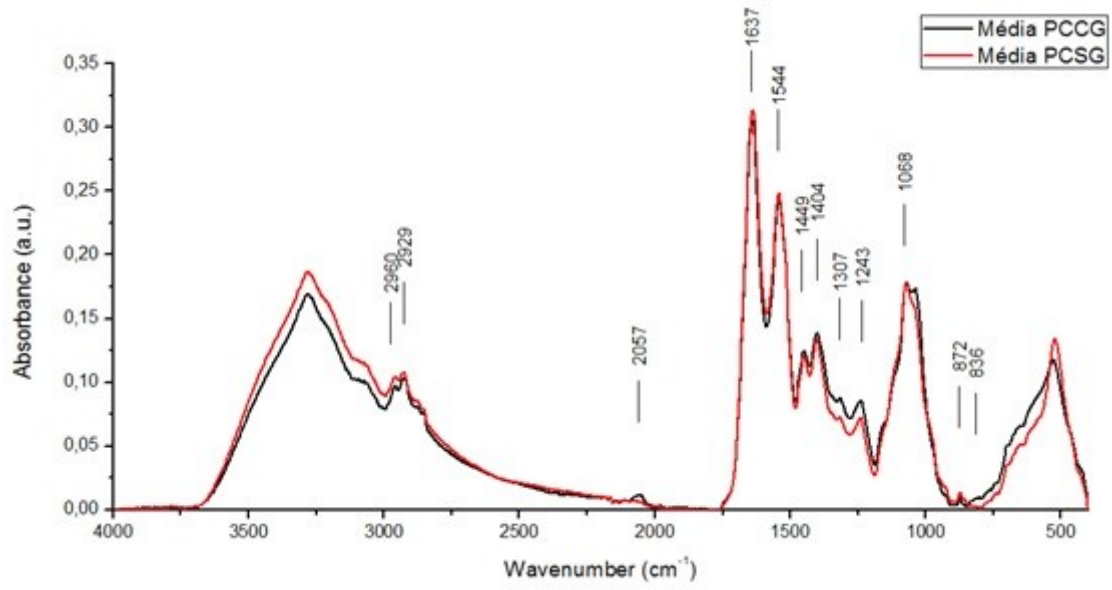


Figure 1: Mean of the FTIR spectra obtained from the samples of the evaluated groups.

Table 2: Identification of the specific components and the vibrational mode found at each wave frequency analyzed in the samples.

Wave frequency (cm ⁻¹)	Vibrational Mode	Component	References
2960	CH ₃	Lipids	(28,29)
2929	Asymmetrical stretch of the group CH ₂	Lipids	(13,29)
2057	Elongation C-N of SCN ⁻	Thiocyanate (SCN ⁻)	(13)
1637	νNH	Amide I	(13,29)
1544	δNH	Amide II	(13,29)
1449	Asymmetric folding CH ₃ of the methyl group of proteins	Proteins (α-Amylase; Albumin; Cystatin; Mucinas; Proline; sIgA)	(28,29)
1404	Asymmetric Deformation CH ₃	Proteins	(13,28,29)
1307	C-N Stretch asymmetric	Amide III	(13,29)
1243	PO ₂ asymmetric	Proteins (Amide III) Collagen Nucleic acids	(28,29)
1068	C-O Ribose Stretch	Carbohydrates	(28,29)
872	C ₃ ' endo/anti (A-helix)	Nucleic acids	(29)
836	C ₂ ' endo / anti (B-helix)	Nucleic acids	(29)

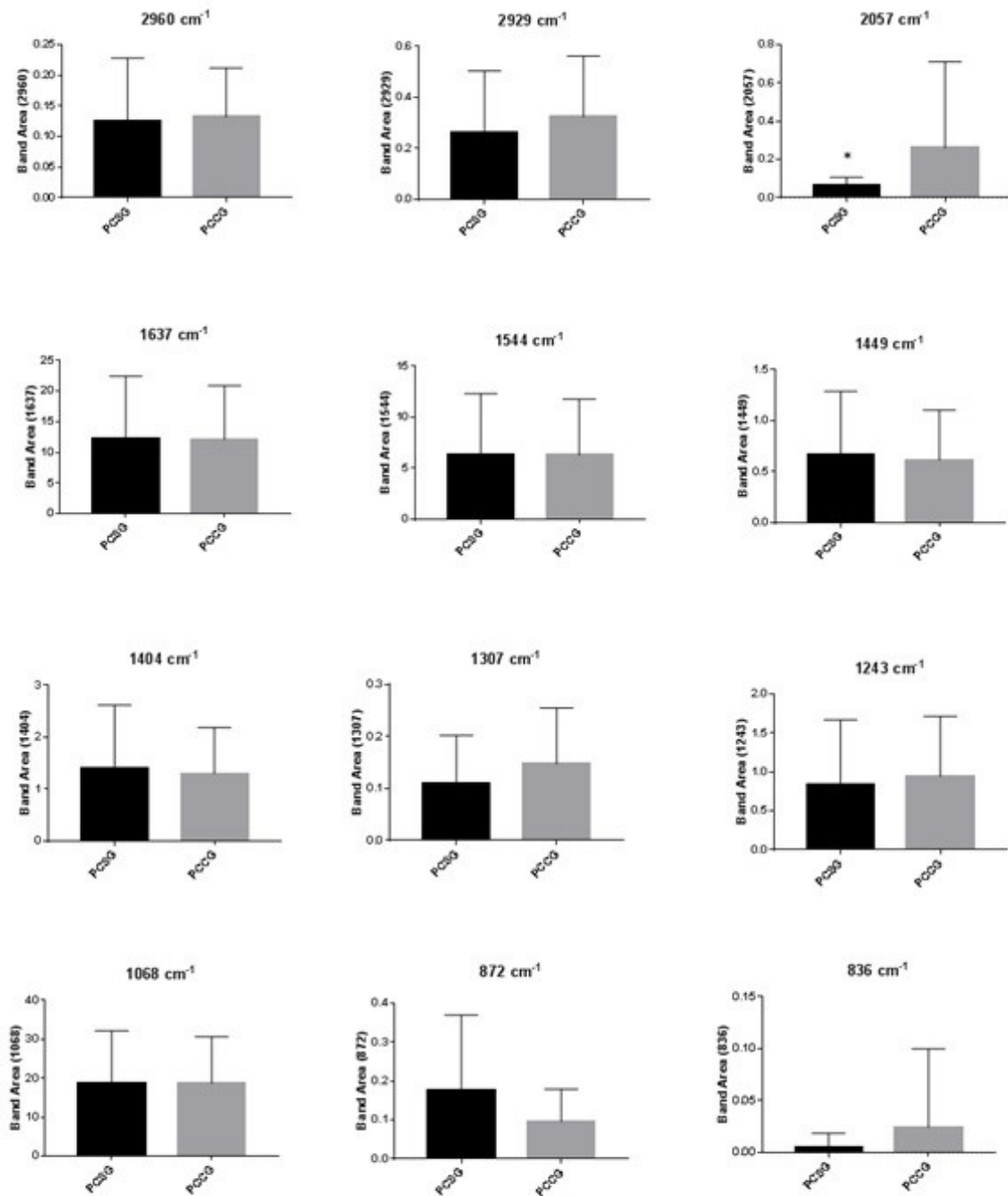


Figure 2: Concentration of salivary components present in the saliva of PCSG and PCCG children. Values were expressed as mean \pm standard deviation

5. Referências

1. AFRAMIAN, D. J. et al. The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors. **Oral Diseases**, v. 12, n. 4, p. 3 - 420, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01217.x>
2. AHMED S. S. S. J. et al. Studies on the spectral lines of salivary samples taken from smokers and nonsmokers. **International Journal of Health**, v. 10, n. 2, 2010. <https://doi.org/10.5580/1264>
3. BAX, M.E.A. Proposed definition and classification of cerebral palsy, April. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 47, n. 8, p. 571-571, 2005. <https://doi.org/10.1017/S001216220500112X>
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de ações programáticas estratégicas: diretrizes de atenção à pessoa com paralisia cerebral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
5. BROWN, L. M. et al. Supragingival calculus in children with gastrostomy feeding: significant reduction with a caregiver-applied tartar-control dentifrice. **Pediatric Dental Journal**, v. 28, n. 5, p 4 - 410, 2006.
6. CHEN, C. et al. Oral food consumption and subgingival microorganisms: subgingivalmicrobiota of gastrostomy tube- fed children and healthy controls. **Journal of Periodontology**, v. 68, n. 12, p. 8 - 1163, 1997. <https://doi.org/10.1902/jop.1997.68.12.1163>
7. EPSTEIN, J. B. et al. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucosites: a review of the literature. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 94, n. 1, p. 39 - 44, 2002. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.126018>
8. HIDAS, A. et al. Salivary bacteria and oral health status in children with disabilities fed through gastrostomy. **Israel International Journal of**

- Pediatric Dentistry**, v. 20, p. 179-185, 2010.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2010.01039.x>
9. HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 85, p. 162-169, 2001. <https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>
 10. JAN, B. M.; JAN, M. M. Dental health of children with cerebral palsy. **Neurosciences**, v. 21, n. 4, p. 314 - 318, 2016.
<https://doi.org/10.17712/nsj.2016.4.20150729>
 11. JAWADI, A. H. et al. Comparison of oral findings in special needs children with and without gastrostomy. **Pediatric Dental Journal**, v. 26, n. 3, p. 8 - 283, 2004.
 12. KAUFMAN C, L. et al. Relationships of cardiac autonomic function with metabolic abnormalities in childhood obesity. **Obesity**, v. 15, n. 5, p. 71 - 1164, 2007. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.619>
 13. KAWAHARA, H. et al. Should fundoplication be added at the time of gastrostomy placement in patients who are neurologically impaired? **Journal of Pediatric Surgery**, v. 45, n. 12, p. 6 - 2373, 2010.
<https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2010.08.034>
 14. LI X. et al. Identification of colitis and cancer in colon biopsies by fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. **Scientific World Journal**, 2012. Doi: 10.1100/2012/93614.
 15. MANDEL, I. D. The diagnostic uses of saliva. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Copenhagen. v. 19, n. 3, p. 119-125, 1990.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1990.tb00809.x>
 16. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Organização Panamericana de Saúde. **CIF: Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003.
 17. PRAT, M. J. G. et al. Estúdio epidemiológico de lascariesenun grupo de niños com parálisis cerebral. **Medicina Oral**, v. 8, p. 45-50, 2003.

18. PREVITALI, E. F.; SANTOS, M. T. B. R. Cárie dentária e higiene bucal em crianças com paralisia cerebral tetraparesia espástica com alimentação por vias oral e gastrostomia. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria Clínica Integrada.**, v. 9, n. 1, p. 43-47, 2009. <https://doi.org/10.4034/1519.0501.2009.0091.0008>
19. REDDIHOUGH, D. S.; COLLINS, K. J. The epidemiology and causes of cerebral palsy. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 49, n. 1, p.7-12, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0004-9514\(14\)60183-5](https://doi.org/10.1016/S0004-9514(14)60183-5)
20. RODRIGUES, S. M. T. Amylase and peroxidase activities and sialic acid concentration in saliva of adolescents with cerebral palsy. **Quintessence**, v. 38, n. 6, p. 72 - 467, 2007.
21. ROTTA, N. T. Cerebral palsy, new therapeutic possibilities. **Journal of Pediatric**, Rio de Janeiro, v. 78, (supl.1), p. 48- 54, 2002.
22. SANTOS, M. T. B. R. et al. Bucal conditions in children with cerebral palsy. **Journal of Dentistry for Children**, v. 70, p. 6 - 40, 2003.
23. SANTOS, M. T. et al. Does the neuromotor abnormality type affect the salivary parameters in individuals with cerebral palsy? **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 39, n. 10, p. 4 - 770, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2010.00919.x>
24. SANTOS, M. T. et al. Salivary osmolality in individuals with cerebral palsy. **Archives of Oral Biology**, v. 55, n. 11, p. 60 - 855, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.07.016>
25. SANTOS, M. T. et al. Salivary osmolality and hydration status in children with cerebral palsy. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 40, n. 7, p. 6 - 582, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2011.01027.x>
26. SENNER, J. E. et al. Drooling, saliva production, and swallowing in cerebral palsy. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 46, p. 801-806, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2004.tb00444.x>

27. SILVA, T. M. C. et al. Orientação de higiene bucal e experiência de cárie em pacientes com paralisia cerebral em uso de medicamentos. **Acta Fisiátrica**, São Paulo v. 21, n. 4, p. 167-170, 2014.
28. SULLIVAN, P. B. Does gastrostomy tube feeding in children with cerebral palsy increase the risk of respiratory morbidity? **Archives of Disease in Childhood**, v. 91, n. 6, p. 478 - 482, 2006. <https://doi.org/10.1136/adc.2005.084442>
29. TAHMASSEBI, J. F.; CURZON, M. E. The cause of drooling in children with cerebral palsy – hypersalivation or swallowing defect? **International Journal of Pediatric Dentistry**, v. 13, p. 106 - 111, 2003, <https://doi.org/10.1046/j.1365-263X.2003.00439.x>
30. OLIVEIRA, A. L. B. M.; GIRO, E. M. A. Importância da abordagem precoce no tratamento odontológico de pacientes com necessidades especiais. **Odonto**, v. 19, n. 38, p. 45-51, 2011. <https://doi.org/10.15603/2176-1000/odonto.v19n38p45-51>
31. ORPHANOU, C. M. The detection and discrimination of human body fluids using ATR FT-IR spectroscopy. **Forensic Science International**, v. 252, p. 10-16, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.04.020>
32. UNFER, B.; SALIBA, O. Avaliação do conhecimento popular e práticas cotidianas em saúde bucal. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 190-195, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102000000200014>
33. XIE, Y. B. Diagnosis of colon cancer with Fourier transform infrared spectroscopy on the malignant colon tissue samples. **Chinese Medical Journal**, v. 124, p. 16, p. 2 - 2517, 2011.

