



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de São José dos Campos  
Instituto de Ciência e Tecnologia

**RENATA DOS SANTOS NUDI**

**ESTUDO EXPLORATÓRIO DOS EFEITOS DAS TERAPIAS COM  
ELETROESTIMULAÇÃO NEUROMUSCULAR E DISPOSITIVOS  
BIOMECÂNICOS INTRAORAL NA SALIVA EM PACIENTES COM  
SÍNDROME DE DOWN E APNEIA OBSTRUTIVA DO SONO**

2022

**RENATA DOS SANTOS NUDI**

**ESTUDO EXPLORATÓRIO DOS EFEITOS DAS TERAPIAS COM  
ELETROESTIMULAÇÃO NEUROMUSCULAR E DISPOSITIVOS BIOMECÂNICOS  
INTRAORAL NA SALIVA EM PACIENTES COM SÍNDROME DE DOWN E APNEIA  
OBSTRUTIVA DO SONO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA E TECNOLOGIA APLICADA À ODONTOLOGIA.

Área: Inovação tecnológica multidisciplinar com ênfase em odontologia. Linha de pesquisa: Inovação tecnológica.

Orientadora: Profa. Assoc. Mônica Fernandes Gomes

São José dos Campos  
2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Nudi, Renata dos Santos

Estudo exploratório dos efeitos das terapias com eletroestimulação neuromuscular e dispositivos biomecânicos intraoral na saliva em pacientes com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono / Renata dos Santos Nudi.

- São José dos Campos: [s.n.], 2022.  
89 f.: il.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Aplicada à Odontologia - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Mônica Fernandes Gomes.

1. Síndrome de Down. 2. Saliva. 3. Terapia por estimulação elétrica. 4. Apneia obstrutiva do sono. 5. Aparelhos ativadores. I. Gomes, Mônica Fernandes, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

## **BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Assoc. Mônica Fernandes Gomes** (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Prof. Assoc. Jose Benedito Oliveira Amorim** (Membro Titular)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

**Profa. Dra. Lilian Chrystiane Giannasi**

UniEvangélica –Universitário Evangélica de Goiás

Curso de Odontologia

Cidade Universitária – Anápolis – GO

São José dos Campos, 18 de julho de 2022.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a minha família, meus pais Roberto Robinson de Araujo Nudi, Jocelina dos Santos Nudi e a minha irmã Roberta dos Santos Nudi que sempre estão do meu lado, apoiando-me e incentivando-me em todas as minhas decisões.

Dedico também a minha Professora Orientadora Dra. Mônica Fernandes Gomes, que sempre me apoiou, ensinou-me e deu-me a oportunidade de continuar o seu trabalho de Projeto de Pesquisa.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por sempre me iluminar e me dar força nas etapas da minha vida, a minha família, minha mãe, meu pai e minha irmã que sempre me apoiaram e me incentivaram para que eu realizasse esse meu grande sonho.

A minha professora orientadora Dra. Mônica Fernandes Gomes por ter muito me ensinado, por ter confiado em mim, incentivando-me ao longo de todo o curso, sempre com otimismo e sabedoria.

Aos pacientes com SD, que puderam participar, colaborando com a pesquisa.

Ao auxílio pesquisa do Programa de Pós Graduação.

Ao professor Dr. Adriano Bressane, que contribuiu com as análises estatísticas.

Ao professor Assoc. José Benedito Oliveira Amorim por ter feito parte da Banca no meu Exame de Qualificação, contribuindo com preciosas sugestões e cedendo-me o material para que eu pudesse ter um maior conhecimento da fisiologia salivar.

Ao professor Dr. Celso Muller Bandeira por também compor minha Banca no meu Exame de Qualificação, contribuindo com valiosas observações.

A professora Dra. Lilian Chrystiane Giannasi por ter aceitado o convite de fazer parte da minha Banca na defesa da minha dissertação e por ter me dado a oportunidade de continuar a desenvolver essa pesquisa.

As mestras Elaine Fillietaz Bacigalupo e Marignês Theotonio dos Santos Dutra por terem participado de partes importantes do trabalho.

Aos professores do Mestrado Profissional.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação professora Dra. Paula Komori de Carvalho.

Aos meus colegas de turma que sempre se ajudaram mutuamente, trocando experiências e dúvidas.

A todos os professores do programa por terem contribuído com minha aprendizagem neste momento tão importante em minha carreira e, com certeza, me trará novas experiências e oportunidades.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente colaboraram e estiveram presentes nesta pesquisa.

Nudi RS. Estudo exploratório dos efeitos das terapias com eletroestimulação neuromuscular e dispositivos biomecânicos intraoral na saliva em pacientes com síndrome de Down e apneia obstrutiva do sono [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

## RESUMO

Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos das terapias com eletroestimulação neuromuscular e dispositivos biomecânicos intraorais sobre as propriedades físico-química e microbiológica da saliva em pacientes com síndrome de Down (SD) e apneia obstrutiva do sono (AOS). Ainda investigamos a morfologia das glândulas salivares maiores: parótidas, submandibulares e sublinguais para verificar possíveis desordens estruturais nesses indivíduos. Vinte e três pacientes adultos com SD e AOS, com idade entre 18 e 31 anos, de ambos os gêneros, foram convidados para participar deste estudo. Dentre esses pacientes, 18 concluíram as terapias propostas e foram divididos em três grupos: EENMs (n=7; terapia com eletroestimulação neuromuscular de superfície), DM<sub>HB</sub> (n=4; terapia com dispositivo mastigatório com hiperboloide) e AIO<sub>m</sub> (n=7; terapia com aparelho intraoral de avanço mandibular). A EENMs foi aplicada sobre os músculos masseter (porção superficial) e temporal (porção anterior), em ambos os lados. O DM<sub>HB</sub> foi posicionado entre as faces oclusais dos dentes posteriores e o paciente mordeu suas pontas ativas com hiperboloide. O AIO<sub>m</sub> foi utilizado somente no período de sono. Esse aparelho foi ativado lentamente, de 0,5 mm a 1,0 mm a cada 1 ou 2 semanas, respeitando as limitações fisiológicas do paciente. Todas as terapias foram realizadas durante 2 meses consecutivos. Antes e após as terapias propostas, testes de saliva foram realizados, incluindo taxa de fluxo salivar (TFS), valor de pH, capacidade tampão (CT), cortisol salivar matinal (CS<sub>matinal</sub>) e noturno (CS<sub>noturno</sub>) e identificação de *Pseudomonas aeruginosas* (*P. aeruginosas*). A seguir, a morfologia das glândulas salivares maiores, foram investigadas através do exame de ultrassonografia. Na análise estatística, teste de Wilcoxon (*signed-rank test*) para análise de correlação e teste de Kruskal-Wallis com o teste de Dunn para comparações múltiplas não paramétricas foram feitos. O nível de significância foi de  $p < 0,05$ . Embora a TFS tenha permanecido reduzida, a produção de saliva aumentou em todas as terapias. A TFS mostrou diferença estatística apenas no AIO<sub>m</sub> ( $p < 0,0225$ ). Houve diferença estatística no valor de pH apenas no EENMs ( $p < 0,0346$ ). Nenhuma diferença estatística no CT foi encontrada; entretanto, os valores de normalidade foram alcançados (valores de limítrofe para normal) em 50% para DM<sub>HB</sub> e em 29% para EENMs e AIO<sub>m</sub>. Os valores normais de CS<sub>n</sub> não foram afetados, embora os níveis de CS<sub>n</sub> tenham aumentado estatisticamente na EENM ( $p < 0,0360$ ) e entre as terapias EENM e AIO<sub>m</sub> ( $p < 0,0058$ ). Nenhuma espécie de *P. aeruginosa* foi identificada em nossos pacientes antes das terapias. Neste estudo, pudemos concluir que a redução de fluxo salivar permaneceu nos pacientes com SD e AOS após as terapias propostas; entretanto, o AIO<sub>m</sub> seguido do DM<sub>HB</sub> mitigaram a severidade dessa alteração. A EENMs teve melhor desempenho em relação a qualidade da saliva quando comparado com as demais terapias. Dentre as terapias, os pacientes tratados com AIO<sub>m</sub> mostraram alta susceptibilidade ao estresse no período noturno. Nenhum paciente tinha risco de pneumonia por aspiração, antes das terapias. Nenhuma anomalia congênita de glândulas salivares maiores foi evidenciada, todavia alterações adquiridas foram observadas em alguns pacientes

com SD e AOS.

Palavras-chave: síndrome de Down; saliva; terapia por estimulação elétrica; apneia obstrutiva do sono; aparelhos ativadores; hipotonia muscular.

Nudi RS. *Exploratory study of the effects of therapies with neuromuscular electrostimulation and intraoral biomechanical devices on saliva in patients with Down syndrome and obstructive sleep apnea [dissertation].* São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

## **ABSTRACT**

*This study aims to evaluate the effects of neuromuscular electrostimulation therapies and intraoral biomechanical devices on the physicochemical and microbiological properties of saliva in patients with Down syndrome (DS) and obstructive sleep apnea (OSA). In addition, we investigated the major salivary glands' morphology: the glands of parotid, submandibular and sublingual to verify possible structural disorders in these individuals. Twenty-three adult patients with DS and OSA, with age range from 18 to 31 years old, of both genders, were invited to participate in this study. Among these patients, 18 patients completed the proposed therapies, and they were divided into three groups of therapy: sNME (n=7; therapy with surface neuromuscular electrostimulation), MD<sub>HB</sub> (n=4; therapy with masticatory device with hyperboloid) and mIOA (n= 7; therapy with mandibular advancement intraoral appliance). The sNME was applied on the masseter (superficial portion) and temporal (anterior portion) muscles on both the sides. The MD<sub>HB</sub> was positioned between the occlusal surfaces of the posterior teeth and the patient bit the active tips with hyperboloid. The mIOA was used only during the sleep. This appliance was activated slowly, from 0.5 mm to 1.0 mm per 1 to 2 weeks, respecting the patient's physiological limitations. All therapies were performed for 2 consecutive months. Before and after the proposed therapies, saliva tests were done, including salivary flow rate (SFR), pH value, buffering capacity (BC), morning (*morning*SC) and night (*night*SC) salivary cortisol, and identification of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Furthermore, the major salivary glands' morphology, were investigated by means of ultrasound examination. For statistical analysis, Wilcoxon signed-rank test for correlation analysis and Kruskal-Wallis test with Dunn's test for nonparametric multiple comparisons were done. The level of significance was  $p < 0.05$ . Although SFR remained reduced, the saliva production increased in all therapies. The SFR showed a statistical difference only in the mIOA ( $p < 0.0225$ ). Despite the few variations in the pH value, there was a statistical difference only in the sNME ( $p < 0.0346$ ). No statistical difference was found in BC; however, the normality values were reached (borderline to normal values) in 50% for MD<sub>HB</sub> and in 29% for sNME and mIOA. The normal values of nSC were not affected, even though the nSC levels have increased statistically in NMES ( $p < 0.0360$ ) and between the NMES and mIOA therapies ( $p < 0.0058$ ). No *P. aeruginosa* species was identified in our patients before the therapies. In this study, we concluded that the reduction in salivary flow remained in DS patients with DS and OSA after the proposed therapies; however, mIOA followed by MD<sub>HB</sub> mitigated the severity of this alteration. sNME showed better performance in relation to saliva quality when compared to other therapies. Among the therapies, patients treated with mIOA showed high susceptibility to stress, particularly at night. No patient had risk of aspiration pneumonia before the therapies. No congenital anomalies of major salivary glands were evidenced, but acquired alterations were observed in some patients with DS and OSA.*

*Keywords: Down syndrome; saliva; electric stimulation therapy; sleep apnea; activator appliances; muscle hypotonia.*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Equipamento de EENMs – Neurodyn II.....	30
Figura 2 – Paciente tratados com DM <sub>HB</sub> usando hiperboloides posicionados em dentes posteriores.....	32
Figura 3 – Terapia com AIO <sub>m</sub> usando um microchip termosensível.....	34
Figura 4 – Protocolo de estudo.....	3
Figura 5 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 EENMs....	46
Figura 6 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P4 EENMs....	47
Figura 7 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P6 EENMs....	48
Figura 8 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P7 EENMs....	49
Figura 9 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P1 DM <sub>HB</sub> ....	50
Figura 10 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 DM <sub>HB</sub> ..	51
Figura 11 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P4 DM <sub>HB</sub> ..	52
Figura 12 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 DM <sub>HB</sub> ..	53
Figura 13 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P2 AIO <sub>m</sub> ..	54
Figura 14 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 AIO <sub>m</sub> ..	55
Figura 15 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 AIO <sub>m</sub> ..	56

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Critérios de Inclusão e não-inclusão para participação dos pacientes adultos com SD e AOS.....	29
Quadro 2 - Protocolo de análise das amostras de saliva.....	38
Quadro 3 - Valores das taxas de normalidade para níveis de cortisol na saliva, nos períodos manhã e noite, determinados pelo fabricante Salimetrics.....	41
Quadro 4 - Análise dos exames de USG.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados dos parâmetros salivares dos pacientes com SD, antes (n=23) e após (n=17) as terapias com eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs; n=6), dispositivo mastigatório com hiperboloide (HB; n=4) e aparelho intraoral de avanço mandibular (AIOm; n=7)..... 59

Tabela 2 - Valores de probabilidade de associação entre a variável categórica de cada terapia e as variáveis exploratórias dos parâmetros salivares pelo teste de correlação de Wilcoxon..... 61

Tabela 3 - Valores de probabilidade de associação entre as três terapias e as variáveis exploratórias pelo teste de Kruskal-Wallis..... 61

Tabela 4 - Comparações múltiplas pareadas usando o teste de Dunn, após as terapias..... 62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIO <sub>m</sub>	Aparelho intraoral de avanço mandibular
AOS	Apneia obstrutiva do sono
BAASS	Bomba aspiradora adaptada para secreção salivar
CEBAPE	Centro de Biociências Aplicado a Pacientes com Necessidades Especiais
CS <sub>m</sub>	Cortisol matinal
CS <sub>n</sub>	Cortisol noturno
CT	Capacidade Tampão
DM <sub>HB</sub>	Dispositivo mastigatório hiperboloide
EENMs	Eletroestimulação neuro muscular de superfície
FCG	Fluido crevicular gengival
P	Pacientes
PSG	Polissonografia
SD	Síndrome de Down
TFS	Taxa de fluxo salivar
USG	Ultrassonografia

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Síndrome de Down: Característica Gerais.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Saliva.....</b>	<b>20</b>
<b>2.3 Glândulas salivares maiores.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 Propriedades da Saliva.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4.1 Capacidade tampão, pH e taxa de fluxo salivar.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4.2 Cortisol salivar.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4.3 Pseudomonas aeruginosa.....</b>	<b>26</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Sujeito de Pesquisa.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2 Terapias aplicadas.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2.1 Eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs).....</b>	<b>29</b>
<b>4.2.2 Dispositivo mastigatório com hiperboloides (DM<sub>HB</sub>).....</b>	<b>31</b>
<b>4.2.3 Aparelho intraoral de avanço mandibular (AIOM).....</b>	<b>33</b>
<b>4.3 Protocolo de estudo.....</b>	<b>35</b>
<b>4.3.1 Ultrassonografia das Glândulas Salivares Maiores.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3.2 Parâmetros Salivares.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3.2.1 Coleta de amostra de saliva.....</b>	<b>36</b>
<b>4.3.2.2 Determinação de taxa de fluxo salivar (TFS), pH salivar e capacidade tampão (CT).....</b>	<b>39</b>
<b>4.3.2.3 Determinação de níveis de cortisol salivar (CS).....</b>	<b>39</b>
<b>4.3.2.4 Isolamento e identificação de Pseudomonas aeruginosa.....</b>	<b>42</b>
<b>4.4. Cálculo Amostral e Análise Estatística.....</b>	<b>42</b>
<b>4.4.1 Teste de correlação entre antes e após a terapia com EENMs, DM<sub>HB</sub> e AIOM e demais variáveis.....</b>	<b>42</b>
<b>4.4.2 Teste de diferenciação estatística por análise de variâncias.....</b>	<b>43</b>
<b>5 RESULTADO .....</b>	<b>44</b>
<b>5.1 Ultrassonografia (USG) das Glândulas Salivares.....</b>	<b>44</b>
<b>5.2 Parâmetros Salivares.....</b>	<b>57</b>

<b>5.3 Cálculo Amostral e Análise Estatística.....</b>	<b>60</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Down (SD), causada por uma cópia extra do cromossomo 21 (*Trisomy for human chromosome 21, Hsa21*), é uma condição de aneuploidia humana com grande variabilidade no nível de penetrância (Bermudez et al., 2015; Contaldo et al., 2021). Os principais aspectos fenotípicos são deficiência intelectual em graus variáveis, baixa estatura, hipotonia muscular generalizada, dismorfia craniofacial, cardiopatias congênitas, principalmente defeitos septais e déficit do sistema imune (Davidovich et al., 2010; Domingues et al., 2017). Outras comorbidades podem estar associadas com essa condição, tais como: problemas gastrointestinais, urogenital (criptorquidismo e hipospadias), além de diminuição da função áudio-sensorial, distúrbios respiratórios incluindo apneia obstrutiva do sono (AOS), disfunção tireoidiana, leucemia, neuropatia, conduzindo à demência como a doença de Alzheimer, dentre outras (Bermudez et al., 2015; Duarte et al., 2015).

Algumas alterações do sistema estomatognático estão associadas com SD, incluindo doenças periodontais (60 a 100% dos casos), fissuras na superfície dos lábios (Siqueira et al., 2004) associados com respiração bucal, bruxismo, anomalias dentárias, maloclusão, disfunção temporomandibular, comissura labial com ângulo descendente, eversão do lábio inferior e, em particular, boca seca ou xerostomia, alterações craniofaciais e macroglossia relativa (Komatsu et al., 2013; Schwertner et al., 2016).

Embora não seja uma manifestação reconhecida da SD, a agenesia ou hipoplasia de glândulas salivares maiores, destacando particularmente as glândulas parótida e submandibular, podem ser encontradas (Odeh et al., 2013; Odeh et al., 2017). Isto pode resultar em expressivas alterações das estruturas glandulares e das propriedades físico-químicas da secreção salivar nesses indivíduos. Estudos descrevem que as glândulas parótida, submandibular e sublingual produzem saliva dos tipos serosa, sero-mucosa e mucosa respectivamente (Chadi et al., 2017; Odeh et al., 2013). Cabe destacar que saliva serosa é essencial no paladar e na deglutição bem como a saliva mucosa age como lubrificante, auxiliando no conforto oral (Chadi et al., 2017; Davidovich et al., 2010). As glândulas salivares humanas são

desenvolvidas morfológicamente na vida intrauterina, sendo as glândulas parótidas de 4<sup>a</sup> a 6<sup>a</sup> semanas, as glândulas submandibulares 6<sup>a</sup> semana e as glândulas sublingual e glândulas menores de 8<sup>a</sup> a 12<sup>a</sup> semanas de vida embrionária (Nanci, 2008). Seus crescimentos continuam ocorrendo durante a infância devido à proliferação de células parenquimatosas. Em geral, o processo de maturação é mais lento em indivíduos com SD quando comparado com indivíduos sem síndrome (Siqueira et al., 2007).

Diante do exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos das terapias com eletroestimulação neuromuscular e dispositivos biomecânicos intraorais sobre as propriedades físico-químicas e microbiológica da saliva em pacientes com SD e AOS. Além disso, investigamos os aspectos morfológicos das glândulas salivares maiores para diagnosticar possíveis desordens estruturais nesses indivíduos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Síndrome de Down: Condições Gerais

A síndrome de Down (SD) é o distúrbio genômico mais comum da deficiência intelectual e é causada pela trissomia do cromossomo 21 do *Homo sapiens* (HSA21), com prevalência estimada entre 1:800 a 1:110 nascimentos. Esta condição foi descrita em 1866 por John Longden Hayden Down. O fenótipo da SD envolve manifestações que afetam múltiplos sistemas corporais, em especial os sistemas musculoesquelético, neurológico e cardiovascular. Indivíduos com SD comumente apresentam baixa estatura, hipotonia muscular, instabilidade atlantoaxial, densidade neuronal reduzida, hipoplasia cerebelar, deficiência intelectual e defeitos cardíacos congênitos. Outras manifestações incluem hipotireoidismo, doenças autoimunes, apneia obstrutiva do sono, epilepsia, problemas de audição e visão, distúrbios hematológicos (incluindo leucemia), desordem do sistema imune, infecções recorrentes, distúrbios de ansiedade e doença de Alzheimer de início precoce (Antonarakis et al., 2020; Gomes et al., 2020; Lagan et al., 2020 ; Ram, Chinen, 2011; Scalioni et al., 2017).

No tocante às desordens orais na SD, as manifestações clínicas encontradas são malformações do palato e atresia maxilar, respiração bucal, agenesia dentária, hipossalivação, doenças periodontais, úlceras mucosas, candidíase, mordida aberta, deglutição atípica e baixo índice de cárie (Gomes et al., 2020; Goud et al., 2021; Scalioni et al., 2017).

Cosiderando as desordens envolvidas em nossos estudos, destacamos a hipotonia muscular e apneia obstrutiva do sono. A hipotonia muscular é uma das principais características em indivíduos com SD e podem afetar qualquer músculo do corpo, apresentando a perda ou redução do tônus muscular das vias aéreas superiores, incluindo a orofaringe, faringe, hipofaringe e músculos da base da língua que podem levar à obstrução parcial / total, causando a apnéia obstrutivo do sono (Giannasi et al., 2019).

A apneia obstrutiva do sono (AOS) é caracterizada por reduções periódicas no fluxo de ar, hipoxemia e hipercapnia, que afetam até 80% das crianças com SD, em

oposição a apenas 2% a 5% do geral da população pediátrica. Embora a obesidade e a hipertrofia tonsilar sejam fatores de risco para o desenvolvimento de AOS, não é possível afirmar que haja essa relação devido ao pequeno número de amostragem em estudos realizados a respeito desse assunto (Chamseddin et al., 2019).

Em relação a SD, existe alto risco para desenvolver AOS (Gomes et al., 2020). Estima-se que a prevalência de AOS na criança ocorre em torno de 50–100% (5–9 anos de idade), aumentando para 100% dos casos na idade adulta (Morita, 2018). Maris et al. (2016) descreveu em seus estudos que crianças com SD (n=120) tiveram AOS (66%) e cerca da metade delas apresentavam AOS severa. Além disso, os autores descobriram que 53% das crianças sem sintomas de ronco e AOS foram diagnosticadas com AOS após a PSG. Ademais, fatores de risco para AOS como amígdalas e adenoides de tamanho aumentado ou obesidade não foram associados ao desenvolvimento da AOS.

Para o tratamento da AOS na SD tem sido utilizado o CPAP (Continuous Positive Airway Pressure) bem como cirurgias orofaciais e aparelhos intraorais, juntamente com estratégias de redução de peso, observando-se a individualidade de cada paciente, em relação à idade, comorbidades e barreiras para adesão ao referido tratamento (Faber et al., 2019; Landete et al., 2020; Santos et al., 2022).

## **2.2. Saliva**

A saliva é um fluido biológico oral composto de secreções de três principais glândulas salivares (parótida, sublingual e submandibular) e de glândulas menores (labial, bucal, lingual e tecidos palatinos), fluido crevicular gengival (FCG), detritos de células, placas, bactérias, secreções nasais e brônquicas, células de revestimento, sangue e substâncias exógenas (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

Cabe destacar que as contribuições percentuais das diferentes glândulas maiores durante o fluxo não-estimulado são 20% da parótida, 65% da submandibular, 7% a 8% de sublingual, e menos de 10% de numerosas glândulas menores (Humphrey e Williamson, 2001; Carpenter, 2013). O FCG é classificado como um exsudato inflamatório oriundo do plexo gengival de vasos sanguíneos no cório gengival, subjacente ao revestimento epitelial do espaço dentogengival. No entanto,

sugere-se ainda que ele é originado clinicamente de tecido normal e que apenas se torna um exsudato inflamatório quando a doença periodontal está presente (Barros et al., 2016). Ademais, esse fluido fisiológico tem sido utilizado como biomarcador para diagnóstico e tratamento de doenças periodontais e para controle do estado de saúde bucal (Humphrey, Williamson, 2001; Barros et al., 2016).

Em um indivíduo saudável, a secreção de saliva diária varia entre 1 e 1,5 L/dia, contendo 99% de água, 0,3% de proteínas e 0,2% de inorgânicos e substâncias orgânicas (Humphrey e Williamson, 2001; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

Sobre a composição da saliva, uma variedade de componentes inorgânicos e orgânicos são encontrados. Dentre os inorgânicos, há sódio, potássio, cálcio, magnésio, carbonato, cloreto e fosfato; enquanto os orgânicos compreendem amilases, peroxidase, lipase, mucinas, lisozima, lactoferrinas, calicreínas, cistatinas, produtos nitrogenados (uréia e amônia), hormônios, imunoglobulinas e fatores de crescimento (Kaczor-Urbanowicz et al., 2017). Ademais, a saliva desempenha um papel importante em muitas funções biológicas, tais como: percepção de sensações orais (ou seja, paladar, temperatura); lubrificação, mastigação, deglutição e digestão; modula a remineralização e desmineralização dos dentes; atua na proteção da mucosa bucal contra agentes físicos, químicos e biológicos. Frente aos agentes biológicos, a saliva atua contra infecções bacterianas, fúngicas e virais, mantendo o ecossistema da cavidade em equilíbrio (Atkinson et al., 2018; Humphrey, Williamson, 2001; Kaczor-Urbanowicz et al., 2017).

O fluido salivar não-estimulado, com aproximadamente 0,5mL/min em adultos, é resultado de estimulação autonômica de baixos níveis pelos centros superiores do cérebro, incluindo o córtex orbitofrontal e a amígdala cerebral. Durante o sono, essas entradas dos centros superiores são reduzidas, diminuindo fluxo salivar para 0,1mL/min em adultos. Assim, os dentes tornam-se suscetíveis ao ataque de patógenos. Em relação aos períodos de estresse, essa redução pode também ocorrer, causando boca seca nos indivíduos (Carpenter, 2013).

No que se refere à regulação nervosa da secreção salivar, as vias parassimpáticas, originadas dos centros superiores do sistema nervoso central, regulam a produção de saliva, demonstrando que essas glândulas são controladas pelo sistema nervoso autônomo (Guyton et al., 2011). Quando os centros gustativos

são estimulados, a acetilcolina é liberada para as terminações nervosas e se liga aos receptores muscarínicos nas células das glândulas salivares, particularmente o receptor 3 (M3R), desencadeando a liberação de cálcio intracelular do retículo endoplasmático. Esses íons cálcio ativam a bomba transmembrana de sódio e potássio, que aumenta a concentração intraductal de íons sódio. O gradiente leva os íons de cloreto dos ductos, o que, por sua vez, cria um gradiente osmótico que resulta na secreção de fluido das células (Turner, 2016).

### **2.3 Glândulas salivares maiores**

As glândulas salivares maiores ( parótidas, sublinguais e submandibulares) desempenham um papel importante na preservação da cavidade oral e da saúde bucal (Afzelius et al., 2016).

A literatura tem descrito que a saliva pode ser dividida em dois tipos: mucinosa e serosa. As glândulas parótidas secretam principalmente a saliva serosa. As glândulas submandibulares secretam mucinosa e serosa e as glândulas linguais e as salivares menores secretam apenas saliva mucinosa (Carpenter, 2013; Humphrey, Williamson, 2001).

As parótidas são as maiores de todas as glândulas salivares, cada uma pesando aproximadamente 15-30 g. Cada uma delas está posicionada no espaço parótido, que é limitado anteriormente pelo ramo mandibular e pelo espaço mastigatório, posteriormente pela ponta da mastoide, medialmente pelo processo estilóide e espaço parafaríngeo e lateralmente pelos tecidos subcutâneos. As camadas superficiais da fáscia cervical profunda envolvem o espaço parótido, que contém a glândula parótida bem como a veia retromandibular, a artéria carótida externa, ramos do nervo facial e gânglios linfáticos, que estão presentes dentro e adjacentes ao parênquima parotídeo. Extensões intraglandulares das camadas faciais subdividem a glândula parótida em múltiplos lóbulos. Em aproximadamente 10% a 20% da população em geral, uma glândula parótida acessória também pode estar presente, estendendo-se anteriormente ao longo da parótida principal ducto (ducto de Stensen), superficial ao músculo masseter. Uma glândula parótida normal contém tanto o tecido adiposo

quanto o glandular em proporções variáveis, resultando-se em uma aparência multivariada na imagem transversal. Vários ramos da artéria carótida externa fornecem sangue para a glândula parótida. A inervação simpática da parótida é proveniente do plexo carotídeo; inervação parassimpática é derivada do nervo auriculotemporal, um ramo do quinto nervo craniano através do nervo glossofaríngeo (Bag et al., 2015).

A glândula sublingual é a menor das principais glândulas salivares, pesando aproximadamente 2 g. e corresponde cerca de 3 a 4% de toda a produção salivar. Situa-se logo abaixo da mucosa sublingual no assoalho da boca, encostada na superfície lingual, anterior da mandíbula. Essa glândula repousa sobre o músculo milo-hióideo e seu contorno medial é separado do músculo genioglosso pelo nervo lingual e ducto de Wharton. Há cerca de 20 pequenos ductos individuais, como os de Rivinus, que se abrem independentemente para o assoalho da boca ao longo da papila sublingual. Ocasionalmente, alguns dos ductos de Rivinus fundem-se para formar o ducto de Bartholin, que, por sua vez, se abre no ducto de Wharton da glândula e drena para a carúncula sublingual (Silvers, Som, 1998).

A submandibular é a segunda maior glândula salivar e seu peso é a metade da glândula parótida e ocupa a maior parte do triângulo submandibular do pescoço; é uma glândula mista, que secreta saliva do tipo serosa e mucosa e apenas cerca de 10% dos ácinos são mucinosos. O principal ducto excretor da glândula submandibular é o de Wharton e mede aproximadamente 5 cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro. Ele origina-se no hilo da glândula submandibular e, em seguida, percorre a porção posterior do músculo milo-hióideo. Então se cruza medialmente com o nervo lingual e eventualmente abre-se na região sublingual (Lydiatt, Bucher, 2012).

Pacientes com disfunção de glândulas salivares maiores podem apresentar sintomas como boca seca, disfagia e obstrução do ducto, inflamação, cárie dentária ou inchaço. Segundo Odeh et al. (2013), cerca de 27% das crianças com síndrome de Down têm ausência congênita de um ou mais glândulas salivares.

O exame de imagem desempenha um papel importante na visualização da morfologia e função de glândulas salivares maiores, além de estabelecer um diagnóstico auxiliar no planejamento e tratamento mais adequado de doenças dessa estrutura. Dentre os exames solicitados para análise de glândulas salivares maiores são: sialografia, cintilografia, ultrassonografia, ressonância magnética, tomografia

computadorizada e tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET – *positron emission tomography*) com FDG-<sup>18</sup>F (fluorodeoxiglicose marcada com flúor-18) são bem recomendadas (Afzelius et al., 2016).

As glândulas salivares submandibulares e sublinguais produzem saliva instantaneamente enquanto a glândula parótida produz saliva em resposta às refeições (Afzelius et al., 2016).

## 2.4 Propriedades da Saliva

Dentre as muitas propriedades físico-químicas e biológicas da saliva, descrevemos os parâmetros que estão sendo estudados nesta pesquisa.

### 2.4.1 Capacidade tampão, pH e taxa de fluxo salivar

A diminuição da secreção salivar pode resultar em aumento da cárie dentária, alterações da mucosa oral, alteração do paladar, dificuldade de deglutição e dor oral. Essas manifestações contribuem para a redução da qualidade bucal, uma vez que a saliva é essencial para a defesa oral contra infecções e o indivíduo com SD apresenta diminuição do fluxo salivar (Chaushu et al., 2002).

Alterações na composição salivar, pH e capacidade tampão e diferenças na microbiota do biofilme oral podem, em parte, explicar a baixa prevalência de cárie dentária em indivíduos com SD. O pH salivar é um parâmetro importante para avaliar o risco de cárie dentária, sendo o valor de pH ideal de 6,8 - 7,2 e um pH crítico no valor de 5,3 - 5,5, entretanto estudos não mostraram diferença significativa entre os valores de pH quando indivíduos com SD são comparados a não-sindrômicos. Relatos sobre a capacidade tampão e a taxa de fluxo salivar em indivíduos com SD em comparação com não-sindrômicos são conflitantes. Alguns pesquisadores associaram diminuição da taxa de fluxo salivar e aumento da capacidade tampão da saliva com sujeitos com SD, mas outros não (Domingues et al., 2017).

Em outro artigo, Lee et al., (2004) investigaram a relação entre cáries e anticorpos salivares específicos de *Streptococcus mutans* em crianças com síndrome de Down. Neste estudo 19 crianças com síndrome de Down e 41 crianças sem

síndrome, entre 8 a 17 anos, participaram desse estudo. Em seguida, as concentrações de imunoglobulina A salivar total (IgA) e IgA salivar específica de *S. mutans* foram mensuradas. Os autores constataram que o índice de superfície cariada, perdida e obturada dos dentes permanentes em crianças com síndrome de Down foram significativamente menores em comparação com crianças sem síndrome. Além disso, as elevadas concentrações salivares de IgA específica de *S. mutans* foram significativamente maiores nas crianças com síndrome de Down do que nas crianças normais. Portanto, pode-se concluir que a baixa prevalência de cárie em crianças com síndrome de Down pode estar relacionada com as elevadas concentrações salivares de IgA específica de *S. mutans*.

#### **2.4.2 Cortisol salivar**

O cortisol, principal glicocorticóide em humanos, desempenha um papel importante no metabolismo e na função imunológica. A principal função dos glicocorticóides é a rápida imobilização de aminoácidos e gordura das células que os torna disponíveis para uso de energia, bem como para a síntese em novos compostos; este desempenha um papel central na organização da resposta do corpo aos estresses fisiológicos e psicológicos. Os glicocorticóides têm atividade mineralocorticóide bem como efeitos anti-inflamatórios em tecidos traumatizados que suprimem o sistema imunológico. Na verdade, o cortisol tem sido utilizado em estudos fisiobiológicos humanos como um marcador biológico de estresse, ansiedade e depressão e o aumento de suas concentrações prolongadas pode levar à fadiga, excesso de peso e fraqueza muscular (Sesay et al., 2013).

Como efeitos biológicos do cortisol, tem-se o catabolismo de proteína em todas as células do organismo. O aminoácido (componentes das proteínas) são levados para o fígado para serem transformados em glicose através da gliconeogênese, funcionando como antagonista da insulina. Inibem a captação e oxidação da glicose, promovendo a ativação de lipase e degradação dos triglicerídeos no tecido adiposo,

formando ácidos graxos e glicerol, que são utilizados nos tecidos ativos produzindo energia; regulam o estresse e a manutenção de níveis de glicose mesmo nos períodos de jejum. O cortisol também diminui a utilização da glicose, reservando-a para o cérebro, por atuar como um agente anti-inflamatório, por diminuir reações imunológicas e aumentar a vasoconstrição causada pela adrenalina. O glicocorticóide (o cortisol) é um hormônio catabólico do músculo esquelético, que converte aminoácido em carboidrato, inibe a síntese de proteínas e aumenta a degradação de proteínas ( Juliano Ribeiro et al., 2011).

### **2.4.3 Pseudomonas aeruginosa**

A *Pseudomonas aeruginosa* é um patógeno gram-negativo, que se tornou uma causa importante de infecção, especialmente em pacientes com mecanismos de defesa comprometido (Sharma et al., 2014).

Cabe destacar que autores têm selecionado a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* na saliva como um marcador específico de risco para pneumonia aspirativa ( Ashkenazi-Hoffnung et al., 2016; Gerdung et al., 2016). Essa comorbidade é um subtipo distinto de pneumonia que se desenvolve após a inalação de secreções orofaríngeas e gastrointestinal superior, que são colonizadas por bactérias patogênicas (Ashkenazi-Hoffnung et al., 2016; Hirota et al., 2010; Gerdung et al., 2016).

### **3 PROPOSIÇÃO**

Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos das terapias com eletroestimulação neuromuscular e dispositivos biomecânicos intraorais sobre as propriedades físico-químicas e microbiológica da saliva em pacientes com síndrome de Down (SD) e apneia obstrutiva do sono (AOS). Além disso, investigaremos os aspectos morfológicos das glândulas salivares maiores para diagnosticar possíveis desordens estruturais nesses indivíduos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Sujeito de Pesquisa

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPh) do Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de São José dos Campos, UNESP (CEPH-ICT-CSJC-UNESP/ CAAE: 64173616.4.0000.0077 – Parecer nº 2.127.141 de 20/06/2017).

Neste estudo, 23 pacientes adultos e saudáveis com síndrome de Down (SD) e apneia obstrutiva do sono (AOS) foram selecionados através de uma triagem e convidados a participar dessa experiência. Entre eles, 18 pacientes concluíram as terapias propostas e foram divididos nos seguintes grupos: EENMs (pacientes tratados com eletroestimulação neuromuscular de superfície), DM<sub>HB</sub> (pacientes tratados com dispositivo mastigatório com hiperboloide) e AIOm (pacientes tratados com aparelho intraoral de avanço mandibular).

Esses pacientes foram provenientes de Organizações da Sociedade Civil (Terceiro Setor) da região Metropolitana do Vale do Paraíba e do Centro de Biociências Aplicado à Paciente com Necessidades Especiais (CEBAPE), localizado no Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de São José dos Campos, UNESP.

Os critérios de inclusão e não-inclusão estão descritos no quadro 1.

Quadro 1 – Critérios de Inclusão e não-inclusão para participação dos pacientes adultos com SD e AOS

Inclusão	Não-inclusão
<b>1</b> Saúde geral e bucal satisfatória.	<b>1</b> Índice de massa corpórea (IMC) > 41
<b>2</b> Pacientes roncoadores e IAH > 5 (IAH; Índice de Apneia-Hipoapneia)	<b>2</b> Inviabilidade do paciente conduzir-se ao local para coletar os dados paramétricos e realizar as terapias propostas.
<b>3</b> Habilidade cognitiva deve ser parcialmente preservada, para que possa compreender e aceitar os exames e terapias propostas (EENMs, DM <sub>HB</sub> e AIO <sub>m</sub> ).	<b>3</b> História clínica de terapia com fisioterapia e tratamento ortodôntico, implantes dentários no mínimo, 6 meses antes do estudo proposto.
<b>4</b> Assinatura do <u>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</u> (TECLE) pelos representantes legais do sujeito da pesquisa para participar voluntariamente do estudo proposto e concordância do <u>Termo de Assentimento Livre e Esclarecido</u> (TALE) pelo sujeito de pesquisa.	<b>4</b> Uso contínuo de medicamentos que altere o fluxo salivar.

Legenda: Critérios de inclusão e não inclusão dos pacientes para participação do estudo.

Fonte: Elaborada pela autora.

## 4.2 Terapias aplicadas

As terapias com eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs), dispositivo mastigatório com hiperboloides (DM<sub>HB</sub>) foram utilizadas para mitigar a hipotonia dos músculos mastigatórios, em particular, os músculos masseter e temporal. Já o aparelho intraoral de avanço mandibular (AIO<sub>m</sub>) foi utilizado para tratar a apneia obstrutiva do sono, de grau variável.

#### 4.2.1 Eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs)

O equipamento de EENMs usado foi o Neurodyn II (IBRAMED – Industria Brasileira de Equipamentos Médicos EIRELI, Amparo, São Paulo, Brasil), com 4 canais que permite a aplicação de corrente elétrica, via eletrodos, em contato direto com a face do paciente para terapia de disfunções neuromusculares (Figura 1). A sua configuração consiste em frequência de pulso de 50Hz, largura do pulso de 300 $\mu$ s, razão on/off de 10 segundos de estimulação e 30 segundos repouso. A intensidade da corrente foi determinada para cada paciente, de acordo com a amplitude do movimento dos músculos temporal e masseter e tolerância do sujeito de pesquisa. Essa amplitude foi identificada visualmente pelos pesquisadores e verbalmente pelo paciente. A EENMs foi aplicada sobre os músculos masseter (porção superficial) e temporal (porção anterior), concomitantemente, em ambos os lados. Sua aplicação foi de 20 minutos por sessão, 2 vezes por semana, num período de 2 meses consecutivos. Os pacientes foram orientados a permanecer sentados de maneira confortável com o Plano de Frankfurt mais paralelo possível com o solo.

Figura 1 – Equipamento de EENMs – Neurodyn II



Legenda: Equipamento aplicado na terapia de eletroestimulação neuromuscular de superfície.  
Fonte: Elaborada pela autora.

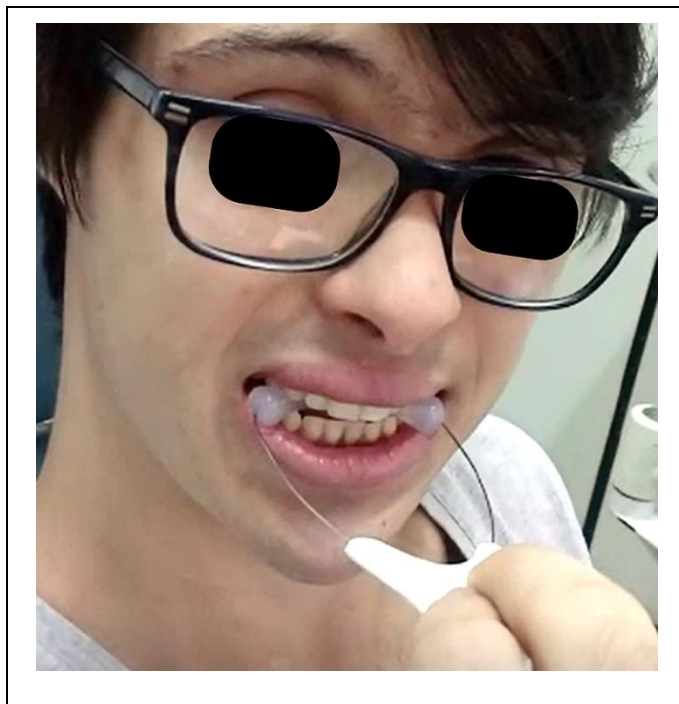
#### 4.2.2 Dispositivo mastigatório com hiperboloides (DM<sub>HB</sub>)

Um dispositivo mastigatório com hiperboloides (DM<sub>HB</sub>) foi utilizado para fortalecer, estimular e modular os músculos mastigatórios. Esse dispositivo é composto por dois hiperboloides (M.C. CHEIDA – ME, São Paulo, Brasil) e uma haste de suporte. Cada hiperboloide (HB) foi fixado a uma ponta distal da haste, a qual é constituída por um corpo de material termoplástico (compacto ou fenestrado) e um fio de aço inoxidável com extremidades bilaterais. Essa haste foi desenvolvida no Centro de Biociências Aplicadas a Pacientes com Necessidades Especiais (CEBAPE) do Instituto de Ciência e Tecnologia, *Campus* de São José dos Campos (ICT-CSJC/UNESP). Esse produto desenvolvido, intitulado “Haste para dispositivo mastigatório” foi inserido no portfólio de invenções da Agência UNESP de Inovação, AUIN, (Comunicação de Invenção, código: 18CI038).

O protocolo da terapia com o DM<sub>HB</sub> estava de acordo com os estudos de Giannasi et al. (2014). O sujeito da pesquisa mordeu os hiperboloides durante 5 minutos, 6 vezes por dia, num período de dois meses contínuos. Nesses 5 minutos, o indivíduo mordia em ritmo lento por 3 segundos e soltá-lo-á por um segundo. Os períodos sugeridos para os exercícios estão descritos a seguir: manhã (10h00 e 12h00), tarde (14h00 e 16h00) e noite (18h00 e 20h00). O manuseio do DM foi segurar a haste de suporte com os dedos polegar e indicador, inserido o DM<sub>HB</sub> na cavidade bucal e posicionado entre os dentes superiores e inferiores, molares e pré-molares (Figura 2).

Após os exercícios mecânicos, os pacientes e/ou cuidadores foram orientados a limparem o DM<sub>HB</sub> com água corrente para remoção de resíduos, secá-lo e, posteriormente, armazená-lo em ambiente seguro, fresco e limpo. Além disso, alguns cuidados foram considerados para preservação do DM<sub>HB</sub>, tais como: não morderem a haste de suporte, não utilizarem abrasivos, produtos químicos e água fervente para limpeza, e não forçarem a remoção do hiperboloide inserido no fio de aço.

Figura 2 – Paciente tratados com  $DM_{HB}$  usando hiperboloides posicionados em dentes posteriores

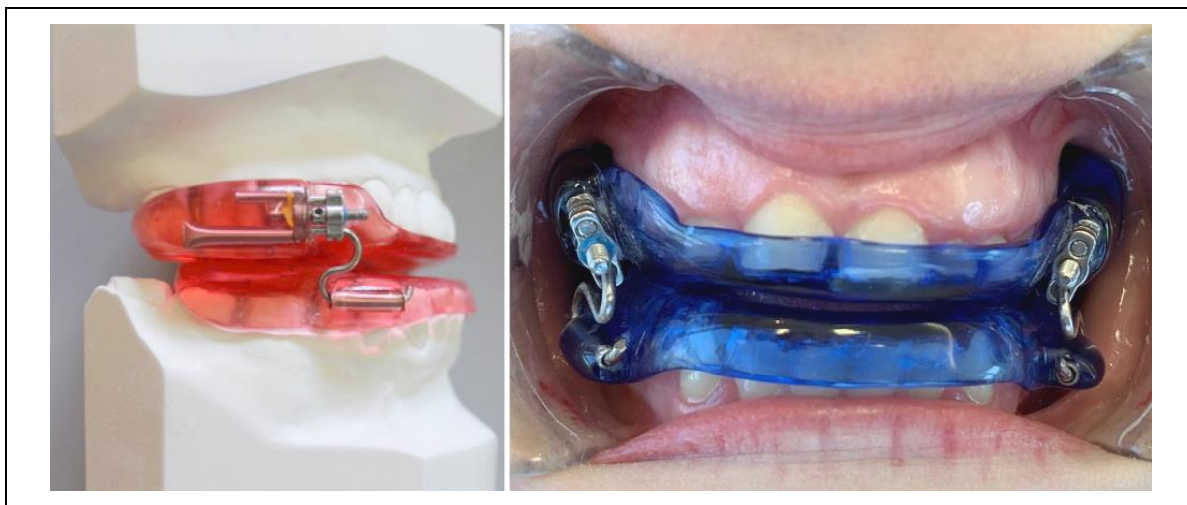


Legenda: Paciente realizando a terapia com dispositivo mastigatório com hiperbolóide.  
Fonte: Elaborada pela autora.

### 4.2.3 Aparelho intraoral de avanço mandibular (AIO<sub>m</sub>)

AIO<sub>m</sub> foi confeccionado em laboratório de prótese especializado, estando de acordo com as diretrizes da *American Academy of Dental Sleep Medicine – AADSM* (Scherr et al., 2014). Inicialmente, a moldagem das arcadas dentárias superiores e inferiores dos pacientes com SD foi realizada, utilizando um hidrocoloide irreversível (alginato). Em seguida, os moldes das arcadas foram vazados com gesso pedra tipo IV (Durone; Dentsply Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, Brasil) e os registros da mordida construtiva com 50% da protrusão máxima foram obtidos a partir de um silicone de condensação (Zetaplus; Zhermack Spa, Badia Polesine, Italia). Posteriormente, o aparelho intraoral PM Positioner com lateralidade foi confeccionado em um laboratório de prótese especializado. Esse dispositivo era composto por duas placas de resina acrílica e recobre os dentes das arcadas superiores e inferiores. As arcadas foram unidas por dois parafusos expansores do tipo Hirax de 11 mm (Dental Morelli, Sorocaba, São Paulo, Brasil), localizados em cada lado do referido dispositivo. Estes parafusos permitiam o avanço mandibular gradual e progressivo do AIO<sub>m</sub>, denominado titulação. Cabe destacar que um microchip termosensível (Theramon Microsensor; Lianka Comércio e Representações Ltda EPP, São Paulo, Brasil) foi fixado no AIO<sub>m</sub> para registrar a quantidade de horas e os dias da semana (Figura 3). Esse aparato permitiu controlar e monitorar o uso do AIO<sub>m</sub> pelo paciente e, principalmente, a sua adesão a essa terapia. O AIO<sub>m</sub> foi utilizado durante 2 meses consecutivos e somente no período de sono do sujeito da pesquisa. A titulação do AIO<sub>m</sub> foi feita lentamente, cerca de 0,5 mm a 1,0 mm a cada 1 ou 2 semanas, respeitando as limitações fisiológicas do paciente.

Figura 3 – Terapia com AIO<sub>m</sub> usando um microchip termossensível

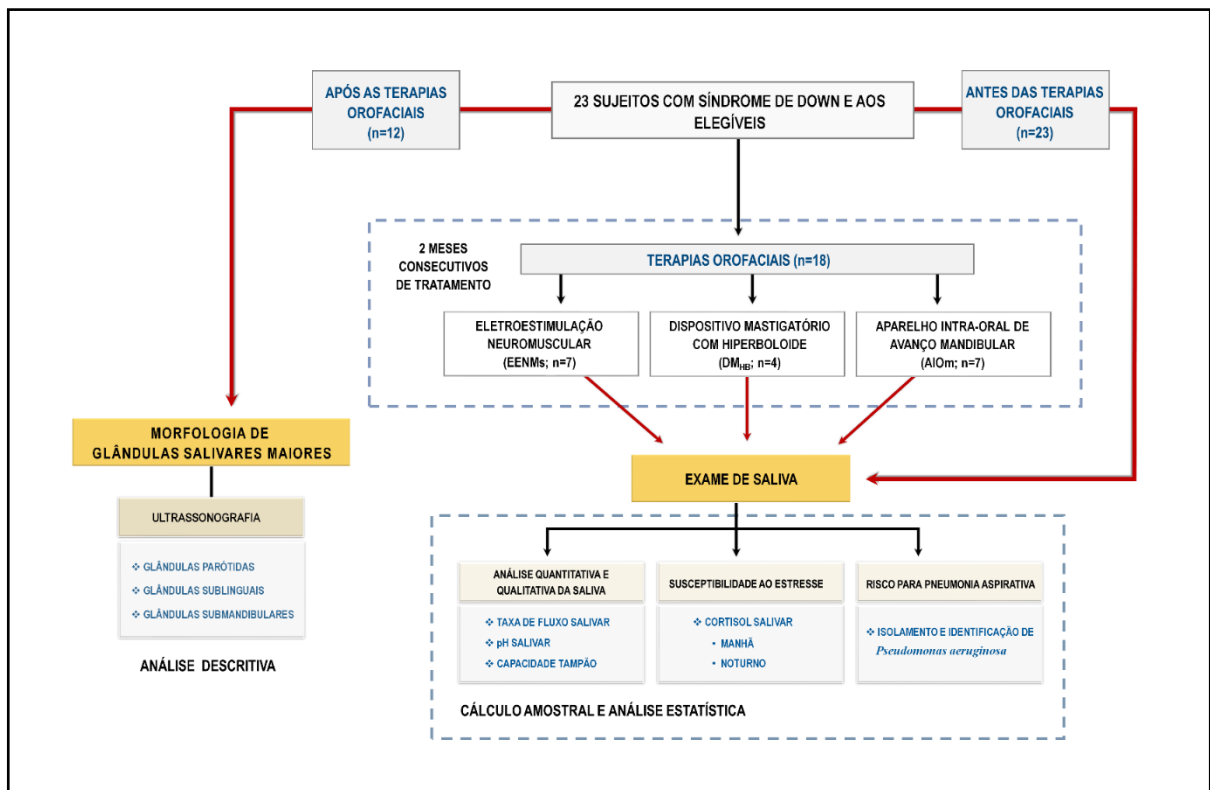


Legenda: Paciente realizando a terapia com o uso do aparelho intraoral.  
Fonte: Elaborada pela Dra. Lilian Chrystiane Giannasi.

#### 4.3 Protocolo de estudo

Para entender os métodos propostos de análises para investigar os efeitos das terapias com EENMs, DMHB e AIO<sub>m</sub>, um fluxograma foi criado com o intuito de ilustrar o design desse estudo (Figura 4).

Figura 4 – Protocolo de estudo



Legenda: Protocolo de estudo.  
 Fonte: Elaborada pela autora.

### **4.3.1 Ultrassonografia das Glândulas Salivares Maiores**

Exames de Ultrassonografia (USG), com ou sem Doppler, foram realizados bilateralmente nas regiões de glândulas da parótida, sublingual e submandibular para investigar a morfologia dessas estruturas. Esses exames foram feitos nos seguintes laboratórios do Município de São José dos Campos, São Paulo, Brasil: Hapvida Diagnóstico – Hospital São José, Moderna Medicina Diagnóstica LTDA | Digen-Image, Plani Diagnósticos Médicos LTDA, Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA e Associação Santa Casa Saúde de São José dos Campos.

Ademais, as ultrassonografias com Doppler eram realizadas quando os pacientes mostraram anormalidade morfológica das estruturas estudadas e áreas adjacentes.

### **4.3.2 Parâmetros Salivares**

#### **4.3.2.1. Coleta de amostras de saliva**

A coleta de amostras de saliva total foi obtida a partir do uso de um sialogogo mecânico e da manobra semiotécnica de ordenha das glândulas da parótida, sublingual e submandibular (Boraks, 2013), assegurando, assim, a máxima produção de saliva. Esse sialogogo foi o hiperboloide (HB) (M.C. CHEIDA – ME, São Paulo, Brasil), que é um silicone inodoro, insípido, incolor, atóxico e macio. Esse artefato exibe uma forma adaptável às faces oclusais dos dentes devido a sua geometria hiperbólica, uma dureza de 35 Shore e uma consistência semelhante ao disco da articulação temporomandibular (Cheida, 1997).

A saliva produzida foi coletada com o auxílio de uma bomba aspiradora para secreção salivar, de baixa potência (Aspiramax MA 520, NS, São Paulo, Brasil), devidamente adaptada neste estudo. Uma sonda de aspiração traqueal estéril nº 14 (CPL Medical's produto médicos LTDA, São Paulo, Brasil) foi acoplada na bomba aspiradora e introduzida no tubo de centrífuga, cônico, graduado e estéril, tipo Falcon 15mL. Esse tubo foi colocado dentro do recipiente coletor da unidade de aspiração, o qual foi mantido em gelo reciclável. O referido equipamento foi adaptado para o paciente com SD devido à sua dificuldade de

cuspir a saliva no tubo de ensaio. Essa técnica de coleta de amostras de saliva em pacientes com SD foi, também, utilizada nos estudos de Sousa et al. (2015) e Domingues et al. (2017) e Gomes et al. (2020).

Para assegurar a fidelidade dos resultados da análise, alguns critérios foram estabelecidos e descritos a seguir:

- a) O paciente não deveria ingerir quaisquer alimentos e bebidas 2 horas antes da coleta da saliva;
- b) O enxague bucal com água destilada, deionizada e esterilizada (10 ml) foi realizado por 1 minuto;
- c) As glândulas salivares maiores (parótida, sublingual e submandibular) foram “ordenhadas” através da manipulação digital extrabucal, com movimentos circulares sobre essas glândulas. Esse procedimento foi realizado, concomitantemente, durante o uso de hiperboloide para intensificar a estimulação da produção de saliva;
- d) O material biológico foi transportado à temperatura de 4°C, em gelo reciclável, até o momento de sua análise nos laboratórios do CEBAPE do ICT-CSJC/UNESP.

As amostras de saliva foram coletadas em 2 (duas) sessões para realizar as seguintes análises: taxa de fluxo salivar (TFS), pH salivar, capacidade tampão (CT), níveis de cortisol, matinal e noturno, e identificação de *Pseudomonas aeruginosa*. O protocolo de análise das amostras de saliva, relacionando os procedimentos clínico-laboratoriais, número de sessões, períodos e valores de referência, está descrito no quadro 2.

Quadro 2 - Protocolo de análise das amostras de saliva

Sessões	Análises	Valores de referência	Quantidade e Tempo	Temperatura de transporte, armazenamento, sementeira e colônias	Períodos	Estímulos
1ª Sessão	TFS (mL/min)	Normal: >1,0	coletar a quantidade máxima de produção de saliva/tempo de 5 a 10 minutos	Temperatura ambiente/sem armazenagem	7hs a 10hs	Uso de hiperboloide associado com manobras semiotécnica de ordenha
		Valor limítrofe: 1,0 Reduzido: ≤0,7 Hipossalivação: ≤ 0,1				
	Valor de pH	Normal: 5,3 – 7,8	1mL/tempo indeterminado	Temperatura ambiente		
	CT (valor de pH)	Normal: 5,1-7,0 Limítrofe: 4,0 - 5,0 Baixo: < 4,0				
2ª Sessão	CS matinal (µg/dL)	Taxa de normalidade fornecida pelo fabricante do kit	1mL/tempo indeterminado	Transporte 4°C e armazenamento -20°C		
	Identificação de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Pa)	Positiva (+) para Pa Negativa (-) para Pa	tempo indeterminado	Transporte 4°C, sementeira -10°C e colônia -80°C		
	CS noturno (µg/dL)	Taxa de normalidade fornecida pelo fabricante do kit	1mL/tempo indeterminado	Transporte 4°C e armazenamento -20oC	21hs às 23hs	

Abreviações: TFS: taxa de fluxo salivar; CT: capacidade tampão; CS: níveis de cortisol salivar (as especificações técnicas sugeridas pelos fabricantes dos Kits serão respeitadas).

Valores de referência: TFS e CT: valor de pH (Humphrey; Williams, 2001); CS (determinadas pelo fabricante Salimetrics do Kit Imunoensaio Enzimático Cortisol Salivar de Alta Sensibilidade de Escala Expandida, *Expanded Range High Sensitivity Salivary Cortisol Enzyme Immunoassay Kit*).

Fonte: Gomes et al., (2018) e Gomes et al., 2020.

Legenda: Protocolo de análise das amostras de saliva.  
Fonte: Gomes et al., 2018 e Gomes et al., 2020.

#### **4.3.2.2. Determinação de taxa de fluxo salivar (TFS), pH salivar e capacidade tampão (CT)**

O protocolo de coleta para cada análise e os valores de referência foram descritos de acordo com os estudos de Gomes et al. (2020). A amostra de saliva total, estimulada por hiperboloide, foi coletada entre 7 h e 10 h para minimizar os efeitos do ritmo circadiano, usando uma bomba aspiradora adaptada para secreção salivar (BAASS). A taxa do fluxo salivar (TFS) foi calculada pela seguinte fórmula:  $TFS = \text{volume total de saliva coletada (mL)} / \text{tempo de coleta (min)}$ . Nesse estudo, a coleta de saliva foi realizada no tempo padronizado de 5 minutos, utilizando uma bomba de aspiração para a coleta da saliva não estimulada. Para realizar as análises de pH salivar e capacidade tampão, 1 mL de saliva foi coletado. O valor do pH foi aferido utilizando um pHmetro portátil digital (modelo DM-22, DIGICROM Analítica Ltda, São Paulo, Brazil), o qual foi previamente calibrado com soluções padrões de pH 6,86 e 4,01. Nessa mesma amostra, 1 mL de saliva foi misturado a 2 mL de ácido clorídrico 0,005 N e 1 ml de água destilada em um tubo tipo Falcon estéril para obter os valores da capacidade tampão. Esse tubo foi agitado levemente, deixado em repouso e aberto durante 20 minutos. Em seguida, o pH final da mistura foi mensurado com auxílio de um pHmetro (modelo DM-22, DIGICROM Analítica Ltda, São Paulo, Brazil).

#### **4.3.2.3. Determinação de níveis de cortisol salivar (CS)**

O cortisol salivar é um biomarcador fisiológico recomendado para avaliar a suscetibilidade do paciente com SD ao estresse psicológico e/ou físico em amostras de saliva. A mensuração do cortisol salivar pode ser realizada com segurança e reprodutibilidade, uma vez que o procedimento clínico não é invasivo e apresenta níveis semelhantes aos níveis séricos.

As alterações no nível do cortisol, normalmente, seguem um ritmo circadiano que envolve 3 componentes, tais como: (1) a primeira fase do ritmo circadiano do cortisol é a resposta ao despertar do cortisol (RDC), a qual é definida como um

aumento acentuado dos níveis de cortisol 30 minutos após o despertar e um acentuado declínio nas próximas 3 horas; (2) um gradual declínio do cortisol durante o resto do dia apresentando a menor concentração na primeira metade do sono e (3) um aumento gradual nos níveis de cortisol até o despertar (Greg et al., 2014).

Para este estudo, 2 períodos de coletas de saliva foram indicados: manhã (das 8hs às 10hs; CSm) e noite (das 21hs às 23hs; CSn). Considerando esses horários, as amostras de saliva dos pacientes com SD foram coletadas 30 minutos após o despertar e antes de dormir. Esses períodos foram selecionados para mensurar a quantidade de cortisol secretado durante os períodos de sono e vigília e, conseqüentemente, avaliar o período de maior susceptibilidade ao estresse para o sujeito da pesquisa.

A análise do cortisol salivar foi realizada, em duplicata, pelo método de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) a temperatura ambiente (25°C), utilizando o kit Imunoensaio Enzimático Cortisol Salivar de Alta Sensibilidade de Escala Expandida (Expanded Range High Sensitivity Salivary Cortisol Enzyme Immunoassay Kit; produto nº 1 -1102; Salimetrics, StateCollege, PA, EUA). Esse kit foi fornecido pela empresa Science Pro Importação e Distribuição de Produtos Diagnósticos para Pesquisa Científica Ltda.

Amostras de saliva de 25µL, os controles e padrões foram dosados em uma mesma microplaca, com tempo de incubação de 60 minutos. Os procedimentos laboratoriais seguem os princípios básicos de enzima imunoensaio, onde existe uma competição entre um antígeno não marcado e um antígeno marcado com enzima, por um número determinado de sítios de ligação no anticorpo. O jogo de teste foi realizado em uma microplaca revestida com anticorpos monoclonais para o cortisol. As amostras de controles positivo e negativo e as amostras dos pacientes competiram com o cortisol ligado à peroxidase. Após a incubação, as proteínas inespecíficas foram removidas por lavagem. O cortisol ligado à peroxidase foi, então, medido pela reação da enzima peroxidase no substrato tetrametilbenzidina (TMB). Esta reação produz uma cor azul. A cor amarela foi formada após finalizada a reação com ácido sulfúrico. A análise da densidade óptica foi realizada por meio de leitura da absorbância da solução no filtro com comprimento de onda de 450nm (filtro de correção de 490nm e 630nm; EON, Biotek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA). A quantidade do cortisol peroxidase detectado por meio da intensidade de cor é inversamente proporcional à

quantidade do cortisol presente na microplaca. Para a determinação dos níveis de normalidade do cortisol, o fabricante do kit utiliza os valores descritos no (Quadro 3).

Considerando que a secreção do cortisol é regulada pelo ciclo circadiano e os níveis de cortisol salivar estão diretamente relacionados com o grau de ativação do eixo HPA, a existência de uma variabilidade do nível de cortisol salivar em pacientes com SD foi considerada; portanto, seus níveis de estresse foram avaliados no decorrer do dia e da noite.

Quadro 3 - Valores das taxas de normalidade para níveis de cortisol na saliva, nos períodos matinal e noturno, determinados pelo fabricante Salimetrics

<b>Grupos</b>	<b>Número de voluntários</b>	<b>Variação (AM) (µg/dL)</b>	<b>Variação (PM) (µg/dL)</b>
Crianças, idade 2,5 – 5,5	112	0,034 – 0,645	0,053 - 0,607
Crianças, age 8-11	285	0,084 – 0,839	ND - 0,215
Adolescentes, idades 12-18	403	0,021 – 0,883	ND – 0,259
Adultos-homens, idades 21-30	26	0,112 – 0,743	ND - 0,308
Adultos-mulheres, idades 21-30	20	0,272 – 1,348	ND - 0,359
Adultos-homens 31-50	67	0,122- 1,551	ND - 0,359
Adultos-mulheres, idades 31-50	31	0,094 – 1,515	ND - 0,181
Adultos-homens 51-70	28	0,112 – 0,812	ND - 0,228
Adultos-mulheres, idades 51-70	23	0,149 – 0,739	0,022 - 0,254
Todos os adultos	192	0,094 – 1,551	ND - 0,359

Legenda: ND, não-detectado; AM, período da manhã; PM, período do final da tarde até à noite.  
Fonte: Elaborada pela autora.

#### **4.3.2.4. Isolamento e identificação de *Pseudomonas aeruginosa***

A metodologia de isolamento e identificação de *Pseudomonas aeruginosa* foram realizadas para avaliar o risco de ocorrência para pneumonia aspirativa. Todos os pacientes com SD e AOS foram orientados a não realizar limpeza de língua, no mínimo, por 24 horas. As amostras de enxágue bucal, coletadas em 10 mL de solução fisiológica esterilizada (NaCl 0,9%), foram centrifugadas, resuspensas e semeadas em duplicata em placas de Petri contendo ágar Mac Conkey (Difco, Detroit, USA) para o isolamento de enterobactérias/pseudomonas. Essas amostras foram processadas para análise microbiológico no período máximo de 3 horas. As placas foram incubadas a 37°C, por 48 horas. Em seguida, o número de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) foi calculado. As colônias com diferentes morfologias foram coradas pelo método de Gram. Cinco colônias de bactérias Gram-negativas foram isoladas em gelose e incubadas a 37°C, por 24 horas. Logo depois, os tubos foram armazenados a 4°C. As cepas de enterobactérias/pseudomonas foram identificadas pelos sistemas API 20 E (Bio-Merieux, França), objetivando a detecção da espécie *P. aeruginosa*. Essa metodologia está descrita no estudo de Pereira et al. (2012).

#### **4.4. Cálculo Amostral e Análise Estatística**

##### **4.4.1 Teste de correlação entre antes e após a terapia com EENMs, DM<sub>HB</sub> e AIOm e demais variáveis**

Não constatado que os dados atendem as premissas de variância e distribuição de probabilidade, o Teste de Postos com Sinais de Wilcoxon (*Wilcoxon signed-ranks test*) foi usado para análise de correlação entre antes e após as terapias com EENMs, DM<sub>HB</sub> e AIOm com as variáveis taxa de fluxo salivar (TFS), valor de pH, capacidade tampão (CT) e nível de cortisol salivar (CS<sub>m</sub>, cortisol salivar matinal; CS<sub>n</sub>, cortisol salivar noturno). Desse modo, para um valor de probabilidade (p-valor) menor que o

nível de significância ( $\alpha = 0,05$ ), a hipótese nula  $H_0$  é rejeitada em favor da hipótese alternativa, sendo as quais:

$H_0$  (hipótese nula): antes e após as terapias propostas não possuem correlação significativa com o TFS, valor pH, CT, CSm e CSn em adultos com SD e AOS;

$H_a$  (hipótese alternativa): antes e após as terapias propostas possuem correlação significativa com o TFS, valor pH, CT, CSm e CSn em adultos com SD e AOS.

#### **4.4.2 Teste de diferenciação estatística por análise de variâncias**

Não constatado que os dados atendem as premissas de variância e distribuição de probabilidade, o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Dunn foram aplicados para comparações múltiplas não paramétricas. Desse modo, para um valor de probabilidade (p-valor) menor que o nível de significância ( $\alpha = 0,05$ ), a hipótese nula  $H_0$  é rejeitada em favor da hipótese alternativa, sendo as quais:

$H_0$  (hipótese nula): diferentes terapias propostas não têm efeito significativo sobre TFS, valor pH, CT, CSm e CSn em adultos com SD e AOS;

$H_a$  (hipótese alternativa): diferentes terapias propostas têm efeito significativo sobre TFS, valor pH, CT, CSm e CSn em adultos com SD e AOS.

#### **Limitações da pesquisa**

Por essa pesquisa ter sido realizada na época da pandemia de Covid 19 e a Síndrome de Down ser um grupo de risco pela imunossupressão que apresentam, os pacientes não puderam sair de casa para realização dos relatados exames, o que dificultou maior número de participantes nessa pesquisa, e houve também dificuldade de realização dos exames de USG fossem realizados em um único local.

## **5 RESULTADO**

### **5.1. Ultrassonografia (USG) das Glândulas Salivares**

Dentre os 23 pacientes assistidos, 12 pacientes submeteram ao exame de USG nas regiões de glândulas salivares parótida, sublingual e submandibular, em ambos os lados. As áreas adjacentes a essas estruturas foram, também, analisadas.

Os demais pacientes não realizaram esse exame devido às eventuais intercorrências pessoais durante todo o período de estudo. Dentre essas intercorrências, as condições de estado de saúde do paciente e dificuldade de transporte foram as causas mais relatadas pelos cuidadores. O quadro 4 e as Figuras de 5 a 15 mostram as descrições e as imagens dos exames de USG em cada paciente com suas respectivas terapias, respectivamente.

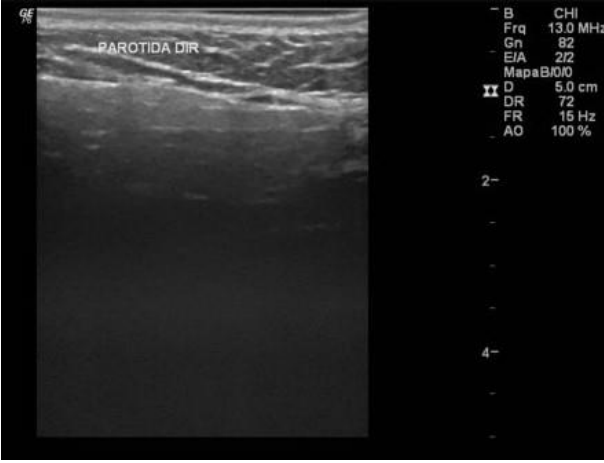
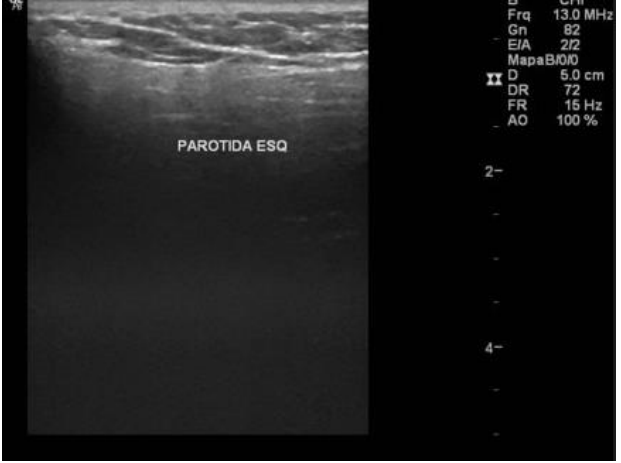
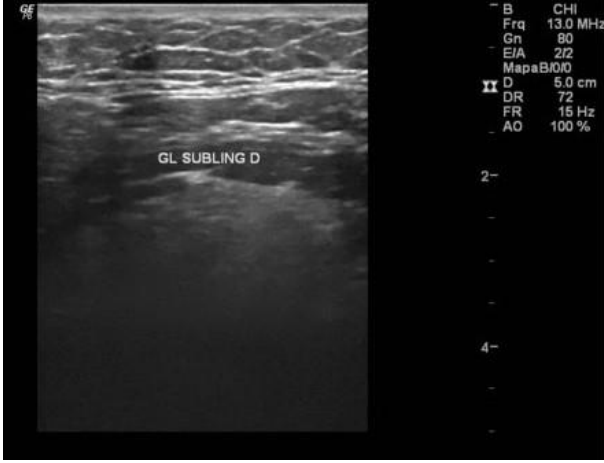
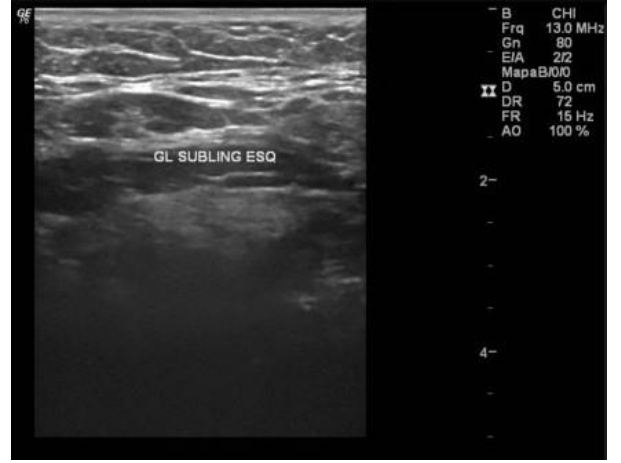
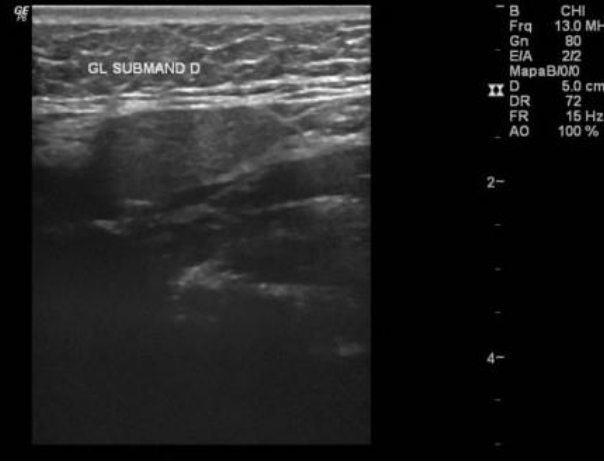
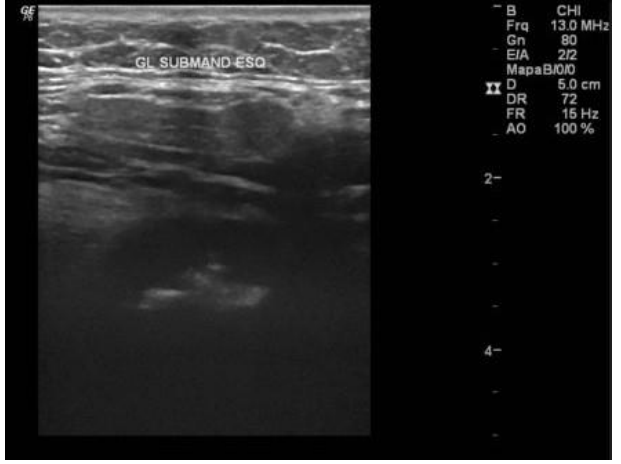
### Quadro 4- Análise dos exames de USG

Terapias	Pacientes	Laboratórios	Descrição	Diagnóstico Sugestivo
EENMs (n=5)	P3	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. Ausência de linfonodomegalias cervicais. Exame sem anormalidades detectáveis pelo método. Achado adicional: glândula tireoide com parênquima heterogêneo sugerindo tireoidite.	Ausência de alteração morfológica das glândulas salivares maiores e Inflamação da glândula tireoide
	P4	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas, sublinguais e submandibulares de dimensões normais, contornos e ecotextura característica. Ausência de linfonodomegalias cervicais.	Ausência de anormalidade
	P5	Associação Santa Casa Saúde de São José dos Campos	Glândulas parótidas e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica.	Ausência de anormalidade
	P6	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas, submandibulares e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. No sítio nodal IIA à esquerda, nota-se um linfonodo hipocogênico de contornos regulares, medindo 1,9x0,6x1,0 cm.	Ausência de alteração morfológica das glândulas salivares maiores e Linfonodomegalia cervical à esquerda, de aspecto reacional
	P7	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Parótidas de forma, contornos, textura e dimensões normais. Glândulas submandibulares e sublinguais de forma, contornos, textura e dimensões normais. Ausência de lesão expansiva cística ou sólida no interior das glândulas salivares.	Ausência de anormalidade
DM <sub>IB</sub> (n=4)	P1	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. Ausência de linfonodomegalias cervicais	Ausência de anormalidade
	P3	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas, sublinguais e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. Ausência de linfonodomegalias cervicais.	Ausência de anormalidade
	P4	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Glândulas parótidas, sublinguais e submandibulares de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. Ausência de linfonodomegalias cervicais.	Ausência de anormalidade
	P5	Tomovale Centro de Diagnóstico por Imagem LTDA	Parótidas com textura heterogênea e redução da ecogenicidade. Glândulas submandibulares e sublinguais de forma, contornos, textura e dimensões normais. Ausência de lesão expansiva cística ou sólida no interior das glândulas salivares. Ausência de adenomegalias nas diferentes cadeias cervicais. Parótidas com textura heterogênea e redução da ecogenicidade.	Ausência de alteração morfológica das glândulas salivares linguais e submandibulares e sugestivo de sialoadenite crônica das glândulas salivares parótidas
AIOM (n=3)	P2	Plani Diagnósticos Médicos LTDA	Glândulas submandibulares e sublinguais de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica. Glândulas parótidas de dimensões normais, contornos regulares e ecotextura característica, notando alguns linfonodos intraglandulares bilaterais de aspecto habitual medindo até 0,7 cm. No sítio nodal IIA à direita, nota-se um linfonodo hipocogênico de contornos regulares, hilo gorduroso preservado, sem calcificações, medindo 1,8 x 0,9 cm.	Ausência de alteração morfológica das glândulas salivares maiores e Linfonodomegalia cervical à direita
	P3	Hapvida Diagnóstico – Hospital São José	Glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais com dimensões normais, contornos regulares e textura homogênea. Não há sinais de dilatação ductal nas glândulas salivares citadas. Nódulo sólido, hipocogênico, com contornos regulares e limites bem definidos, medindo 13 x 8 x 12 mm, localizado no espaço submandibular direito em íntimo contato com a glândula submandibular, sem vascularização ao Doppler.	Ausência de alteração morfológica das glândulas salivares maiores e Linfonodomegalia cervical à direita
	P5	Moderna Medicina Diagnóstica LTDA   Digen-Image	Glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais com dimensões e morfologia preservadas. Nenhum sinal de dilatação ductal foi evidenciado nessas estruturas. Linfonodos nas regiões adjacentes mostraram ausência de sinais anormais.	Ausência de anormalidade

Legenda: Análise dos exames de ultrassonografia.

Fonte: Elaborada pela autora.

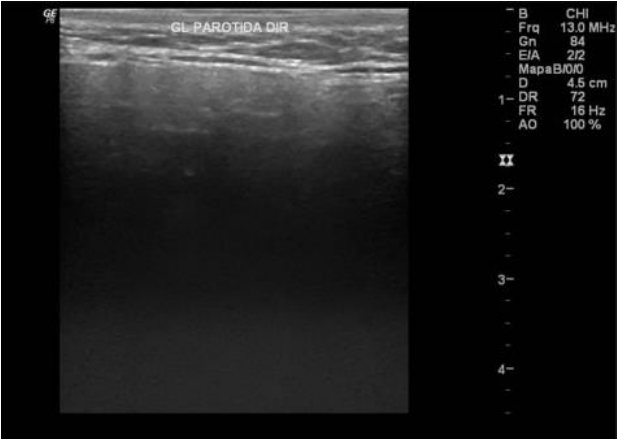
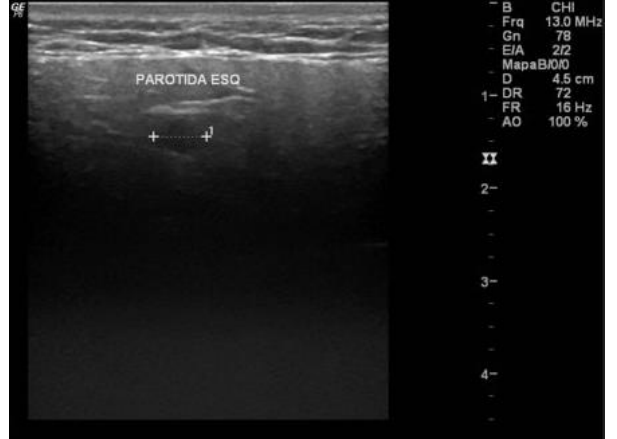
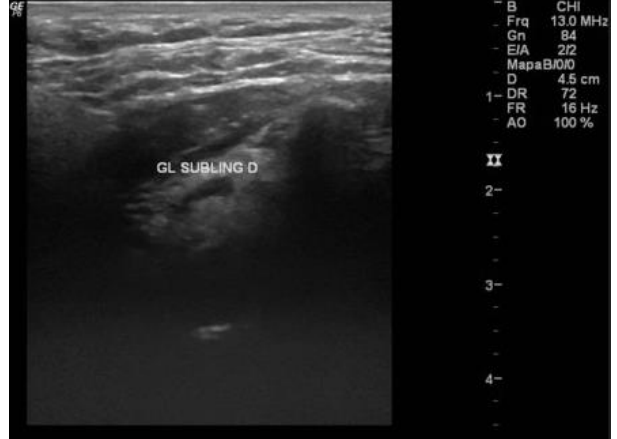
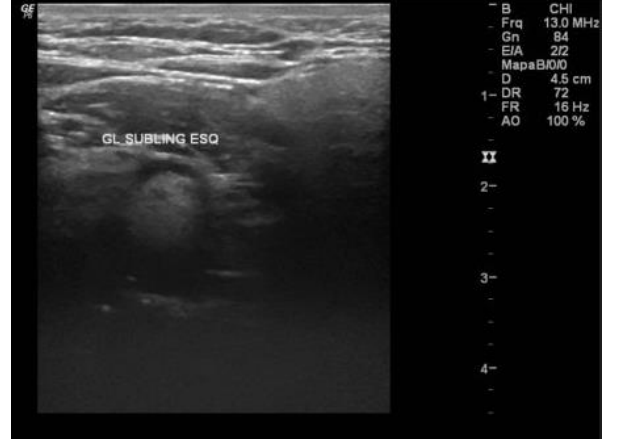
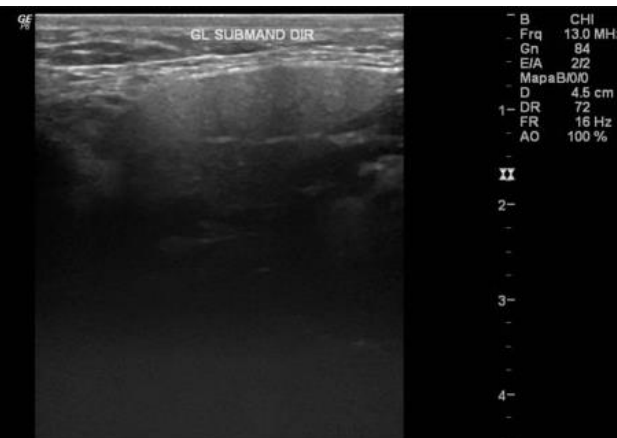
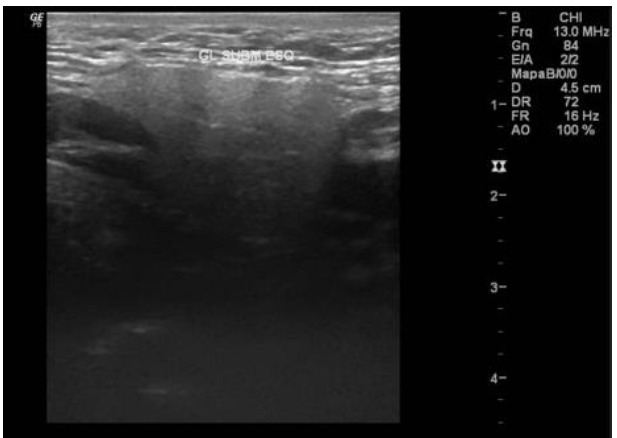
Figura 5 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3<sup>EENMs</sup>

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P3<sup>EENMs</sup>.

Fonte: Elaborada pela autora.

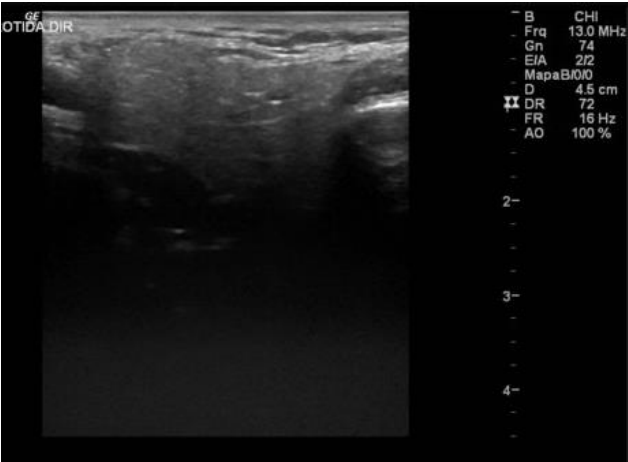
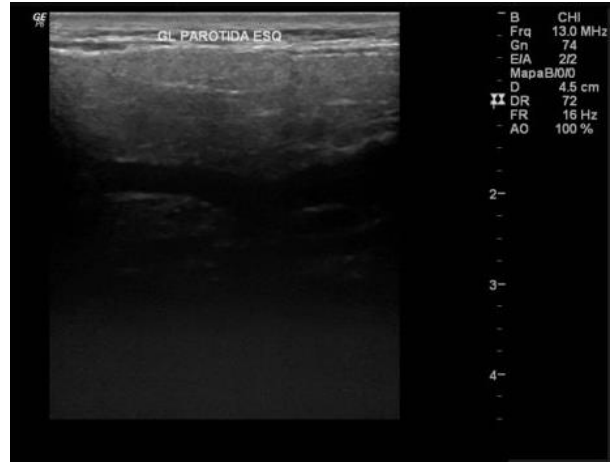
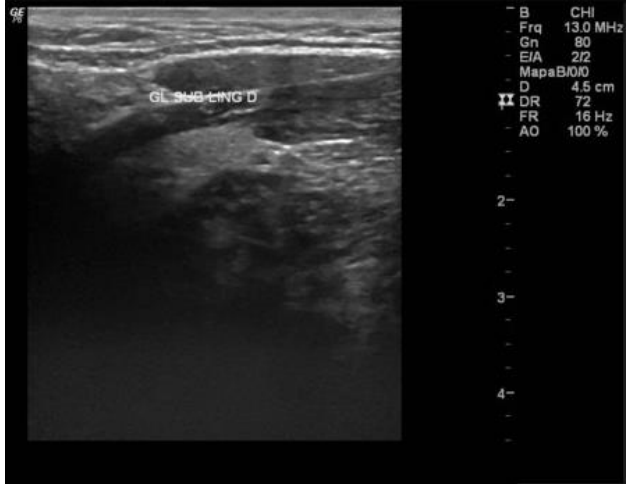
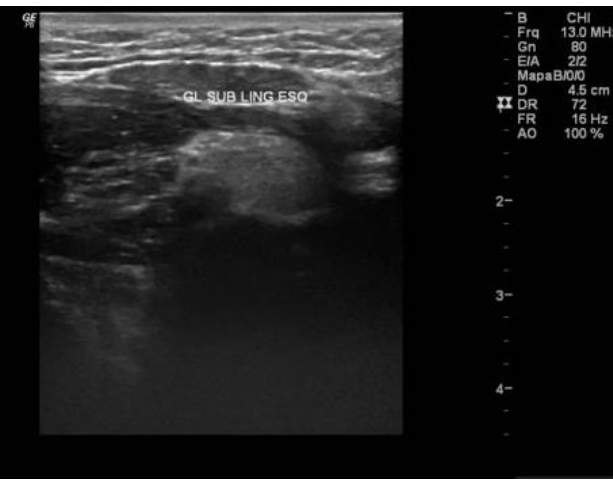
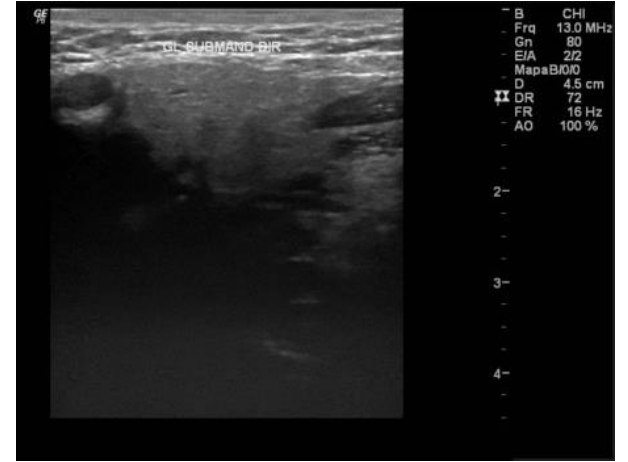
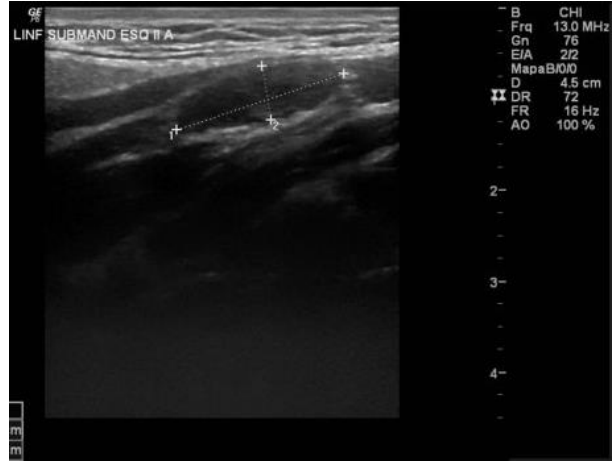
Figura 6 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P4<sub>EENMs</sub>

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P4<sub>EENMs</sub>.

Fonte: Elaborada pela autora.

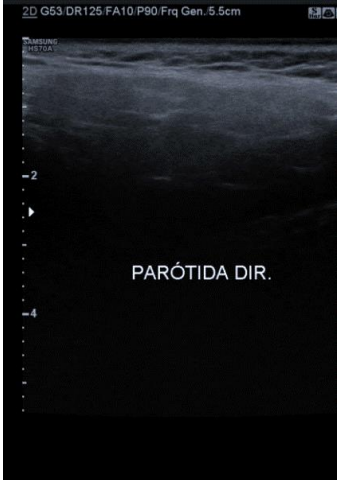



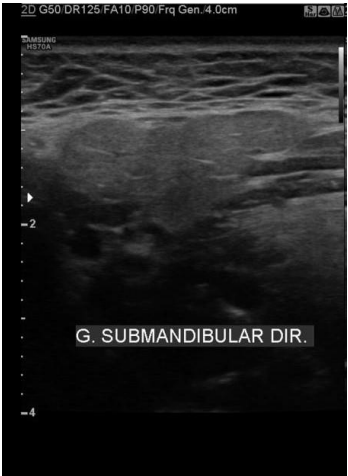

Figura 7 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P6<sup>EENMs</sup>

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 74            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 74            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>
Sublingual	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 80            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 80            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>
Submandibular	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 80            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 76            - EIA 2/2            - MapaB/0/0            - D 4,5 cm            - DR 72            - FR 16 Hz            - AO 100 %         </p>

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P6<sup>EENMs</sup>.

Fonte: Elaborada pela autora.

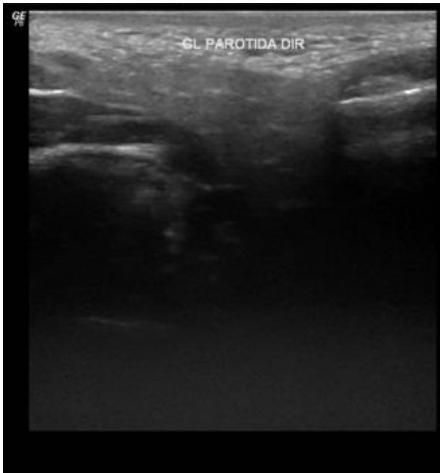
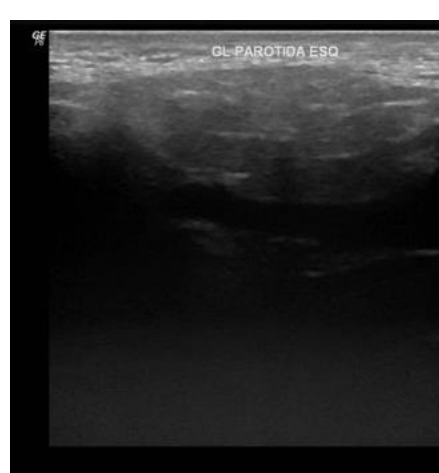
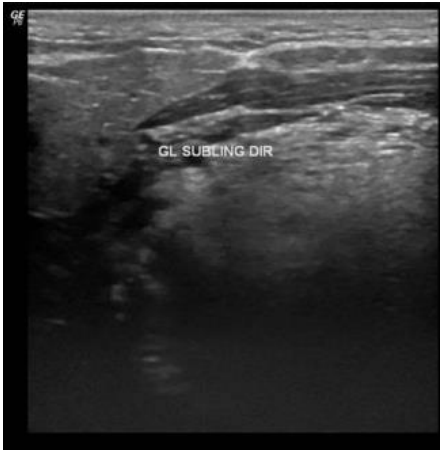
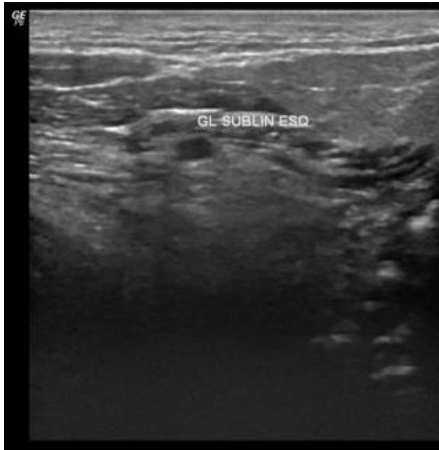
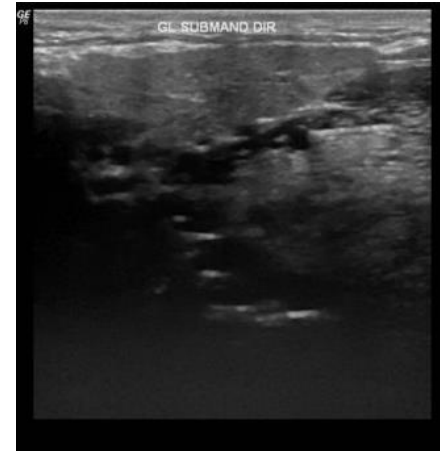
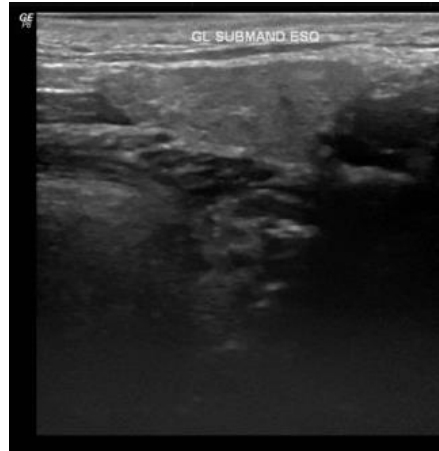
Figura 8 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P7<sup>EENMs</sup>

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P7<sup>EENMs</sup>.

Fonte: Elaborada pela autora.

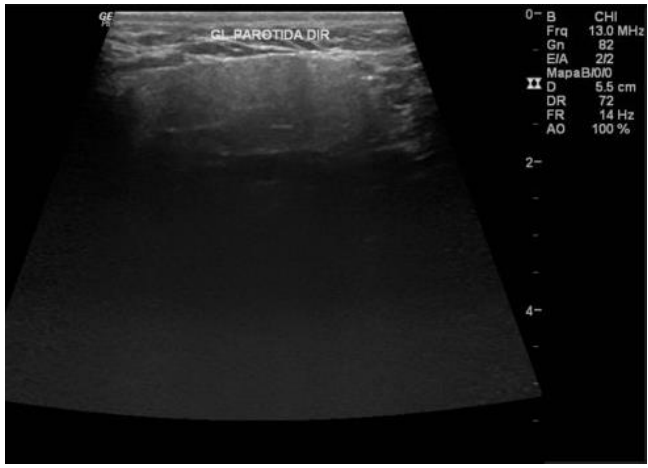
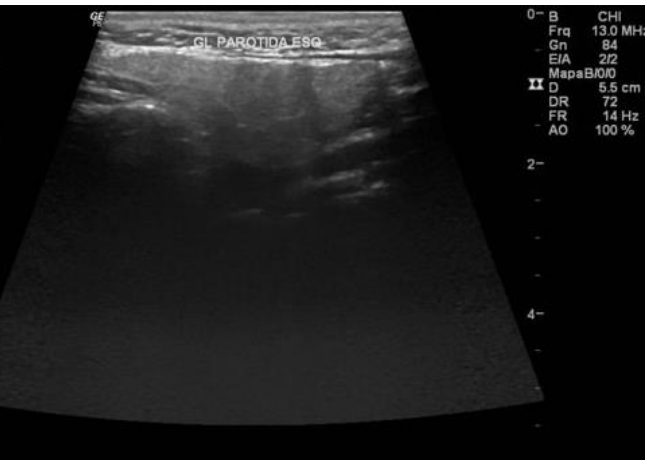
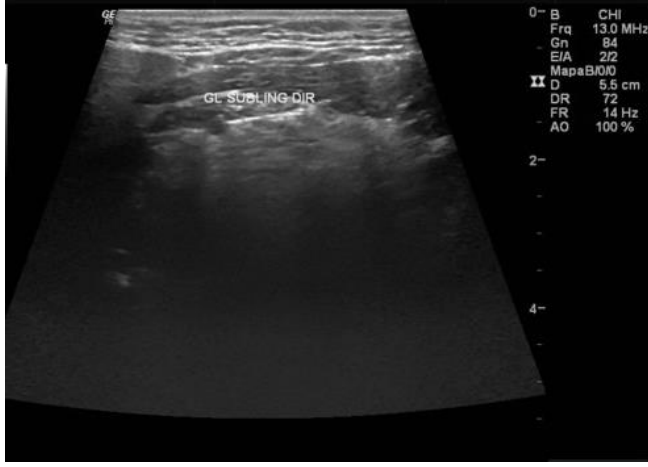
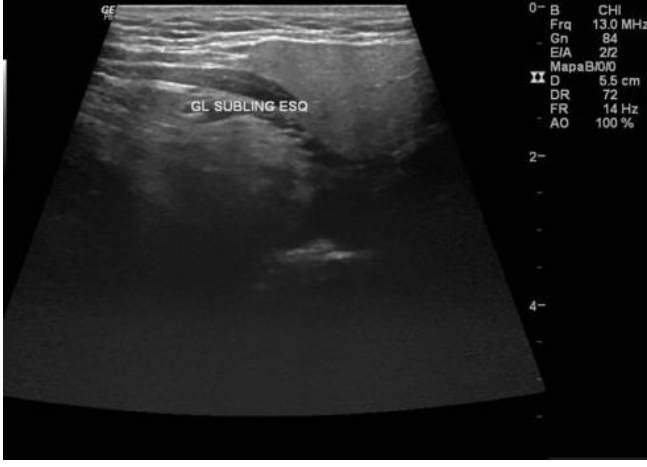
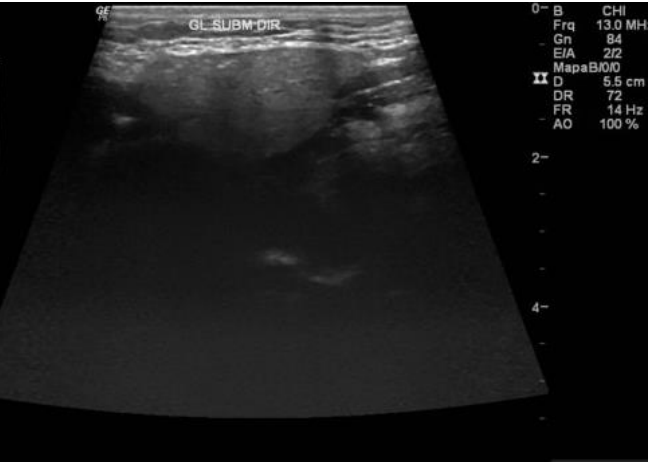
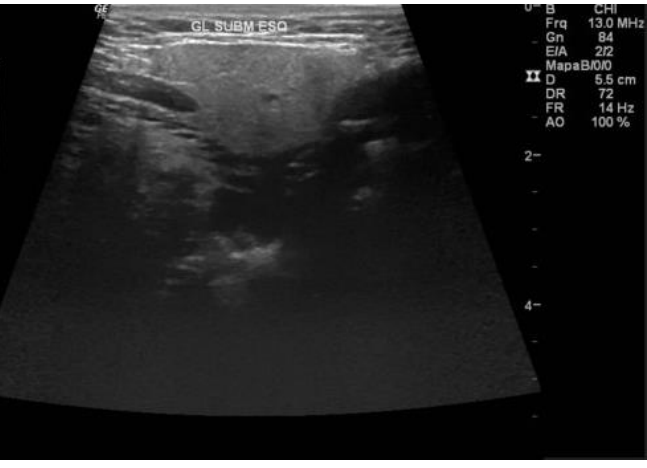
Figura 9 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P1 DMHB

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>
Sublingual	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>
Submandibular	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13.0 MHz            - Gn 82            - E/A 2/2            - MapaBIO0            - D 4.0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P1 DMHB.

Fonte: Elaborada pela autora.

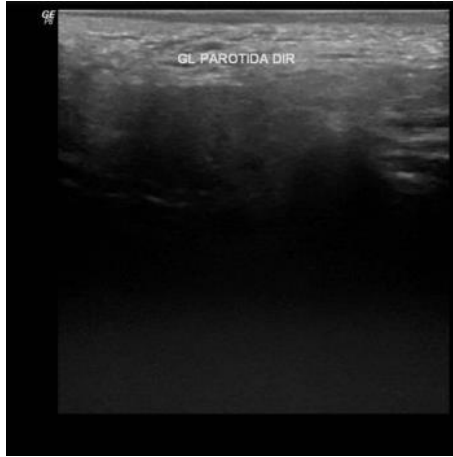
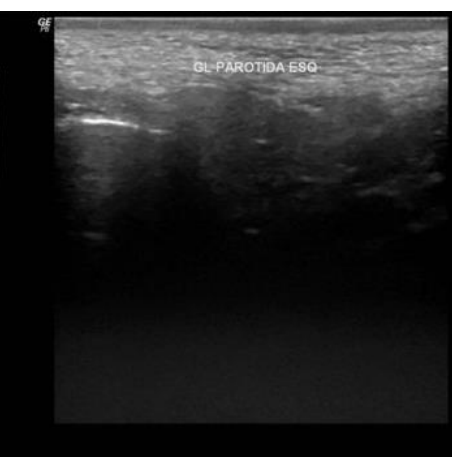
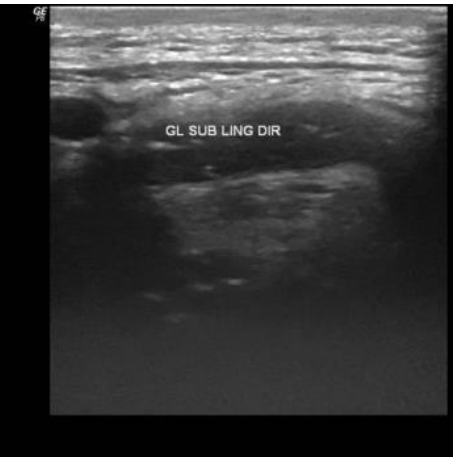
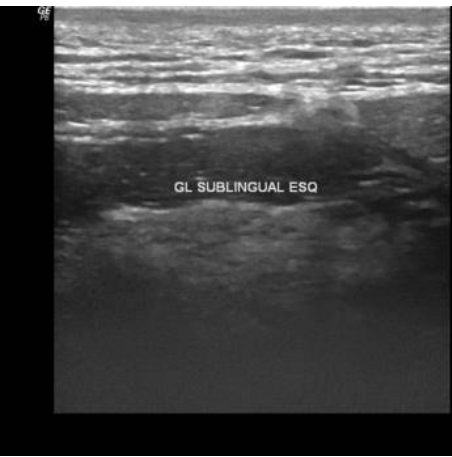
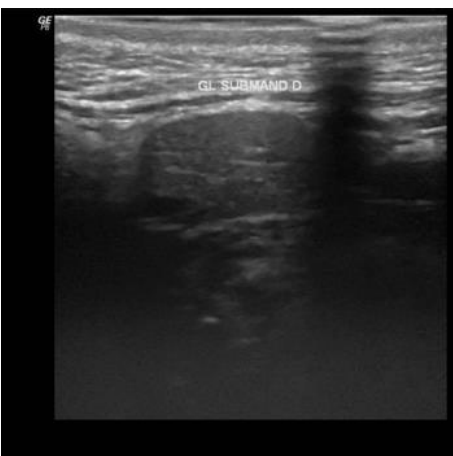
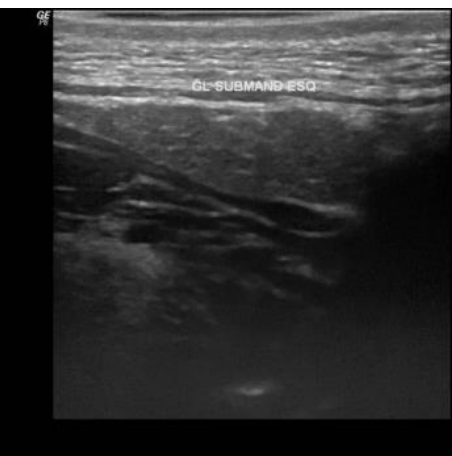
Figura 10 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 DMHB

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 DMHB.

Fonte: Elaborada pela autora.

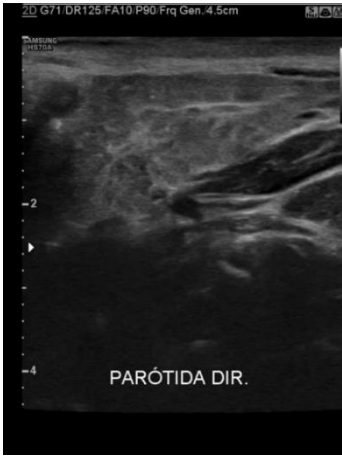
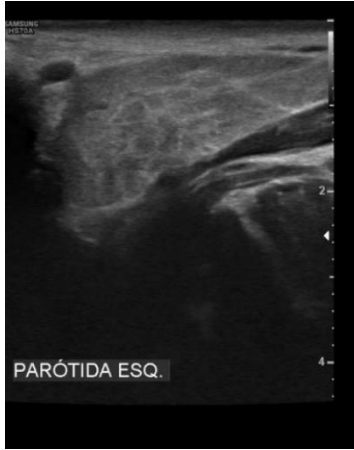
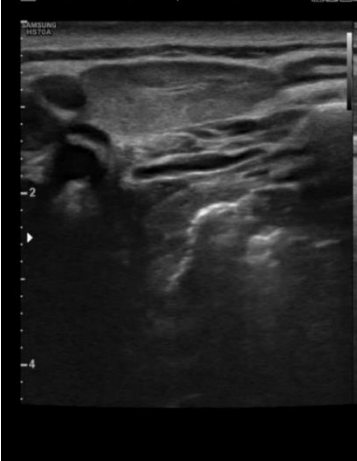
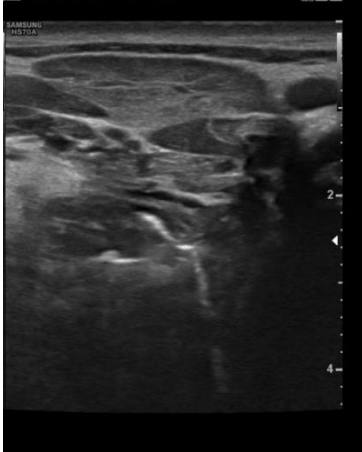


Figura 11 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P4 DMHB

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 76            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 76            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>
Sublingual	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 98            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 98            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>
Submandibular	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 90            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>	 <p>           - B CHI            - Frq 13,0 MHz            - Gn 86            - E/A 2/2            - MapaBIOIO            - D 4,0 cm            - DR 72            - 1- FR 17 Hz            - AO 100 %         </p>

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P4 DMHB.






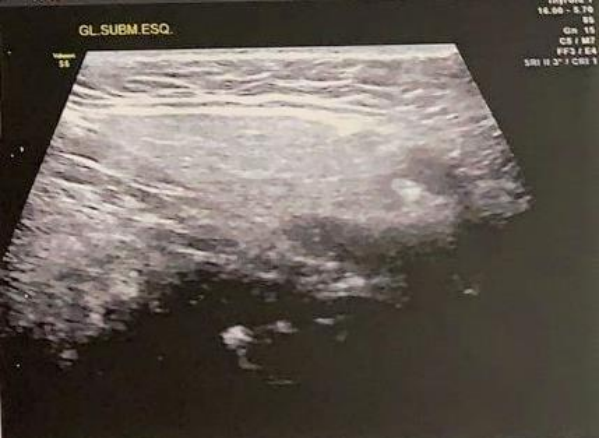
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 12 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 DMHB

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 DMHB.  
 Fonte: Elaborada pela autora.

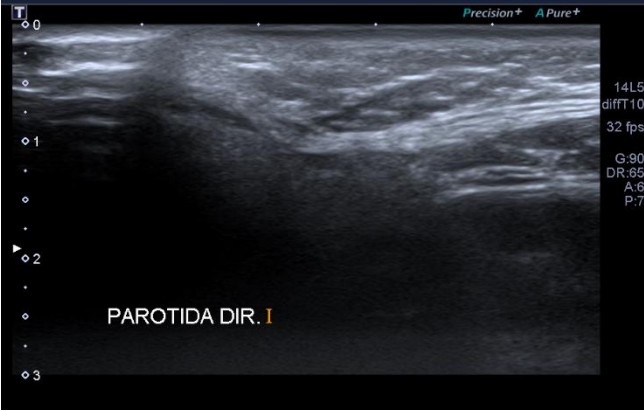
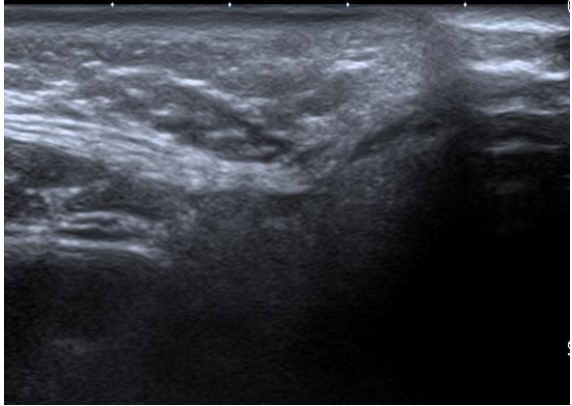
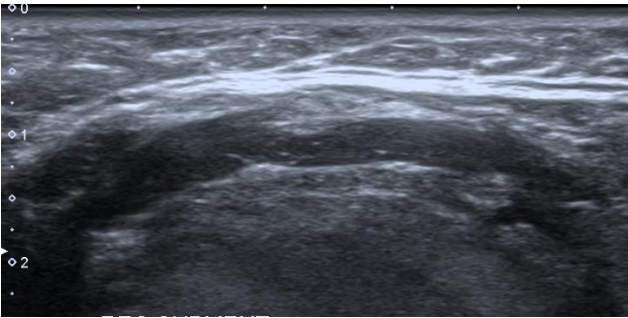
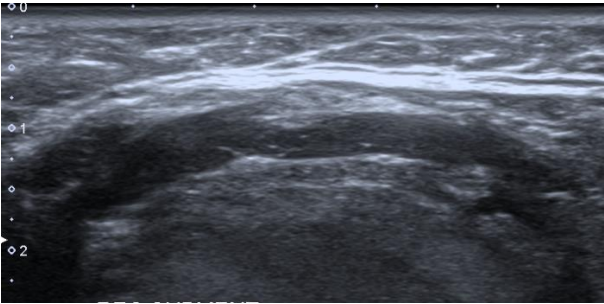
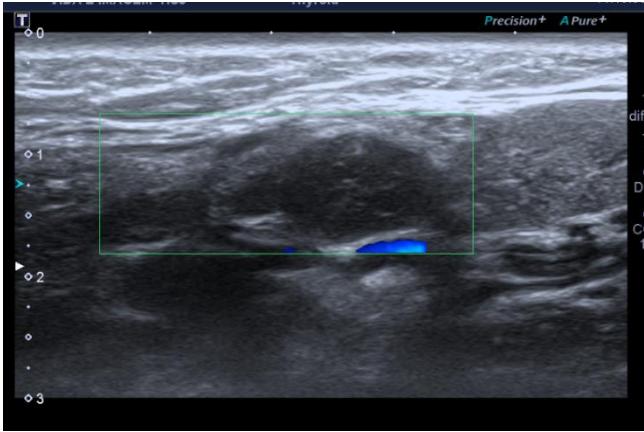
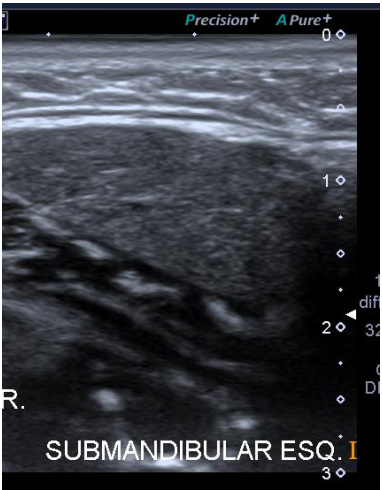
Figura 13 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P2 AIOM

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P2 AIOM.

Fonte: Elaborada pela autora.

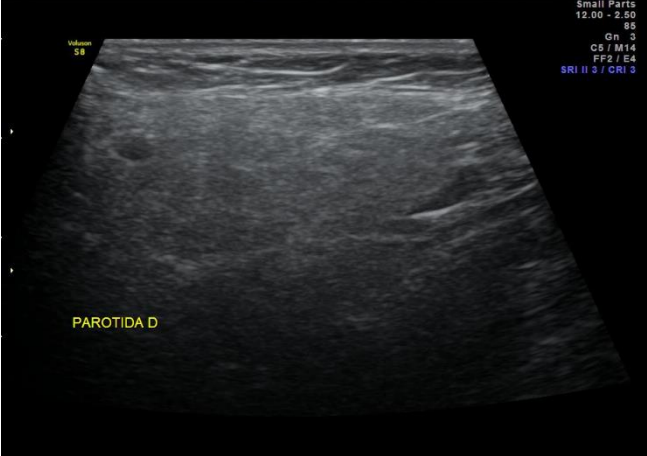
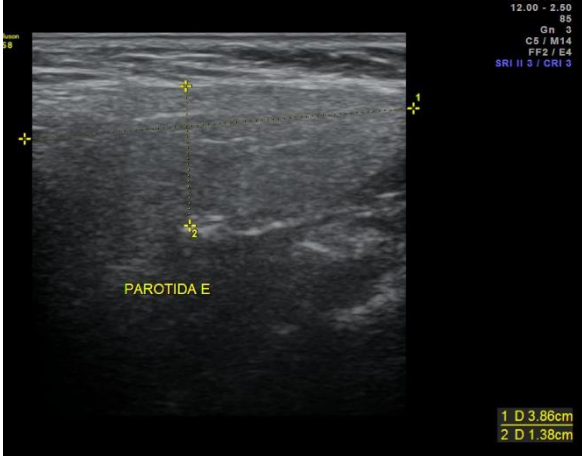
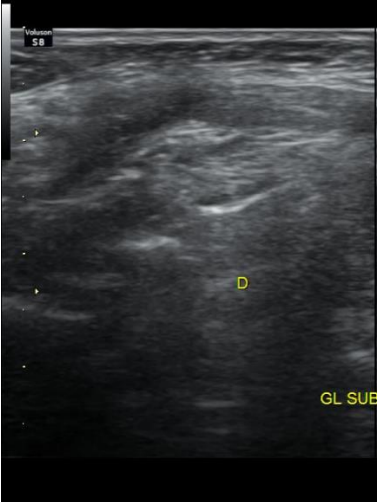
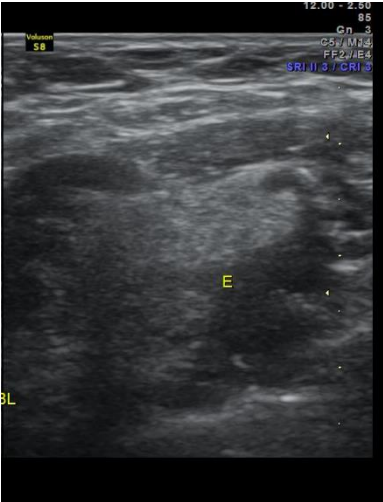
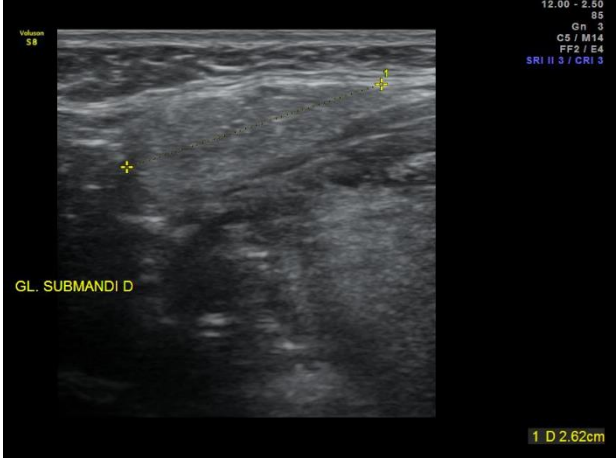
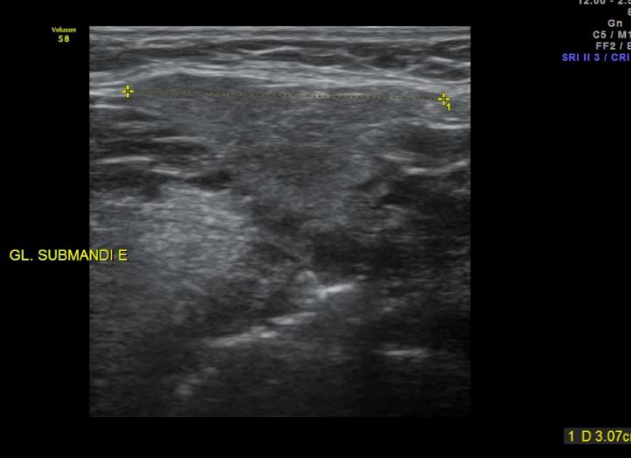
Figura 14 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 AIOM

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P3 AIOM.

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 15 - Ultrassonografia das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 AIOM

GSM	Direito	Esquerdo
Parótida		
Sublingual		
Submandibular		

Legenda: Imagens de USG das glândulas salivares maiores (GSM) do P5 AIOM.

Fonte: Elaborada pela autora.

## 5.2 Parâmetros Salivares

A tabela 1 mostra os resultados dos efeitos das terapias propostas nas propriedades físico-química e microbiológica da saliva e os critérios estabelecidos para as suas interpretações, estando de acordo com as especificidades quantitativas e qualitativas obtidas no teste de saliva.

Em relação à TFS, constatamos que todos os pacientes com SD exibiam redução de fluxo salivar. Antes da aplicação das terapias, a hipossalivação foi encontrada nos seguintes pacientes: P6<sub>EENMs</sub>, P9<sub>EENMs</sub>, P3<sub>HB</sub>, P4<sub>HB</sub> e P2<sub>AIOM</sub>. Dentre as terapias, o AIOM favoreceu um ligeiro aumento de produção de saliva em 100% dos pacientes, seguido pelo DM<sub>HB</sub> (75% dos pacientes) e EENMs (43% dos pacientes). Ademais, a hipossalivação encontrada nos referidos pacientes tratados foi eliminada; todavia, esses mesmos pacientes permaneciam com redução de fluxo salivar após as terapias preconizadas.

No tocante ao valor pH, não houve variação de normalidade antes e após as terapias com DM<sub>HB</sub> e AIOM. Em contrapartida, verificamos que os pacientes P3<sub>EENMs</sub> e P7<sub>EENMs</sub> mostraram valores elevados, em particular, antes da terapia com EENMs.

Sobre a CT foi aumentada nos pacientes tratados com EENMs (n=7; 71% dos pacientes), seguida pelas terapias com DM<sub>HB</sub> (n=4; 50% dos pacientes) e AIOM (n=7; 43% dos pacientes). Além disso, todos os pacientes mostravam valores de normalidade, variando entre valor limítrofe (valor de referência: pH: 4,0 a 5,0) e normal (valor de referência: pH: 5,1 a 7,0) após as terapias de cada sujeito de pesquisa. Dentre as terapias, os pacientes P3<sub>EENMs</sub> e P4<sub>EENMs</sub> (2/7; 29%), P1<sub>HB</sub> e P3<sub>HB</sub> (2/4; 50%) e P4<sub>AIOM</sub> e P5<sub>AIOM</sub> (2/7; 29%) alteraram os valores de limítrofe para normal da CT. Em contrapartida, 14% dos pacientes tratados com EENMs tiveram a CT afetada, variando os valores de normal para limítrofe.

Cabe destacar que os níveis de concentração do CS foram analisados de acordo com a idade e gênero do paciente. Após as terapias, a variação de aumento de níveis CS<sub>matinal</sub> e CS<sub>noturno</sub> foi menor na EENMs (43% e 0% dos pacientes) e maior no AIOM (50% e 71% dos pacientes), respectivamente. Entretanto, nenhum paciente usuário de AIOM foi detectado níveis elevados de CS, em ambos os períodos. Dois

pacientes tratados com EENMs (P4) e DM<sub>HB</sub> (P2) excederam os níveis de normalidade no CS<sub>matinal</sub>.

Em relação à identificação de *Pseudomonas aeruginosa*, nenhum paciente mostrou positividade antes das terapias. Diante desse fato, presumiu-se a irrelevância de repetir essa análise após as terapias indicadas, uma vez que nossos pacientes mostravam boa saúde geral e bucal durante o processo de execução deste estudo.

Tabela 1 – Resultados dos parâmetros salivares dos pacientes com SD, antes (n=23) e após (n=17) as terapias com eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs; n=6), dispositivo mastigatório com hiperboloide (HB; n=4) e aparelho intraoral de avanço mandibular (AIOM; n=7)

Pacientes	Idade (anos)	Gênero	TFS			pH			CT			CS <sup>Matinal</sup>			CS <sup>Noturno</sup>			PA	
			Antes	Após	(%) de ↑	Antes	Após	(%) de ↑	Antes	Após	(%) de ↑	Antes	Após	(%) de ↑	Antes	Após	(%) de ↑	Antes	Após
<b>EENMs<sup>(1-7)</sup></b>					43%			14%			71%			43%			0%		
P1 <sub>EENMs</sub>	21	H	0,3 ↓	0,4 ↓	↑	7,6 N	6,9 N	↓	5,5 N	6,1 N	↑	0,984 ↑	7,404 ↑	↑	↑	0,058 N	0,028 N	↓	Negativo
P2 <sub>EENMs</sub>	18	H	0,2 ↓	0,2 ↓	(-)	6,8 N	5,2 ↓	↓	5,7 N	4,9 L	↓	0,117 N	0,039 N	N	↓	0,097 N	0,018 ↓	↓	Negativo
P3 <sub>EENMs</sub>	20	M	0,5 ↓	0,5 ↓	(-)	8,1 ↑	5,6 N	↓	4,1 L	5,3 N	↑	0,683 N	0,074 ↓	↓	↓	0,045 N	0,023 ↓	↓	Negativo
P4 <sub>EENMs</sub>	26	H	0,2 ↓	0,2 ↓	(-)	7,1 N	6,3 N	↓	5,0 L	5,6 N	↑	0,106 ↓	0,796 ↑	↑	↑	0,844 ↑	0,022 ↓	↓	Negativo
P5 <sub>EENMs</sub>	25	M	0,3 ↓	0,6 ↓	↑	6,5 N	6,7 N	↑	6,1 N	6,2 N	↑	0,088 ↓	0,106 ↓	↓	↑	0,106 N	0,017 ↓	↓	Negativo (▲)
P6 <sub>EENMs</sub>	21	H	0,1 *	0,5 ↓	↑	6,8 N	6,0 N	↓	4,7 L	4,9 L	↑	0,073 ↓	0,041 ↓	↓	↓	0,100 N	0,089 N	↓	Negativo
P7 <sub>EENMs</sub>	22	M	0,6 ↓	0,6 ↓	(-)	7,1 N	6,7 N	↓	5,2 N	5,1 N	↓	0,129 ↓	0,039 ↓	↓	↓	●	0,022 ↓	(/)	Negativo
P8 <sub>EENMs</sub>	28	H	0,3 ↓	(/)	(/)	7,9 ↑	(/)	(/)	5,4 N	(/)	(/)	0,196 N	(/)	(/)	(/)	0,061 N	(/)	(/)	Negativo
P9 <sub>EENMs</sub>	29	H	0,1 *	(/)	(/)	6,2 N	(/)	(/)	5,2 N	(/)	(/)	0,108 ↓	(/)	(/)	(/)	0,055 N	(/)	(/)	Negativo
<b>HB<sup>(1-4)</sup></b>					75%			25%			50%			50%			50%		
P1 <sub>HB</sub>	25	H	0,5 ↓	0,5 ↓	(-)	6,5 N	6,6 N	↑	4,9 L	5,1 N	↑	0,528 N	0,178 N	N	↓	0,191 N	0,021 ↓	↓	Negativo
**P2 <sub>HB</sub>	20	H	0,2 ↓	0,4 ↓	↑	7,8 N	7,5 N	↓	5,8 N	5,2 N	↓	0,050 ↓	1,302 ↑	↑	↑	0,054 N	0,106 N	N	Negativo
P3 <sub>HB</sub>	19	H	0,1 *	0,6 ↓	↑	7,3 N	6,9 N	↓	4,3 L	5,1 N	↑	0,132 N	0,047 N	N	↓	0,174 N	0,031 N	↓	Negativo
P4 <sub>HB</sub>	18	H	0,1 *	0,4 ↓	↑	6,3 N	6,1 N	↓	6,7 N	5,9 N	↓	0,073 N	0,177 N	N	↑	0,093 N	0,142 N	N	Negativo (▲)
P5 <sub>HB</sub>	19	H	0,2 ↓	(/)	(/)	7,4 N	(/)	(/)	6,1 N	(/)	(/)	0,215 N	(/)	(/)	(/)	0,050 N	(/)	(/)	Negativo
P6 <sub>HB</sub>	18	H	0,3 ↓	(/)	(/)	7,0 N	(/)	(/)	5,6 N	(/)	(/)	0,138 N	(/)	(/)	(/)	0,056 N	(/)	(/)	Negativo
P7 <sub>HB</sub>	24	H	0,5 ↓	(/)	(/)	7,5 N	(/)	(/)	5,4 N	(/)	(/)	0,076 ↓	(/)	(/)	(/)	0,136 N	(/)	(/)	Negativo
<b>AIOM<sup>(1-7)</sup></b>					100%			43%			43%			50%			71%		
P1 <sub>AIOM</sub>	18	M	0,5 ↓	0,8 ↓	↑	7,1 N	6,8 N	↓	5,2 N	5,2 N	(-)	0,444 N	0,015 ↓	↓	↓	0,039 N	0,058 N	N	↑
P2 <sub>AIOM</sub>	18	M	0,1 *	0,2 ↓	↑	6,3 N	6,7 N	↑	4,7 L	4,5 L	↓	0,382 N	SI	(-)	(-)	0,054 N	0,301 ↑	↑	Negativo
P3 <sub>AIOM</sub>	29	M	0,4 ↓	0,6 ↓	↑	6,8 N	7,1 N	↑	5,3 N	6,2 N	↑	0,254 ↓	0,023 ↓	↓	↓	0,072 N	0,965 ↑	↑	Negativo
P4 <sub>AIOM</sub>	18	M	0,2 ↓	0,3 ↓	↑	6,7 N	6,2 N	↓	5,0 L	5,6 N	↑	0,087 N	0,328 N	N	↑	0,046 N	0,467 ↑	↑	Negativo (▲)
P5 <sub>AIOM</sub>	27	M	0,2 ↓	0,4 ↓	↑	7,3 N	6,8 N	↓	4,6 L	5,1 N	↑	0,130 ↓	SI	(-)	(-)	0,035 N	0,023 ↓	↓	Negativo
P6 <sub>AIOM</sub>	18	M	0,2 ↓	0,4 ↓	↑	7,6 N	7,2 N	↓	5,3 N	5,3 N	(-)	0,172 N	SI	(-)	(-)	0,044 N	0,035 N	N	↓
P7 <sub>AIOM</sub>	23	M	0,4 ↓	0,8 ↓	↑	7,1 N	7,3 N	↑	7,1 N	6,8 N	↓	0,081 ↓	0,101 ↓	↓	↑	0,023 ↓	0,165 N	N	↑

Legenda: Síndrome de Down (SD); Taxa de Fluxo Salivar (TFS); Capacidade Tampão (CT); cortisol salivar matinal (CS<sup>matinal</sup>); Cortisol Salivar noturno (CS<sup>noturno</sup>); Pseudomonas aeruginosa (PA); Normal (N); valor limítrofe (L); (SI) exame não realizado devido à quantidade insuficiente de amostra de saliva; Homens (H); e Mulheres (M).(\*) hipossalivação; (▲preta) concentração elevada e (▼preta) concentração baixa; (▲azul) valor comparativo diminuído; (▼azul) valor comparativo diminuído; (-) valores semelhantes; (% de) porcentagem de pacientes com valores aumentados após a terapia; (/) exame não realizado devido à interrupção da terapia ou resultado comparativo inconclusivo; (I) Análise do CS não realizado antes da terapia proposta; (p) a identificação da PA na pós-terapia não foi realizado em detrimento dos resultados negativos para presença de colônias de Pseudomonas aeruginosa em todos os pacientes, antes das terapias propostas, não sendo necessário a repetição do referido exame laboratorial. Valores de referência (Gomes et al., 2020): TFS (mL/min): fluxo normal (N; > 1,0), valor limítrofe (L; até 1,0), fluxo reduzido (≤ 0,7) e hipossalivação (≤ 0,1); Valor de pH: normal (variação: 5,3 a 7,8); CT: normal (pH<sub>final</sub> = 5,1 a 7,0), valor limítrofe (pH<sub>final</sub> = 4,0 a 5,0) e baixo (pH<sub>final</sub> < 4,0); CS<sup>matinal</sup> (mg/dL): \* Adolescentes feminino e masculino, idades de 12 a 19 anos (variação normal: 0,021 a 0,883), \* Homens adultos, idade de 20 a 30 anos (variação normal: 0,112 a 0,743), \* Mulheres adultas, idade de 20 a 30 anos (variação normal: 0,272 a 1,348); CS<sup>noturno</sup> (mg/dL): \* Adolescentes feminino e masculino, idades de 12 a 19 anos (variação: ≤ 0,028 a 0,259), \* Homens adultos, idade de 20 a 30 anos (variação: ≤ 0,028 a 0,308); Mulheres adultas, idade de 20 a 30 anos (variação: ≤ 0,028 a 0,359).

Fonte: Elaborada pela autora.

### 5.3 Cálculo Amostral e Análise Estatística

Nos pacientes com SD e AOS, o teste de Wilcoxon (signed-rank test) revelou que a correlação entre cada terapia e as variáveis exploratórias dos parâmetros salivares; enquanto que, o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn foram usados para comparar as três terapias propostas com os parâmetros salivares estudados.

Comparando os valores dos parâmetros salivares antes e após cada terapia, o teste de Wilcoxon revelou que houve diferença estatisticamente significativa na TFS da terapia com AIOm ( $p = 0,0225$ ) e valor de pH ( $p = 0,0346$ ) e níveis de CSn ( $p = 0,0360$ ) da terapia com EENMs (Tabela 2).

Segundo o teste Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn, constatamos que houve significância estatística nas variações dos níveis de CSn entre as terapias com EENMs, DM<sub>HB</sub> e EENMs ( $p = 0,0223$ ). Quando comparamos as três terapias, comprovamos que a diferença significativa ( $p = 0,0058$ ) foi encontrada entre as terapias com EENMs e AIOm (Tabelas 3 e 4).

Tabela 2 - Valores de probabilidade de associação entre a variável categórica de cada terapia e as variáveis exploratórias dos parâmetros salivares pelo teste de correlação de Wilcoxon

Tabela 2 - Valores de probabilidade de associação entre a variável categórica de cada terapia e as variáveis exploratórias dos parâmetros salivares pelo teste de correlação de Wilcoxon.

Parâmetros Salivares	EENMs				DM <sub>HB</sub>				AIOM			
	V	Esperança	Variância	p-valor	V	Esperança	Variância	valor p	V	Esperança	Variância	p-valor
TFS	0	5,0000	7,5000	0,1003	0	3,0000	3,5000	0,1814	0	14,0000	35,0000	<b>0,0225</b>
valor pH	27	14,0000	35,0000	<b>0,0346</b>	9	5,0000	7,5000	0,2012	20	14,0000	35,0000	0,3525
CT	7	14,0000	35,0000	0,2719	5	5,0000	7,5000	1,0000	8	14,0000	35,0000	0,3525
C <sub>Sm</sub>	14	14,0000	35,0000	1,0000	4	5,0000	7,5000	0,8551	6	5,0000	7,5000	0,8551
C <sub>Sn</sub>	21	10,5000	22,7500	<b>0,0360</b>	7	5,0000	7,5000	0,5839	3	14,0000	35,0000	0,0759

Legenda: EENMs, eletroestimulação neuromuscular de superfície; DM<sub>HB</sub>, dispositivo mastigatório com hiperboloide; AIOM: aparelho intraoral de avanço mandibular; TSF, taxa de fluxo salivar; CT, capacidade tampão; C<sub>Sm</sub>, cortisol salivar matinal; e C<sub>Sn</sub>, cortisol salivar noturno.

\* Nível de significância quanto o p-valor é menor que 0,05 ( $\alpha=0,05$ ).

Legenda: Valores de probabilidade de associação entre a variável categórica de cada terapia e as variáveis exploratórias dos parâmetros salivares pelo teste de correlação de Wilcoxon.

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 3 - Valores de probabilidade de associação entre as três terapias e as variáveis exploratórias pelo teste de Kruskal-Wallis

Teste de Kruskal-Wallis	EENMs vs DMHB vs AIOM				
	TSF	valor pH	CT	C <sub>Sm</sub>	C <sub>Sn</sub>
K (valor observado)	0,1733	4,8195	0,4916	2,0286	7,6084
K (Valor crítico)	5,9915	5,9915	5,9915	5,9915	5,9915
p-valor	0,9170	0,0898	0,7821	0,3627	<b>0,0223</b>

\* Nível de significância quanto o p-valor é menor que 0,05 ( $\alpha=0,05$ ).

Legenda: Valores de probabilidade de associação entre as três terapias e as variáveis exploratórias pelo teste de Kruskal-Wallis.

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 4 – Comparações múltiplas pareadas usando teste de Dunn, após as terapias

Amostra	Frequência	Soma das ordenações	Média das ordenações	Grupos	
EENMs (CSn)	7	38,5000	5,5000	A	
DM <sub>HB</sub> (CSn)	4	39,0000	9,7500	A	B
AIOM (CSn)	7	93,5000	13,3571		B

p-valores			
	EENMs (CSn)	HB (CSn)	AIOM (CSn)
EENMs (CSn)	1	0,2036	<b>0,0058</b>
DM <sub>HB</sub> (CSn)	0,2036	1	0,2805
AIOM (CSn)	<b>0,0058</b>	0,2805	1

\* Nível de significância quanto o p-valor é menor que 0,05 ( $\alpha=0,05$ ).

Diferenças significativas			
	EENMs (CSn)	HB (CSn)	AIOM (CSn)
EENMs (CSn)	Não	Não	<b>Sim</b>
DM <sub>HB</sub> (CSn)	Não	Não	Não
AIOM (CSn)	<b>Sim</b>	Não	Não

Legenda: Comparações múltiplas pareadas usando teste de Dunn, após as terapias.  
 Fonte: Elaborada pela autora.

## 6 DISCUSSÃO

Pessoas com SD têm dificuldades de destreza manual devido ao déficit cognitivos de grau variado, levando a problemas de higiene bucal causados por acúmulo de biofilme dental e detritos. Essa condição favorece o desenvolvimento de cárie e doença periodontal. A preservação da saúde geral e bucal é influenciada pelas propriedades físico-químicas e microbiológica da saliva, principalmente na SD, por isso, consideramos este fluido como um importante veículo biológico neste estudo. É válido reforçar que a coleta de amostras de saliva é um procedimento não-invasivo e de fácil obtenção, sendo recomendado para este público-alvo. Considerando as dificuldades de manuseio e comando de voz nos pacientes com deficiência neuropsicomotoras, o uso de uma bomba de aspiração para coleta de saliva foi necessário para a obtenção adequada das amostras. Após as análises, constatamos que todos os pacientes tiveram redução na produção de saliva antes e após as terapias propostas, com relação aos valores normais de referência (Gomes et al., 2020). Essa alteração poderia ter ocorrido devido à disfunção sináptica e/ou alteração da atividade neuronal na síntese de neurotransmissores do sistema nervoso autônomo, responsável pela secreção salivar, acometendo principalmente as glândulas salivares maiores.

Após as terapias, constatamos um aumento da TFS, eliminando a condição de hipossalivação nos P6<sub>EENMs</sub>, P3<sub>HB</sub>, P4<sub>HB</sub> e P2<sub>AIOm</sub> e reduzindo o grau de severidade da alteração quantitativa da saliva. Cabe destacar que o AIOm teve estatisticamente melhor efeito sobre produção de saliva em relação ao DM<sub>HB</sub> e à EENMs. Provavelmente, a elevação da TFS, especialmente nas terapias com AIOm (100% dos pacientes) e DM<sub>HB</sub> (75% pacientes), ocorreu devido aos estímulos mecânicos sobre as glândulas salivares por meio de movimentos mastigatórios com o uso do DM<sub>HB</sub> melhorando a qualidade respiratória e do sono com o uso do AIOm, ativando receptores do sistema nervoso parassimpático e favorecendo o desempenho das unidades morfofuncionais das glândulas salivares, denominada adenômeros. Essas estruturas são responsáveis pela síntese e secreção salivar.

A literatura tem descrito alterações no parênquima das glândulas salivares e nos parâmetros fisiológicos dessas glândulas em indivíduos com síndrome de Down (Gomes et al., 2020). Odeh et al. (2013) identificou ausência congênita de glândulas salivares maiores, particularmente as submandibulares e atrofia glandular. Em nossos estudos, o exame de USG, com e sem Doppler, foi recomendado para diagnosticar anormalidades morfológicas de glândulas salivares parótida, sublingual e submandibular. Dentre os 23 pacientes atendidos, 12 puderam realizar esse exame onde todos pacientes mostraram ausência de anormalidade morfológica das glândulas salivares maiores e somente 1 paciente (P5<sub>HB</sub>) tinha diagnóstico sugestivo de sialoadenite crônica na glândula salivar parótida, em ambos os lados. Linfadenomegalia cervical do lado direito (P2<sub>AIOm</sub> e P3<sub>AIOm</sub>) e esquerdo (P6<sub>EENMs</sub>) e sugestivo de processo inflamatório na glândula tireóide (P3<sub>EENMs</sub>) foram evidenciados. Os demais pacientes (n=11) não realizaram o exame em detrimento a algumas intercorrências pessoais e logísticas, como estado de saúde geral instável e dificuldade de transporte público. Essas alterações podem ser de origem infecciosa, uma vez que esses indivíduos apresentam alta suscetibilidade a infecções recorrentes devido às desordens nos mecanismos moleculares do sistema imunológico. Em adição, nossos pacientes tinham AOS, sendo provavelmente resultante das anormalidades das vias aéreas associadas à hipotonia orofacial (Ram., Chinen, 2011). Esses fatores podem prejudicar a depuração de secreções e facilitar o processo de infecção oral.

Com relação ao pH, o paciente P3<sub>EENMs</sub> teve o pH salivar reduzido após a terapia, mantendo-se dentro da faixa de normalidade. Consideramos que esse equilíbrio possa ser um fator dificultador para progressão de doenças bucais, tais como cárie, periodontite e halitose. Baliga et al. (2013) , reforçam que o pH salivar elevado indica pacientes com propensão à formação de cálculo salivar e pode influenciar no desenvolvimento de doenças periodontias. Frente às terapias, houve significância estatística na diminuição do pH salivar após aplicação da EENMs, resultando num melhor equilíbrio do tamponamento da saliva.

Um outro fator de destaque foi a melhora da **CT** nos pacientes submetidos especialmente às terapias com EENMs (71% dos pacientes) e DM<sub>HB</sub> (50% dos pacientes). A EENMS mostrou melhor desempenho em relação à qualidade da saliva quando comparada com os dispositivos mecânicos (DM<sub>HB</sub> e AIOm). Isso poderia estar relacionado com a emissão efetiva de corrente elétrica que resultou no aumento de

recrutamento das unidades motoras dos músculos mastigatórios e da excitabilidade celular das unidades secretoras terminais (células acinares e mioepiteliais) das glândulas salivares maiores e menores. Assim, podemos inferir que esses pacientes, especialmente os tratados com EENMs, mostraram melhor resistência à cárie, apesar de continuarem com redução de fluxo salivar.

Estudos demonstraram que pacientes com SD tem baixa prevalência de cárie (Domingues et al., 2017; Lee et al., 2004). Esse fato parece ser devido à proteção imune causada pela elevada concentração salivar de IgA específica anti-*Streptococcus mutans* (Lee et al., 2004; Gufran et al., 2019, Willis et al., 2021). Outros autores têm relatado diferentes níveis de microrganismos cariogênicos na saliva de crianças com SD. É sugerido que crianças com SD poderiam ter um menor perfil de *Streptococcus mutans* cariogênico ou diferenças na acidogenicidade/acidoduricidade de cepas que poderiam estar associada com a baixa prevalência de cárie dentária nessa população (Domingues et al., 2017)

A respeito do cortisol, esse hormônio esteroide é produzido na camada cortical da glândula suprarrenal, sendo diretamente envolvido na resposta ao estresse psicológico e/ou físico (Granger et al., 2009; Elder et al., 2014). Noventa por cento do cortisol plasmático estão ligados à globulina ligante do cortisol (CBG; *cortisol-binding globulin*), 5% estão ligados às proteínas de ligação genéricas, como albumina e  $\alpha$ -1 glicoproteína, e 5% estão sem ligação ou livres. Segundo (Blair et al., 2017), a atividade biológica de um hormônio é determinada pela concentração de hormônio livre. Portanto, a mensuração de níveis de cortisol é mais recomendada na saliva do que no sangue, visto que o cortisol livre encontra-se mais disponível no fluido salivar. Esse biomarcador é fortemente utilizado para estudar o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (Bella et al., 2011; Šupe-Domić et al., 2018). A mensuração do cortisol salivar (CS) pode ser realizada com segurança e reprodutibilidade, uma vez que é um procedimento clínico não-invasivo e apresenta níveis semelhantes aos séricos. Este tem sido utilizado como um dos principais testes de diagnóstico para avaliar a suscetibilidade ao estresse.

É importante enfatizar que a secreção de cortisol segue um ritmo circadiano forte para pessoas saudáveis, sendo detectada em maior concentração no período da manhã com declínio ao longo do dia (Šupe-Domić et al., 2018). Assim, os níveis de cortisol seguem as seguintes fases: (1ª fase) aumento acentuado dos níveis de cortisol

30 minutos após o despertar e um acentuado declínio nas próximas 3 horas; (2ª Fase) um gradual declínio do cortisol durante o resto do dia apresentando a menor concentração na primeira metade do sono e (3ª fase) um aumento gradual nos níveis de cortisol até o despertar (Elder et al., 2014; Fekedulegn et al., 2018).

Após as terapias, os pacientes P4<sup>EENMs</sup> e P2<sup>HB</sup> tiveram aumento dos níveis de CS<sup>matinal</sup>; em contrapartida, o paciente P4<sup>EENMs</sup> exibiu redução dos níveis de CS<sup>noturno</sup>. Quando comparamos as terapias de forma isolada, constatamos que houve diferença significativa na diminuição dos níveis de CS<sup>noturno</sup> em pacientes tratados com EENMs. Segundo Sesay et al. (2013), a redução prolongada de níveis de CS pode conduzir a fadiga, perda de peso excessivo e fraqueza muscular.

Todavia, quando comparamos as terapias entre elas, detectamos significância estatística no aumento dos níveis de CS<sup>noturno</sup> em pacientes tratados com AIOm. Assim, pacientes que foram tratados com AIOm mostraram maior suscetibilidade ao estresse, considerando-se que os mesmos exibiam uma maior variação dos níveis de CS durante o dia e não podemos afirmar com precisão se essa terapia teve influência direta sobre essa variação.

Sobre a identificação da *Pseudomonas aeruginosa*, nenhum paciente mostrou positividade antes das terapias propostas. Assim, inferimos que nossos pacientes tinham escasso risco para desenvolver pneumonia aspirativa. Diante desse fato, presumiu-se a irrelevância de realizar essa análise após as terapias propostas, uma vez que todos os pacientes selecionados mantiveram boa saúde geral e bucal durante o processo de execução desse estudo.

Em relação à limitação desse estudo, o impacto da pandemia causada pela COVID-19 foi significativo na execução satisfatória dessa pesquisa. Alguns pacientes com SD interromperam tanto as terapias já iniciadas quanto os exames laboratoriais para testes de saliva. Entretanto, os resultados obtidos foram suficientes para poder concluir esse estudo.

Levando-se em conta essas informações e o aumento da expectativa de vida da pessoa com SD nos últimos anos, a busca de conhecimento sobre condutas terapêuticas orofaciais e seus efeitos sobre a saliva têm despertado forte interesse na área de Medicina Oral para Pacientes com Necessidades Especiais (MOPE). Dentre as suas vantagens, esse veículo biológico destaca-se pela sua natureza não invasiva,

facilidade de coleta, armazenamento e envio de espécimes bem como a possibilidade de se obterem várias amostras.

Diante disso, recomendamos que o teste de saliva poderia ser inserido como método alternativo para investigar as condições bucais e gerais de pacientes, especialmente naqueles com deficiência neuropsicomotora e/ou com perda de capacidade funcional em relação aos cuidados pessoais e à mobilidade. Esse método poderia ser aplicado como protocolo de análise para monitorar a evolução de algumas doenças ou dosagens de medicamentos e/ou para auxiliar na preconização de terapias em prol de um equilíbrio do ecossistema oral.

## 7 CONCLUSÃO

Nesse estudo, pudemos concluir que a redução do fluxo salivar permaneceu nos pacientes com SD e AOS após as terapias propostas, entretanto, o AIOm seguido do DM<sub>HB</sub>, mitigaram a severidade dessa alteração. A EENMs teve melhor desempenho em relação à qualidade da saliva quando comparado com as demais terapias, dentre as quais os pacientes tratados com AIOm mostraram alta suscetibilidade ao estresse, em particular, no período noturno. Nenhum paciente tinha risco de pneumonia por aspiração, antes das terapias. Nenhuma anomalia congênita de glândulas salivares maiores foi evidenciada, todavia alterações adquiridas foram observadas em alguns pacientes com SD e AOS.

## REFERÊNCIAS

Afzelius P, Nielsen MY, Ewertsen C, Bloch KP. Imaging of the major salivary glands. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2016 Jan;36(1):1-10. doi: 10.1111/cpf.12199. Epub 2014 Oct 16. PMID: 25319072.

Antonarakis SE, Skotko BG, Rafii MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2020 Feb 6;6(1):9. doi: 10.1038/s41572-019-0143-7. PMID: 32029743; PMCID: PMC8428796.

Ashkenazi-Hoffnung L, Ari A, Bilavsky E, Scheuerman O, Amir J, Prais D. *Pseudomonas aeruginosa* identified as a key pathogen in hospitalised children with aspiration pneumonia and a high aspiration risk. *Acta Paediatr*. 2016 Dec;105(12):e588-e92. doi: 10.1111/apa.13523. Epub 2016 Aug 12. PMID: 27387674.

Atkinson C, Fuller J 3rd, Huang B. Cross-sectional imaging techniques and normal anatomy of the salivary glands. *Neuroimaging Clin N Am*. 2018 May;28(2):137- 58. doi: 10.1016/j.nic.2018.01.001. Epub 2018 Mar 7. PMID: 29622110.

Bag AK, Curé JK, Chapman PR, Pettibon KD, Gaddamanugu S. Practical imaging of the parotid gland. *Curr Probl Diagn Radiol*. 2015 Mar-Apr;44(2):167-92. doi: 10.1067/j.cpradiol.2014.07.001. PMID: 25432171.

Baliga S, Muglikar S, Kale R. Salivary pH: A diagnostic biomarker. *J Indian Soc Periodontol*. 2013 Jul;17(4):461-5. doi: 10.4103/0972-124X.118317. PMID: 24174725; PMCID: PMC3800408.

Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016 Feb;70(1):53-64. doi: 10.1111/prd.12107. PMID: 26662482; PMCID: PMC4911175

Bella GP, Garcia MC, Spadari-Bratfisch RC. Salivary cortisol, stress, and health in primary caregivers (mothers) of children with cerebral palsy. *Psychoneuroendocrinology*. 2011 Jul;36(6):834-42. doi: 10.1016/j.psyneuen.2010.11.005. Epub 2010 Dec 10. PMID: 21146316.

Bermudez BE, Medeiros SL, Bermudez MB, Novadzki IM, Magdalena NI. Down syndrome: Prevalence and distribution of congenital heart disease in Brazil. *Sao Paulo Med J*. 2015;133(6):521-4.

Bertrand P, Navarro H, Caussade S, Holmgren N, Sánchez I. Airway anomalies in children with Down syndrome: endoscopic findings. *Pediatr Pulmonol*. 2003 Aug;36(2):137-41. doi: 10.1002/ppul.10332. PMID: 12833493.

Blair J, Adaway J, Keevil B, Ross R. Salivary cortisol and cortisone in the clinical setting. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2017 Jun;24(3):161-8. doi: 10.1097/MED.0000000000000328. PMID: 28375882.

Bueno JR, Gouvêa CM, D.Sc. Cortisol e exercício: Efeitos, secreção e metabolismo . *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício* (2011) Vol. 10 Número 3, 178-80.

Carpenter GH. The secretion, components, and properties of saliva. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2013;4:267-76. doi: 10.1146/annurev-food-030212-182700. PMID: 23464573.

Chadi MJ, Saint Georges G, Albert F, Mainville G, Nguyen JM, Kauzman A. Major salivary gland aplasia and hypoplasia in Down syndrome: review of the literature and report of a case. *Clin Case Rep*. 2017 May 4;5(6):939-44. doi: 10.1002/ccr3.975. PMID: 28588844; PMCID: PMC5457992.

Chamseddin BH, Johnson RF, Mitchell RB. Obstructive sleep apnea in children with Down Syndrome: demographic, clinical, and polysomnographic features. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019 Jan;160(1):150-7. doi: 10.1177/0194599818797308. Epub 2018 Aug 28. PMID: 30149781.

Chaushu S, Becker A, Chaushu G, Shapira J. Stimulated parotid salivary flow rate in patients with Down syndrome. *Spec Care Dentist*. 2002 Jan-Feb;22(1):41-4. doi: 10.1111/j.1754-4505.2002.tb01208.x. PMID: 12014860

Contaldo M, Lucchese A, Romano A, Della Vella F, Di Stasio D, Serpico R, et al. Oral microbiota features in subjects with Down syndrome and periodontal diseases: a systematic review. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 26;22(17):9251. doi: 10.3390/ijms22179251. PMID: 34502159; PMCID: PMC8431440.

Davidovich E, Aframian DJ, Shapira J, Peretz B. A comparison of the sialochemistry, oral pH, and oral health status of Down syndrome children to healthy children. *Int J Paediatr Dent*. 2010 Jul;20(4):235-41. doi: 10.1111/j.1365-263X.2010.01045.x. PMID: 20536584.

Domingues NB, Mariusso MR, Tanaka MH, Scarel-Caminaga RM, Mayer MPA, Brighenti FL, et al. Reduced salivary flow rate and high levels of oxidative stress in whole saliva of children with Down syndrome. *Spec Care Dentist*. 2017 Nov;37(6):269-76. doi: 10.1111/scd.12258. Epub 2017 Dec 12. PMID: 29231976.

Duarte RL, Magalhães-da-Silveira FJ. Factors predictive of obstructive sleep apnea in patients undergoing pre-operative evaluation for bariatric surgery and referred to a sleep laboratory for polysomnography. *J Bras Pneumol*. 2015 Sep-Oct;41(5):440-8. doi: 10.1590/S1806-37132015000000027. PMID: 26578136; PMCID: PMC4635091.

Elder GJ, Wetherell MA, Barclay NL, Ellis JG. The cortisol awakening response-- applications and implications for sleep medicine. *Sleep Med Rev.* 201Jun;18(3):215-24. doi: 10.1016/j.smrv.2013.05.001. Epub 2013 Jul 5. PMID: 23835138

Faber J, Faber C, Faber AP. Obstructive sleep apnea in adults. *Dental Press J Orthod.* 2019 Aug 1;24(3):99-109. doi: 10.1590/2177-6709.24.3.099-109.sar. PMID: 31390456; PMCID: PMC6677338.

Faria Carrada C, Almeida Ribeiro Scalioni F, Evangelista Cesar D, Lopes Devito K, Ribeiro LC, Almeida Ribeiro R. Salivary periodontopathic bacteria in children and adolescents with Down syndrome. *PLoS One.* 2016 Oct 11;11(10):e0162988. doi: 10.1371/journal.pone.0162988. PMID: 27727287; PMCID: PMC5058504.

Fekedulegn D, Innes K, Andrew ME, Tinney-Zara C, Charles LE, Allison P, et al. Sleep quality and the cortisol awakening response (CAR) among law enforcement officers: The moderating role of leisure time physical activity. *Psychoneuroendocrinology.* 2018 Sep;95:158-69. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.05.034. Epub 2018 May 28. PMID: 29864672; PMCID: PMC6401560.

Gerdung CA, Tsang A, Yasseen AS 3rd, Armstrong K, McMillan HJ, Kovesi T. Association between chronic aspiration and chronic airway infection with *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria in children with cerebral palsy. *Lung.* 2016 Apr;194(2):307-14. doi: 10.1007/s00408-016-9856-5. Epub 2016 Feb 16. PMID: 26883134.

Giannasi LC, Dutra MTS, Tengan VLS, Mancilha GP, Silva GRC, Fillietaz-Bacigalupo E, et al. Evaluation of the masticatory muscle function, physiological sleep variables, and salivary parameters after electromechanical therapeutic approaches in adult patients with Down syndrome: a randomized controlled clinical trial. *Trials.* 2019 Apr 11;20(1):215. doi: 10.1186/s13063-019-3300-0. PMID: 30975204; PMCID: PMC6460660.

Gomes MF, Giannasi LC, Fillietaz-Bacigalupo E, de Mancilha GP, de Carvalho Silva GR, Soviero LD, et al. Evaluation of the masticatory biomechanical function in Down syndrome and its influence on sleep disorders, body adiposity and salivary parameters. *J Oral Rehabil.* 2020 Aug;47(8):1007-22. doi: 10.1111/joor.13023. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32463923.

Granger DA, Hibbel LC, Fortunato CK, Kapelewski CH. Medication effects on salivary cortisol: tactics and strategy to minimize impact in behavioral and developmental science. *Psychoneuroendocrinology.* 2009 Nov;34(10):1437-48. doi: 10.1016/j.psyneuen.2009.06.017. Epub 2009 Jul 25. PMID: 19632788.

Gufran K, Alqutaym OS, Alqahtani AAM, Alqarni AM, Hattan EAE, Alqahtani RO. Prevalence of dental caries and periodontal status among Down's syndrome population in Riyadh city. *J Pharm Bioallied Sci.* 2019 May;11(Suppl 2):S252-S5.

Doi:10.4103/JPBS.JPBS\_2\_19. PMID: 31198347; PMCID: PMC6555345.

Hall JE, Guyton AC. Tratado de fisiología médica. 12. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2011.

Hirota K, Yoneyama T, Sakamoto M, Miyamoto H, Kurihara M, Kayama S, et al. High prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* from oropharyngeal biofilm in patients with cerebrovascular infarction and dysphagia. *Chest*. 2010 Jul;138(1):237-8. doi: 10.1378/chest.10-0240. PMID: 20605833.

Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent*. 2001 Feb;85(2):162-9. doi: 10.1067/mpr.2001.113778. PMID: 11208206.

Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Exp Biol Med* (Maywood). 2017 Mar;242(5):459-72. doi: 10.1177/1535370216681550. Epub 2016 Dec 8. PMID: 27903834; PMCID: PMC5367650

Komatsu T, Duckyoung Y, Ito A, Kurosawa K, Maehata Y, Kubodera T, et al . Increased oxidative stress biomarkers in the saliva of Down syndrome patients. *Arch Oral Biol*. 2013 Sep;58(9):1246-50. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.03.017. Epub 2013 May 25. PMID: 23714170.

Lagan N, Huggard D, Mc Grane F, Leahy TR, Franklin O, Roche E, et al . Multiorgan involvement and management in children with Down syndrome. *Acta Paediatr*. 2020 Jun;109(6):1096-111. doi: 10.1111/apa.15153. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31899550.

Landete P, Soriano JB, Aldave B, Zamora E, Acosta C, Erro M, et al. Obstructive sleep apnea in adults with Down syndrome. *Am J Med Genet A*. 2020 Dec;182(12):2832-40. doi: 10.1002/ajmg.a.61853. Epub 2020 Sep 10. PMID: 32909685.

Lee SR, Kwon HK, Song KB, Choi YH. Dental caries and salivary immunoglobulin A in Down syndrome children. *J Paediatr Child Health*. 2004 Sep-Oct;40(9-10):530-3. doi: 10.1111/j.1440-1754.2004.00457.x. PMID: 15367146.

Lydiatt DD, Bucher GS. The historical evolution of the understanding of the submandibular and sublingual salivary glands. *Clin Anat*. 2012 Jan;25(1):2-11. doi: 10.1002/ca.22007. PMID: 22180137.

Maris M, Verhulst S, Saldien V, Van de Heyning P, Wojciechowski M, Boudewyns A. Drug-induced sedation endoscopy in surgically naive children with Down syndrome and obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2016 Aug;24:63-70. doi: 10.1016/j.sleep.2016.06.018. Epub 2016 Aug 22. PMID: 2781018.

Morita T. Obstructive sleep apnea in patients with down syndrome. *Practica Oto-*

Rhino-Laryngologica. 2018; 111(2): 90 · ©1. doi.org/10.5631/jibirin.111.90.

Ram G, Chinen J. Infections and immunodeficiency in Down syndrome. Clin Exp Immunol. 2011 Apr;164(1):9-16. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04335.x. Epub 2011 Feb 24. PMID: 21352207; PMCID: PMC3074212.

Odeh M, Bronshtein M, Bornstein J. Congenital absence of salivary glands in fetuses with trisomy 21. Isr Med Assoc J. 2017 Jan;19(1):12-4. PMID: 28457107.

Odeh M, Hershkovits M, Bornstein J, Loberant N, Blumenthal M, Ophir E. Congenital absence of salivary glands in Down syndrome. Arch Dis Child. 2013;98(10):781–3.

Santamaria LB, Di Paola C, Mafrica F, Fodale V. Preanesthetic evaluation and assessment of children with Down's syndrome. ScientificWorldJournal. 2007 Feb 19;7:242-51. doi: 10.1100/tsw.2007.64. PMID: 17334615; PMCID: PMC5901281.

Santos RA, Costa LH, Linhares RC, Pradella-Hallinan M, Coelho FMS, Oliveira GDP. Sleep disorders in Down syndrome: a systematic review. Arq Neuropsiquiatr. 2022 Apr;80(4):424-43. doi: 10.1590/0004-282X-ANP-2021-0242. PMID: 35293557.

Scalioni F, Carrada C, Machado F, Devito K, Ribeiro LC, Cesar D, et al. Salivary density of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus and dental caries in children and adolescents with Down syndrome. J Appl Oral Sci. 2017 May-Jun;25(3):250-7. doi: 10.1590/1678-7757-2016-0241. PMID: 28678943; PMCID: PMC5482247.

Schwertner C, Moreira MJ, Faccini LS, Hashizume LN. Biochemical composition of the saliva and dental biofilm of children with Down syndrome. Int J Paediatr Dent. 2016 Mar;26(2):134-40. doi: 10.1111/ipd.12168. Epub 2015 May 5. PMID: 25943195.

Sesay AM, Micheli L, Tervo P, Palleschi G, Virtanen V. Development of a competitive immunoassay for the determination of cortisol in human saliva. Anal Biochem. 2013 Mar 15;434(2):308-14. doi: 10.1016/j.ab.2012.12.008. Epub 2012 Dec 19. PMID: 23262282.

Sharma G, Rao S, Bansal A, Dang S, Gupta S, Gabrani R. Pseudomonas aeruginosa biofilm: potential therapeutic targets. Biologicals. 2014 Jan;42(1):1-7. doi: 10.1016/j.biologicals.2013.11.001. Epub 2013 Dec 3. PMID: 24309094.

Silvers AR, Som PM. Salivary glands. Radiol Clin North Am. 1998 Sep;36(5):941-66, vi. doi: 10.1016/s0033-8389(05)70070-1. PMID: 9747195.

Siqueira WL, de Oliveira E, Mustacchi Z, Nicolau J. Electrolyte concentrations in saliva of children aged 6-10 years with Down syndrome. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 Jul;98(1):76-9. doi: 10.1016/j.tripleo.2004.04.007. PMID: 15243474.

Šupe-Domić D, Milas G, Stanišić L, Drmić Hofman I, Martinović Klarić I. Reference intervals for six salivary cortisol measures based on the croatian late adolescence stress study (CLASS). *Biochem Med (Zagreb)*. 2018 Feb 15;28(1):010902. doi: 10.11613/BM.2018.010902. Epub 2017 Nov 24. PMID: 29187800; PMCID: PMC5701778.

Turner MD. Hyposalivation and xerostomia: etiology, complications, and medical management. *Dent Clin North Am*. 2016 Apr;60(2):435-43. doi: 10.1016/j.cden.2015.11.003. PMID: 27040294.

Willis JR, Iraola-Guzmán S, Saus E, Ksiezopolska E, Cozzuto L, Bejarano LA, et al. Oral microbiome in Down syndrome and its implications on oral health. *J Oral Microbiol*. 2020 Dec 30;13(1):1865690. doi: 10.1080/20002297.2020.1865690. PMID: 33456723; PMCID: PMC7782466.

## APÊNDICE A – Análises estatísticas

### Comparação de duas amostras pareadas - EENMs

Nível de significância (%): 5

p-valor: p-valor assintótico

Tratamento dos empates: Hollander & Wolfe

Correção de continuidade: Sim

Dados faltantes: remoção das unidades

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste

#### TFS: antes x depois

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	0,0000
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	0,1003
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 10,03%.

#### CSmat: antes x depois

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	14
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	1,0000
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 100,00%.

pH: antes x  
depois

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	27
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,0346
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

H0: não há diferença significativa

**Ha: há diferença significativa**

Como o p-valor calculado é menor que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , deve-se rejeitar a hipótese nula H0 em favor da hipótese alternativa Ha.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é menor do que 3,46%.

**CSnot: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	21
Esperança	10,5000
Variância (V)	22,7500
p-valor (bilateral)	0,0360
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

H0: não há diferença significativa

**Ha: há diferença significativa**

Como o p-valor calculado é menor que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , deve-se rejeitar a hipótese nula H0 em favor da hipótese alternativa Ha.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é menor do que 3,60%.

**CT: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	7
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,2719
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 27,19%.

**Comparação de duas amostras pareadas -  
HB**

Nível de significância (%): 5

p-valor: p-valor assintótico

Tratamento dos empates: Hollander &  
Wolfe

Correção de continuidade: Sim

Dados faltantes: remoção das unidades

**TFS: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste  
bilateral:

V	0,0000
Esperança	3,0000
Variância (V)	3,5000
p-valor (bilateral)	0,1814
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 18,14%.

**CSmat: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	4
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	0,8551
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 85,51%.

**pH: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	9
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	0,2012
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 20,12%.

**CSnot: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	7
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	0,5839
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0. O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 58,39%.

**CT: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	5
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	1,0000
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 100,00%.

**pH: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	20
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,3525
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 35,25%.

**CSnot: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	3
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,0759
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 7,59%.

**CT: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	8
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,3525
Alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

H0: não há diferença significativa

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 35,25%.

**Comparação de duas amostras pareadas - AIOm**

Nível de significância (%): 5

p-valor: p-valor assintótico

Tratamento dos empates: Hollander & Wolfe

Correção de continuidade: Sim

Dados faltantes: remoção das unidades

**TFS: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	0
Esperança	14,0000
Variância (V)	35,0000
p-valor (bilateral)	0,0225
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

H0: não há diferença significativa

**Ha: há diferença significativa**

Como o p-valor calculado é menor que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , deve-se rejeitar a hipótese nula H0 em favor da hipótese alternativa Ha.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é menor do que 2,25%.

**CSmat: antes x depois**

Teste de Wilcoxon signed-rank / Teste bilateral:

V	6
Esperança	5,0000
Variância (V)	7,5000
p-valor (bilateral)	0,8551
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 85,51%.

**Comparação de mais de duas amostras (não-pareadas) - EENMs x HB x AIOM****TFS (após(EENMs x HB x AIOM))**

Teste de Kruskal-Wallis:

K (Valor observado)	0,1733
K (Valor crítico)	5,9915
GL	2
p-valor (bilateral)	0,9170
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 91,70%.

**CSmat (após(EENMs x HB x AIOM))**

Teste de Kruskal-Wallis:

K (Valor observado)	2,0286
K (Valor crítico)	5,9915
GL	2
p-valor (bilateral)	0,3627
alfa	0.05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 36,27%.

**pH (após(EENMs x HB x AIOM))**

Teste de Kruskal-Wallis:

K (Valor observado)	4,8195
K (Valor crítico)	5,9915
GL	2
p-valor (bilateral)	0,0898
Alfa	0.05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

**H0: não há diferença significativa**

Ha: há diferença significativa

Como o p-valor calculado é maior que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , não rejeita-se a hipótese nula H0.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é de 8,98%.

**CSnot (após(EENMs x HB x AlOm))**

Teste de Kruskal-Wallis:

K (Valor observado)	7,6084
K (Valor crítico)	5,9915
GL	2
p-valor (bilateral)	0,0223
alfa	0,05

Uma aproximação foi utilizada para calcular o p-valor.

Interpretação do teste:

H0: não há diferença significativa

**Ha: há diferença significativa**

Como o p-valor calculado é menor que o nível de significância  $\alpha=0,05$ , deve-se rejeitar a hipótese nula H0 em favor da hipótese alternativa Ha.

O risco de rejeitar a hipótese nula H0 quando ela é verdadeira é menor do que 2,23%.

Empates foram encontrados nos dados e as correções apropriadas foram aplicadas.

Comparações múltiplas pareadas utilizando o procedimento de Dunn / Teste bilateral:

Amostra	Frequência	Soma das ordenações	Média das ordenações
EENMs (CSnot(Após))	7	38,5000	5,5000
HB (CSnot(Após))	4	39,0000	9,7500
AlOm (CSnot(Após))	7	93,5000	13,3571

p-valores:

	EENMs (CSnot(Após))	HB (CSnot(Após))	AlOm (CSnot(Após))
EENMs (CSnot(Após))	1	0,2036	<b>0,0058</b>
HB (CSnot(Após))	0,2036	1	0,2805
AlOm (CSnot(Após))	<b>0,0058</b>	0,2805	1

Diferenças significativas:

	EENMs (CSnot(Após))	HB (CSnot(Após))	AlOm (CSnot(Após))
EENMs (CSnot(Após))	Não	Não	<b>Sim</b>
HB (CSnot(Após))	Não	Não	Não
AlOm (CSnot(Após))	<b>Sim</b>	Não	Não

## ANEXO A —Certificado do Comitê de Ética

UNESP - INSTITUTO DE  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -  
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.127.141

muscular, bem como a melhora nas variáveis fisiológicas do sono, que são influenciadas pela condição muscular hipotônica. Como indicadores secundários de resultado teremos como mensurar a efetiva adesão de cada terapia e como cada uma delas influenciou as alterações musculares e respiratórias do sono nos grupos estudados.

### Objetivo da Pesquisa:

Realizar um ensaio clínico randomizado controlado, avaliando as funções dos músculos mastigatórios e as variáveis fisiológicas do sono após as terapias com eletroestimulação neuromuscular de superfície (EENMs), hiperboloide (Hb), bandagem terapêutica facial (BTf) e aparelho intraoral (AIO) em pacientes com síndrome de Down

### Objetivo Secundário:

- Obter os padrões da atividade elétrica dos músculos masseter direito e esquerdo (porção superficial), temporal direito e esquerdo (porção anterior) e supra-hióideo em pacientes com síndrome de Down, por meio da eletromiografia de superfície;
- Avaliar a atividade elétrica dos músculos masseter direito e esquerdo (porção superficial), temporal direito e esquerdo (porção anterior) e supra-hióideo em pacientes com síndrome de Down, após eletroestimulação neuromuscular, uso de hiperboloide, bandagem terapêutica facial e aparelho intraoral, por meio da eletromiografia de superfície;
- Obter os padrões das variáveis fisiológicas do sono em pacientes com síndrome de Down, por meio de polissonografia basal (inicial);
- Avaliar as variáveis fisiológicas do sono em pacientes com síndrome de Down, após uso de hiperboloide, eletroestimulação neuromuscular, bandagem terapêutica facial e aparelho intraoral, por meio de polissonografia;
- Avaliar o volume de fluxo salivar, pH e as concentrações de cortisol e alfa-amilase na saliva em pacientes com síndrome de Down, antes e após as terapias propostas;
- Avaliar os indicadores inflamatórios (IL-1ra, IL-1beta, IL-2, IL-10, INF-gama e TNF-alfa) da cavidade oral com a finalidade de estabelecer os padrões antes e após as terapias propostas;
- Avaliar os níveis bucais de Pseudomonas aeruginosa, espécie bacteriana selecionada como indicadora de risco para ocorrência de pneumonia aspirativa, antes e após as terapias propostas.

### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

#### Riscos:

as terapias: A eletroestimulação neuromuscular de superfície pode oferecer sensação de desconforto devido ao estímulo elétrico aplicado sobre os músculos estudados, e não oferece riscos previsíveis; O hiperboloide não oferece desconforto e nem riscos previsíveis; O aparelho

**Endereço:** Av.Engº Francisco José Longo 777  
**Bairro:** Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000  
**UF:** SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS  
**Telefone:** (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br

UNESP - INSTITUTO DE  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA -  
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS



Continuação do Parecer: 2.127.141

Assentimento / Justificativa de Ausência	pdf	10:46:51	Gomes	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodePesquisa.pdf	21/03/2017 16:22:47	Mônica Fernandes Gomes	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinada.pdf	20/12/2016 11:26:08	Mônica Fernandes Gomes	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO JOSE DOS CAMPOS, 20 de Junho de 2017

---

**Assinado por:**  
**Denise Nicodemo**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Av.Engº Francisco José Longo 777

**Bairro:** Jardim São Dimas

**CEP:** 12.245-000

**UF:** SP

**Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS

**Telefone:** (12)3947-9078

**Fax:** (12)3947-9010

**E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br

## ANEXO B- Produção Científica

**PN1140****Evaluation of the salivary parameters after therapies with neuromuscular electrostimulation and intraoral appliance in Down Syndrome**

Nudi RS\*, Dutra MTS, Giannasi LC, Diciéri-Pereira B, Amorim JBO, Koga-Ito CY, Salgado MAC, Gomes MF

INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA / ICT-UNESP-SJC.

Não há conflito de interesse

The aim will be to evaluate the therapeutics effects of the neuromuscular electromechanical stimulation and intra-oral appliance on the physicochemical and microbiological properties of saliva in patients with Down syndrome (DS) and obstructive sleep apnea (OSA). We also will analyze the morphological features of major salivary glands. Patients with DS and OSA will be recruited in this study. Follow, they will be divided into three groups of therapy: sNMES (surface neuromuscular electrical stimulation), hyperbolide mastication apparatus (HBMA), and MAOA (mandibular advancement oral appliance). These therapeutic protocols will be applied for 60 days. Before and after these therapies, saliva testing will be carried out, including salivary flow rate, pH value, buffer capacity, salivary cortisol levels (morning and night) to verify stress susceptibility, and identification of *Pseudomonas aeruginosa* species to determinate risk for occurrence of aspiration pneumonia. Furthermore, ultrasound and magnetic resonance imaging will be accomplished to verify the morphological features of the major salivary glands, including parotid, submandibular and sublingual glands. Posteriorly, sample power, analytic calculation and comparative analysis will be done.

*Considering that people with SD has commonly hypotonia of masticatory muscles and changes in salivary parameters, we infer that the purpose therapies may promote a quantitative and qualitative improvement of this biological fluid and, consequently, lead to an appropriate oral health.*

**(Apoio: FAPs - Fapesp N° 2017/06835-8)**



Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica  
Divisão Brasileira da IADR


# CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **PN1140 - EVALUATION OF THE SALIVARY PARAMETERS AFTER THERAPIES WITH NEUROMUSCULAR ELECTROSTIMULATION AND INTRAORAL APPLIANCE IN DOWN SYNDROME** de Nudi RS\*, Dutra MTS, Giannasi LC, Diceri-Pereira B, Amorim JBO, Koga-Ito CY, Salgado MAC, Gomes MF foi apresentado **na modalidade Painei Aspirante**

durante a 38ª Reunião Anual Virtual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica  
no período de 08 a 11 de Setembro de 2021



  
Paulo Francisco César  
Presidente

  
Valentim Adelino Ricardo Barão  
Vice-Presidente



Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica  
Divisão Brasileira da IADR

# CERTIFICADO

Certificamos que o projeto - **EVALUATION OF THE SALIVARY PARAMETERS AFTER THERAPIES WITH NEUROMUSCULAR ELECTROSTIMULATION AND INTRAORAL APPLIANCE IN DOWN SYNDROME** de Nudi RS\*, Dutra MTS, Giannasi LC, Diceri-Pereira B, Amorim JBO, Koga-Ito CY, Salgado MAC, Gomes MF foi apresentado **na modalidade Projeto de Pesquisa**

durante a 38ª Reunião Anual Virtual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica  
no período de 08 a 11 de Setembro de 2021



  
Paulo Francisco César  
Presidente

  
Valentim Adelino Ricardo Barão  
Vice-Presidente