

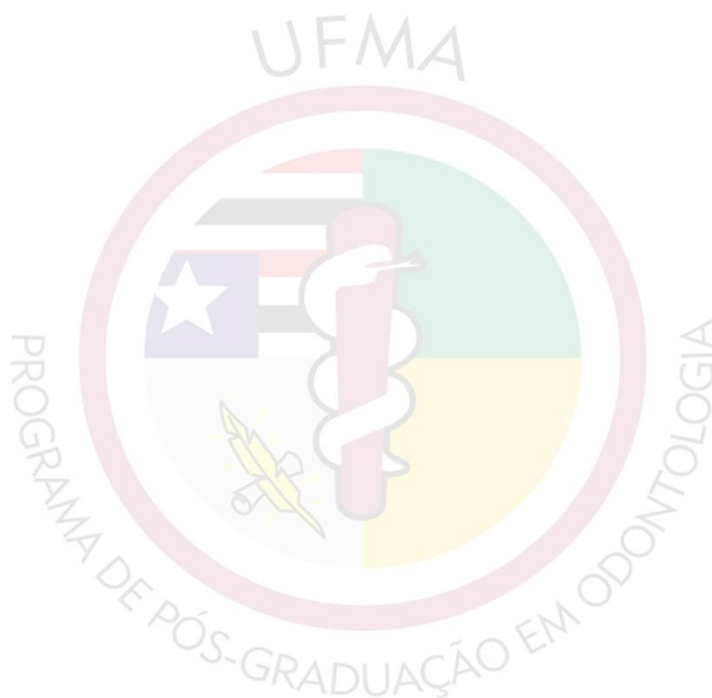


UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA



JESSILENE RIBEIRO ROCHA

**ASSINATURA DE CITOCINAS SALIVARES CORRELACIONADA AO
CONTROLE GLICÊMICO EM ADULTOS COM DIABETES TIPO 2**



SÃO LUÍS

2024

JESSILENE RIBEIRO ROCHA

**ASSINATURA DE CITOCINAS SALIVARES CORRELACIONADA AO CONTROLE
GLICÊMICO EM ADULTOS COM DIABETES TIPO 2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz

Coorientador: Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues

SÃO LUÍS

2024

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Ribeiro Rocha, Jessilene.

ASSINATURA DE CITOCINAS SALIVARES CORRELACIONADA AO
CONTROLE GLICÊMICO EM ADULTOS COM DIABETES TIPO 2 /
Jessilene Ribeiro Rocha. - 2024.

61 f.

Coorientador(a) 1: Vandilson Pinheiro Rodrigues.

Orientador(a): Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São
Luís, 2024.

1. Citocinas. 2. Saliva. 3. Controle Glicêmico. 4.
Diabetes Tipo 2. I. Fontoura Nogueira da Cruz, Maria
Carmen. II. Pinheiro Rodrigues, Vandilson. III. Título.

JESSILENE RIBEIRO ROCHA

**ASSINATURA DE CITOCINAS SALIVARES CORRELACIONADA AO CONTROLE
GLICÊMICO EM ADULTOS COM DIABETES TIPO 2**

A Comissão julgadora da Dissertação de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 07 / 01 / 2025 , considerou a candidata.

(X) APROVADA

() REPROVADA

- 1) Examinador: Profa. Dra. Simone Souza Lobão Veras Barros
- 2) Examinador: Profa. Dra. Thalita Santana Conceição
- 3) Examinador Suplente: Profa. Dra. Luana Martins Cantanhede
- 4) Examinador Suplente: Prof. Dr. Vandilson Pinheiro Rodrigues
- 5) Presidente (Orientador): Profa. Dra. Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, o alicerce da minha vida. Agradeço à minha mãe, Gracilene Ribeiro, por todo o amor, cuidado e apoio incondicional. Às minhas irmãs, Jessica Ribeiro e Jessiane Ribeiro, por serem minha fonte de força e inspiração. Não há palavras suficientes para expressar o quanto sou grata por tudo o que vocês fizeram e fazem por mim. Obrigada por me apoiarem sempre, amo vocês.

Ao meu companheiro, Luís Gustavo, minha gratidão infinita. Você foi meu suporte nos momentos mais difíceis, sempre ao meu lado com palavras de incentivo, compreensão e amor. Aos meus amigos, Maria Tereza, Iane Melo, Cibelly Ferreira, Alan Araújo, Lucas Daylor, Marcos Dezidério sou imensamente grata pela amizade de cada um. Cada conversa, risada e gesto de carinho de vocês são especiais para mim. A vida com vocês é muito mais divertida.

Aos meus queridos amigos e colegas de turma, Camilla, Eulla, Felipe, Flávia, Handreza, Izis, Luana, Luiza, Mayron, Shirley, Stelio e Vinícius. Sou muito grata pelo companheirismo e pela troca de experiências ao longo dessa caminhada. A convivência com todos vocês tornou essa jornada muito mais leve.

Agradeço de maneira especial à minha orientadora, Profa. Dra. Maria Carmen, e ao meu coorientador, Prof. Dr. Vandilson Rodrigues, pelas valiosas orientações, dedicação e paciência ao longo de todo o processo. Sem o conhecimento e o suporte de vocês, este trabalho não teria sido possível.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, que contribuíram de forma significativa para minha formação. À FAPEMA, pelo financiamento que possibilitou a realização desta pesquisa. Aos funcionários do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia, Ivaldo e Thais, meu sincero agradecimento pelo suporte técnico e científico. Gostaria de expressar minha gratidão à Joana Albuquerque e Mila Assunção pelo auxílio na coleta e processamento dos dados. O esforço de vocês foi essencial para a construção desse trabalho.

Por fim, dedico este trabalho a todos que, de alguma forma, contribuíram para que este momento se tornasse realidade. Levo cada gesto, palavra e abraço comigo como parte dessa conquista.

RESUMO

O diabetes tipo 2 é um distúrbio metabólico com alta prevalência global. Essa doença está associada a um estado de inflamação crônica, havendo um desequilíbrio entre citocinas pró- e anti-inflamatórias. Nos últimos anos, tem-se investigado o potencial da saliva como ferramenta para o monitoramento dessa condição. Este biofluido tem a capacidade de refletir aspectos de condições sistêmicas, sendo um método não invasivo, de bom custo-benefício e fácil coleta e armazenamento. Portanto, o objetivo dessa dissertação foi identificar citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva relacionadas a marcadores do controle glicêmico em adultos com diabetes tipo 2. Um estudo transversal foi conduzido com 20 indivíduos com diabetes tipo 2 (Grupo diabetes) e 20 voluntários sem diabetes (Grupo Controle). Foram coletados dados sobre a caracterização demográfica, IMC e nível sérico de hemoglobina glicada (H1bAc) e glicemia de jejum (HGT). Amostras de saliva não estimulada foram coletadas para quantificação da concentração de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α e TNF- α . Os testes Qui-quadrado, Mann-Whitney e correlação de Spearman foram utilizados na análise estatística. O grupo diabetes foi formado por 8 mulheres e 12 homens, com média de idade de 57,6 $\pm$ 6,8 anos, enquanto que o grupo controle foi formado por 10 mulheres e 10 homens, com média de idade de 51,6 $\pm$ 12,7 anos. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para as variáveis sociodemográficas ($P > 0,05$). Observou-se que o grupo diabetes apresentou níveis salivares mais elevados de IL-6 ($P = 0,003$) e IL-10 ($P = 0,021$). A análise da correlação entre citocinas e marcadores do controle glicêmico revelou que houve correlações diretas moderadas de HGT com os níveis salivares de IL-1 β ($\rho = 0,505$; $P = 0,032$), IL-6 ($\rho = 0,535$; $P = 0,022$), IL-10 ($\rho = 0,525$; $P = 0,025$), IL-22 ($\rho = 0,585$; $P = 0,011$), TGF- α ($\rho = 0,632$; $P = 0,005$) e TNF- α ($\rho = 0,624$; $P = 0,006$). HbA1c apresentou correlações apenas para as razões entre os marcadores salivares (IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10). Os achados deste estudo sugerem que alterações nos níveis salivares de citocinas podem estar relacionadas ao descontrole glicêmico em indivíduos com diabetes tipo 2. Ainda, sugere-se que o nível de citocinas responde de forma mais imediata às alterações mensuradas pelo HGT, enquanto que o HbA1c parecer estar mais relacionado ao desequilíbrio entre as citocinas, podendo estar relacionado a uma resposta a longo prazo.

Palavras-chave: Citocinas; Saliva; Controle glicêmico; Diabetes tipo 2

ABSTRACT

Type 2 diabetes is a metabolic disorder with high global prevalence. This disease is associated with a state of chronic inflammation, with an imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines. In recent years, the potential of saliva as a tool for monitoring this condition has been investigated. This biofluid has the ability to reflect aspects of systemic conditions, being a non-invasive, cost-effective and easy collection and storage method. Therefore, the objective of this dissertation was to identify pro- and anti-inflammatory cytokines in saliva related to markers of glycemic control in adults with type 2 diabetes. A cross-sectional study was conducted with 20 individuals with type 2 diabetes (diabetes group) and 20 volunteers without diabetes (control group). Data on demographic characteristics, BMI, serum glycated hemoglobin (HbA_{1c}) and fasting glucose (HGT) were collected. Unstimulated saliva samples were collected to quantify the concentration of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α and TNF- α . The Chi-square, Mann-Whitney and Spearman correlation tests were used in the statistical analysis. The diabetes group consisted of 8 women and 12 men, with a mean age of 57.6 ± 6.8 years, while the control group consisted of 10 women and 10 men, with a mean age of 51.6 ± 12.7 years. There were no statistically significant differences between the groups for the sociodemographic variables ($P > 0.05$). It was observed that the diabetes group presented higher salivary levels of IL-6 ($P = 0.003$) and IL-10 ($P = 0.021$). The analysis of the correlation between cytokines and markers of glycemic control revealed that there were moderate direct correlations of HGT with salivary levels of IL-1 β ($\rho = 0.505$; $P = 0.032$), IL-6 ($\rho = 0.535$; $P = 0.022$), IL-10 ($\rho = 0.525$; $P = 0.025$), IL-22 ($\rho = 0.585$; $P = 0.011$), TGF- α ($\rho = 0.632$; $P = 0.005$) and TNF- α ($\rho = 0.624$; $P = 0.006$). HbA_{1c} showed correlations only for the ratios between salivary markers (IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10). The findings of this study suggest that changes in salivary cytokine levels may be related to glycemic dyscontrol in individuals with type 2 diabetes. Furthermore, it is suggested that cytokine levels respond more immediately to changes measured by HGT, while HbA_{1c} appears to be more related to the imbalance between cytokines, which may be related to a long-term response.

Keywords: Cytokines; Saliva; Glycemic control; Type 2 diabetes

LISTA DE SIGLAS

ADA	<i>American Diabetes Association</i> (Associação Americana do Diabetes)
AGES	<i>Advanced glycation end products</i> (Produtos finais de glicação avançada)
AIQ	Amplitude interquartilica
±dp	Desvio-padrão
DT2	Diabetes tipo 2
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i> (Fator de crescimento epidérmico)
GBD	<i>Global Burden Disease</i> (Carga Global de Doenças)
GLUT4	Transportador de glicose regulado pela insulina tipo 4
HbA1c	Hemoglobina glicada
HGT	Hemoglico teste
IDF	<i>International Diabetes Federation</i> (Federação Internacional de Diabetes)
IL-17A	Interleucina 17A
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-22	Interleucina 22
IMC	Índice de Massa Corporal
IRS-1	<i>Insulin receptor substrate 1</i> (Substrato 1 do receptor de insulina)
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i> (Proteína quimioatraente de monócitos 1)
med	Mediana
PAI-1	Inibidor ativador plasminogênio tipo 1
pg/mL	Picogramas por mililitro
Rho	Coeficiente de correlação de Spearman
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SNNPqO	Sociedade Nordeste e Norte de Pesquisa Odontológica
SOCS-3	<i>Suppressor of cytokine signaling 3</i> (Supressor de sinalização da citocina 3)
TGF-α	<i>Transforming growth factor alpha</i> (Fator de crescimento transformador alfa)
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (Fator de necrose tumoral alfa)
TTGO	Teste de Tolerância à Glicose Oral

SUMÁRIO

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	8
1.1 Diabetes tipo 2: conceito, epidemiologia, diagnóstico, monitoramento	8
1.2 Diabetes tipo 2 e inflamação	10
<i>1.2.1 Citocinas inflamatórias no diabetes tipo 2</i>	<i>12</i>
1.3 Biomarcadores salivares.....	15
2 CAPÍTULO I.....	19
Resumo	20
Abstract	21
Introdução	22
Metodologia.....	23
<i>Desenho do estudo.....</i>	<i>23</i>
<i>Critérios de elegibilidade</i>	<i>24</i>
<i>Coleta de dados de caracterização geral</i>	<i>24</i>
<i>Coleta de saliva</i>	<i>24</i>
<i>Nível salivar de citocinas</i>	<i>25</i>
<i>Análise estatística</i>	<i>25</i>
Resultados.....	25
<i>Caracterização dos grupos.....</i>	<i>25</i>
<i>Assinatura salivar de citocinas no diabetes tipo 2</i>	<i>27</i>
<i>Razão entre citocinas pró/anti-inflamatórias</i>	<i>32</i>
Discussão.....	34
Conclusão	37
Referências	22
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	49
ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	58

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Diabetes tipo 2: conceito, epidemiologia, diagnóstico, monitoramento

O diabetes tipo 2 (DT2) é uma doença metabólica crônica caracterizada por um quadro hiperglicêmico persistente (Rodacki *et al.*, 2023). Seu desenvolvimento decorre de dois processos: 1) resistência à insulina, no qual há redução da sensibilidade das células-alvo à ação desse hormônio; e 2) disfunção das células beta (β) pancreáticas, que não produzem a quantidade suficiente de insulina. Sua etiologia está associada a uma interação complexa entre fatores genéticos e ambientais. Dentre os fatores de risco ambientais, destacam-se a dieta inadequada, a inatividade física e a obesidade (ADA, 2018; Desai *et al.*, 2020).

O panorama global do diabetes indica um aumento substancial na sua prevalência. As estimativas da Federação Internacional de Diabetes (IDF) projetam que até 2030, mais de 366 milhões de pessoas terão a doença. Ainda, esse número poderá ultrapassar 693 milhões até 2045, com aproximadamente 90% dos casos correspondendo ao diabetes tipo 2 (Cho *et al.*, 2018). Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), esse crescimento é atribuído a diversos fatores, incluindo a rápida urbanização, mudanças epidemiológicas e nutricionais, estilo de vida sedentário, excesso de peso, bem como ao crescimento e envelhecimento populacional, além do aumento da expectativa de vida dos indivíduos acometidos por diabetes (Brasil, 2019).

Considerando sua natureza crônica e as complicações associadas, o diabetes tem um grande impacto econômico, sendo oneroso tanto para os indivíduos afetados e suas famílias, quanto para os sistemas de saúde (IDF, 2021). A Comissão *Lancet* sobre diabetes destaca a carga desigual da doença, relatando que 80% dos casos ocorrem em países de média e baixa renda. Além do financiamento inadequado e mal estruturado dos sistemas de saúde, esses países enfrentam desafios socioeconômicos significativos, como má nutrição, pobreza e falta de atividade física (Chan *et al.*, 2020).

Os gastos relacionados ao diabetes envolvem os custos com medicamentos, a maior utilização dos serviços de saúde e os cuidados prolongados para tratar suas complicações, como problemas cardiovasculares, insuficiência renal e amputações de membros inferiores. As despesas associadas ao diabetes têm um impacto substancial sobre os gastos totais com saúde em nível mundial, correspondendo a 11,5% do total das despesas globais nesse setor (IDF, 2021). Assim, o diabetes constitui um desafio de saúde pública, em razão de seu custo elevado e morbimortalidade associada (Saeedi *et al.*, 2019).

Os critérios laboratoriais adotados para o diagnóstico do diabetes são baseados nos valores de glicemia plasmática (Tabela 1). Esses critérios, estabelecidos pela Associação

Americana do Diabetes (ADA), são: glicemia plasmática após oito horas de jejum ≥ 126 mg/dL; glicemia plasmática após 120 minutos da ingestão de 75 g de glicose anidra dissolvida em água (Teste Oral de Tolerância à Glicose) ≥ 200 mg/dL; hemoglobina glicada $\geq 6,5\%$; ou em pessoas com sintomas clássicos de hiperglicemia (poliúria, polidipsia e perda ponderal), em crise hiperglicêmica ou glicemia plasmática aleatória ≥ 200 mg/dL (ADA, 2020).

Tabela 1 - Critérios laboratoriais para diagnóstico de pré-diabetes e diabetes

Critérios	Normal	Pré-diabetes	Diabetes
Glicemia de jejum (mg/dL)	<100	100-125	≥ 126
Glicemia ao acaso (mg/dL) + sintomas	-	-	≥ 200
Glicemia de 1 hora no TTGO (mg/dL)	<155	155-208	≥ 209
Glicemia de 2 horas no TTGO (mg/dL)	<140	140-199	≥ 200
HbA1c (%)	<5,7	5,7-6,4	$\geq 6,5$

TTGO: Teste de Tolerância à Glicose Oral; HbA1c: hemoglobina glicada. *Considera-se como jejum a cessão da ingestão calórica de 8-12 horas. **Carga oral equivale a 75 g de glicose anidra diluída em água.

Fonte: Rodacki *et al.* (2023)

O tratamento do diabetes tem como finalidade a prevenção das complicações associadas à doença, sendo avaliado por meio do alcance de metas métricas relacionadas ao controle glicêmico. O adequado controle dos níveis glicêmicos é fundamental, pois permite a minimização de complicações agudas e crônicas. Os parâmetros comumente empregados no monitoramento glicêmico são a hemoglobina glicada (HbA1c) e as glicemias plasmáticas de jejum (ADA, 2024).

O teste de hemoglobina glicada refere-se à taxa de glicação da glicose à fração A1c da hemoglobina A. Devido à vida média das hemácias durar em torno de 3 meses, a HbA1c fornece uma média da glicação que aconteceu nesse período, refletindo o controle glicêmico em longo prazo. Cerca de 50% da taxa de HbA1c corresponde aos 30 dias precedentes ao exame, 25% do mês anterior a este, e os outros 25% dos dois meses restantes (Almeida-Pititto *et al.*, 2023). Taxas de HbA1c menor que 7% correspondem a uma glicemia média diária em torno de 154 mg/dL, variando de 123 a 185 mg/dL. Esses níveis são frequentemente usados como referência para o controle ideal do diabetes (Nathan *et al.*, 2008). No entanto, esse teste não leva em consideração a variabilidade glicêmica ou eventos hipoglicêmicos. Logo, a medição da HbA1c deve ser combinada com medidas de glicemia plasmática (Martinez *et al.*, 2021).

O estado glicêmico também pode ser monitorado por meio de medidas de glicemia capilar. Este pode ser avaliado em jejum e nos períodos pré e pós-prandial (2 horas após as refeições) (Battelino *et al.*, 2019). A Tabela 2 demonstra as metas de controle glicêmico recomendadas pela Sociedade Brasileira de Diabetes em diversas situações clínicas, considerando os níveis ideais de glicemia de acordo com a faixa etária e estado de saúde individual (Almeida-Pititto *et al.*, 2023).

Tabela 2 - Metas individualizadas em diversas situações no Diabetes

	Pacientes com diabetes	Idoso saudável	Idoso comprometido	Idoso muito comprometido	Criança e adolescente
HbA1c (%)	<7,0	<7,5	<8,0	Evitar sintomas de hiper/hipoglicemia	<7,0
Glicemia de jejum e pré-prandial	80-130	80-130	90-150	100-180	70-130
Glicemia pós-prandial (2 horas)	<180	<180	<180	-	<180

Fonte: Almeida-Pititto *et al.* (2023)

1.2 Diabetes tipo 2 e inflamação

O diabetes tipo 2 é caracterizado por uma inflamação crônica de baixo grau, conhecida como metainflamação. Esse termo diz respeito à produção sistêmica crônica de fatores inflamatórios (Kolb; Mandrup-Poulsen, 2010). A teoria mais amplamente aceita para explicar o processo inflamatório no diabetes tipo 2 sugere que a hiperglicemia crônica cria um ambiente metabólico alterado, favorecendo a inflamação. Esse processo é responsável por danos macrovasculares e microvasculares (Berbudi *et al.*, 2020). Os efeitos deletérios da hiperglicemia decorrem de várias vias metabólicas, sendo a via de produtos finais de glicação avançada a principal delas (King, 2008). Nessa situação, ocorre uma glicação excessiva de proteínas, levando à formação de altos níveis de produtos finais de glicação avançada (*Advanced glycation end-products* - AGEs). Os AGEs, por sua vez, ativam o processo de estresse oxidativo, resultando na ativação de genes pró-inflamatórios (Khalid; Petroianu; Adem, 2022).

Evidências indicam que há uma relação direta entre a inflamação crônica de baixo grau e a resistência à insulina no diabetes tipo 2 (Leinonen *et al.*, 2006; Lontchi-Yimagou *et al.*, 2013; Rehman *et al.*, 2017; Pickup, 2004). Um dos primeiros estudos a estabelecer uma conexão entre inflamação e diabetes foi realizado com modelos de obesidade e diabetes em roedores. Neste estudo, a expressão de mRNA e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foi induzida

tanto localmente no tecido adiposo quanto sistemicamente no plasma dos camundongos e ratos. Ao inibir a expressão de TNF- α em ratos obesos, observou-se uma melhora na sensibilidade à insulina, indicando um papel direto do TNF- α no desenvolvimento da resistência à insulina (Hotamisligil; Shargill; Spiegelman, 1993).

Nas últimas décadas, diversas pesquisas realizadas em modelos humanos e animais reforçaram as evidências sobre a correlação entre inflamação crônica e o desenvolvimento e progressão do diabetes tipo 2 (Duncan *et al.*, 2003; Shoelson; Lee; Goldfine, 2006; Marques-Vidal *et al.*, 2012). O ambiente pró-inflamatório associado ao DT2 é marcado por níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, reagentes de fase aguda, maior ativação de leucócitos e maior infiltração de macrófagos em tecidos adiposos e outros locais. Isso gera um ciclo contínuo em que a inflamação promove a resistência à insulina, enquanto a hiperglicemia perpetua o estado inflamatório (Pickup, 2004).

O processo inflamatório no diabetes tipo 2 é desencadeado por diversos fatores ainda não totalmente compreendidos. De acordo com Wellen e Hotamisligil (2005), a obesidade está associada ao processo de inflamação de baixo grau. A falta de capilares nos tecidos adiposos leva à hipóxia, que pode desencadear uma resposta inflamatória. Além disso, a presença de macrófagos no tecido adiposo contribui para a produção de mediadores inflamatórios por estas células, sozinhas ou em conjunto com os adipócitos, atuando na resistência à insulina. Desse modo, a exposição celular a níveis elevados de ácidos graxos livres e de fatores inflamatórios estimulam a inibição dos receptores de insulina, evidenciando a relação entre obesidade e diabetes.

Os marcadores inflamatórios no diabetes tipo 2 incluem contagem de glóbulos brancos, adipocinas e citocinas. O aumento na contagem total de glóbulos brancos mostrou-se associado à ocorrência de DT2 em alguns estudos. Vozarova *et al.* (2002) acompanharam uma população indígena com e sem diabetes, avaliando a contagem de glóbulos brancos nesses indivíduos ao longo do tempo. Maiores níveis de expressão de glóbulos brancos foram relatados, demonstrando potencial preditivo na piora insulínica e risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2. De maneira similar, em outro estudo, a alta contagem de glóbulos brancos demonstrou relação com a diabetes tipo 2, indicando que a inflamação de baixo grau é um fator evidente nessa patologia (Gkrania-Klotsas *et al.*, 2010).

As adipocinas são substâncias peptídicas e não peptídicas produzidas e secretadas pelo tecido adiposo. Estas incluem citocinas e fatores de crescimento, além de proteínas que atuam no metabolismo glicêmico, lipídico e na regulação da homeostase vascular, possuindo efeitos endócrinos, parácrinos e autócrinos (Pinto, 2014; Prado *et al.*, 2009).

Alguns fatores como o inibidor ativador plasminogênio tipo 1 (PAI-1), produzido por macrófagos e adipócitos, cujos níveis plasmáticos elevados estão associados à adiposidade visceral e morbidades demonstraram relação com diabetes tipo 2. A resistina, adipocina associada a resistência à insulina, também é encontrada em sítios inflamatórios. Esta adipocina interfere na captação de glicose e pode contribuir para o desequilíbrio metabólico por ação direta ou indiretamente por meio de processos mediadores da inflamação (Carvalho; Colaço; Fortes, 2006; Pinto, 2014).

Ainda, há a secreção de quimiocinas inflamatórias pelo tecido adiposo, como a proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1). Essa substância atua no recrutamento e direcionamento de monócitos ao local da inflamação. Com a ativação de macrófagos, há a liberação de fatores associados à resistência insulínica, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), indicando a relação entre adipocinas e o avanço no quadro de diabetes tipo 2 (Kershaw; Flier, 2004; Pinto, 2014).

1.2.1 Citocinas inflamatórias no diabetes tipo 2

O estado inflamatório está associado a diversos marcadores, como as citocinas inflamatórias. As citocinas são uma família de moléculas mensageiras que atuam como mediadores imunológicos, podendo ser pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias. A desregulação dessas citocinas desempenha um papel importante na patogênese do DT2 (Donath; Shoelson, 2011; Pirola; Ferraz, 2017). Dentre as citocinas pró-inflamatórias associadas à inflamação crônica observada no diabetes tipo 2, destacam-se a interleucina 1 β (IL-1 β), a interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL-8), interleucina 17A (IL-17A) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Além destas, há a expressão alterada de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10) e interleucina-22 (IL-22) (Francés *et al.*, 2013; Lontchi-Yimagou *et al.*, 2013).

A IL-1 β é uma citocina da superfamília IL-1 produzida por macrófagos das células beta (β). A manutenção de níveis elevados dessa citocina pode levar à indução de disfunção das células beta pancreáticas, prejudicando a secreção de insulina (Maedler; Donath, 2004). Além disso, nessas condições, a IL-1 β estimula o estresse oxidativo e ativa a liberação de outras citocinas pró-inflamatórias, exacerbando o quadro de inflamação (Arend; Palmer; Gabay, 2008).

A IL-6 é uma citocina multifuncional envolvida na fisiopatologia do diabetes tipo 2. É uma das principais citocinas pró-inflamatórias e atua em vários processos inflamatórios relacionados à migração, diferenciação, proliferação e apoptose celular. Esta citocina é

produzida principalmente por monócitos, células endoteliais, fibroblastos e células imunes, embora uma porcentagem expressiva (10 a 35%) seja produzida no tecido adiposo, indicando aumento na produção de IL-6 quando há maior a adiposidade visceral (Rehman *et al.*, 2017, Rodrigues *et al.*, 2017).

As vias de atuação da IL-6 estão relacionadas à inibição da sinalização insulínica por meio da expressão do supressor da sinalização da citocina 3 (SOCS-3), além de estar envolvida em processos que prejudicam a fosforilação dos receptores de insulina, o que interfere na função biológica dessa molécula (Rehman *et al.*, 2017). Estudos apontam que a IL-6 contribui para a inflamação em baixo grau e está associada com diversas doenças crônicas, como o diabetes tipo 2, visto que afeta o metabolismo da glicose e homeostase em diversos tecidos e órgãos (Akash; Rehman; Chen, 2013; Bastard, 2006; Rehman *et al.*, 2017). Em pessoas com DT2 estabelecida, observa-se níveis elevados de IL-6 (Kado *et al.*, 1999). Além disso, a maior expressão desse marcador é considerada um preditor dessa doença (Pradhan *et al.*, 2001; Spranger *et al.*, 2003).

A interleucina-8 (IL-8) é uma quimiocina que participa da imunidade sistêmica, ativação e infiltração de macrófagos no tecido adiposo, induzindo processos inflamatórios locais e sistêmicos. Têm-se investigado a ação dessa interleucina na patogênese do diabetes tipo 2, dada a sua influência na resistência insulínica. Ao analisarem uma amostra de pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2, Zozulińska *et al.* (1999) identificaram níveis mais elevados de IL-8 nos indivíduos com controle glicêmico inadequado. Tais observações foram semelhantes aos resultados do estudo de Cimini *et al.* (2017). Neste estudo, adultos com DT2 apresentaram taxas séricas de IL-8 significativamente mais altas quando comparados com saudáveis. Desse modo, altos níveis de IL-8 estiveram associados a um padrão inflamatório sistêmico desfavorável (Cimini *et al.*, 2017).

A IL-17A é uma citocina pró-inflamatória, membro prototípico da família IL-17. Sua principal função é a indução de quimiocinas que atraem células mieloides e outras citocinas para o tecido lesionado. Possui papel relevante no processo inflamatório de doenças inflamatórias e autoimunes (Gaffen *et al.*, 2014; Onishi; Gaffen, 2010). Estudos apontam uma elevada expressão dessa citocina em indivíduos com diabetes tipo 2, especialmente naqueles com complicações agudas, como a nefropatia diabética (Chen *et al.*, 2016; Yousefidaredor *et al.*, 2014; Parhi *et al.*, 2019).

O TNF- α é uma proteína pró-inflamatória produzida principalmente em adipócitos e tecidos periféricos, que desempenha papel essencial em eventos celulares, como apoptose, diferenciação celular e estresse oxidativo. Quando está em concentrações elevadas, o TNF- α é capaz de levar à resistência insulínica. Esse processo se dá por meio da redução da expressão

do transportador de glicose regulado pela insulina tipo 4 (GLUT4) e aumento da fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1) (Akash; Rehman; Liaqat, 2017). O IRS-1 fosforilado em serina inibe a atividade da tirosina quinase do receptor de insulina, prejudicando a sinalização (Peraldi; Spiegelman, 1998). Ainda, a superprodução do TNF- α no tecido adiposo demonstrou exacerbar a inflamação e levar a morte de células B das ilhotas pancreáticas, bem como induzir resistência insulínica em tecidos periféricos (Rosenvinge *et al.*, 2007).

A interleucina 4 (IL-4) é uma citocina secretada principalmente por células T auxiliares e mastócitos. Essa citocina atua como um mediador anti-inflamatório com potencial de inibir a produção e as atividades de importantes citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α (Nelms *et al.*, 1999; Paul, 1997). Pesquisas apontam que a IL-4 desempenha um papel protetor em ilhotas humanas (Marselli *et al.*, 2001; Kaminski; Kaminski; Morgan, 2007). Alguns dados sugerem a existência de um estado de resistência à ação da IL-4 no diabetes tipo 2 (O'Connor *et al.*, 2007). Mediante esse cenário, é possível que o aumento nos níveis séricos de IL-4 em indivíduos com DT2 possua um caráter adaptativo e compensatório (Binisor *et al.*, 2016; Westholm *et al.*, 2023).

A interleucina-10, por sua vez, é uma citocina anti-inflamatória que atua na regulação do sistema imunológico, diminuindo a expressão de citocinas pró-inflamatórias. É possível que altos níveis de IL-10 contrareglem os efeitos de citocinas como o IL-6 e TNF- α , proporcionando uma regulação positiva da atividade da tirosina quinase do receptor de insulina (Cruz *et al.*, 2003; Van Exel, 2002). Alguns estudos indicam que há menores níveis de IL-10 em indivíduos com diabetes tipo 2 quando comparados com indivíduos saudáveis (Rodrigues *et al.*, 2017; Yaghini *et al.*, 2011). Por outro lado, outros estudos relatam uma maior expressão de IL-10 em pacientes com DT2. Para os autores, essa observação pode indicar a atuação de mecanismos compensatórios que buscam contrabalancear um ambiente inflamatório a longo prazo (Al-Shukaili *et al.*, 2013; Okdahl *et al.*, 2022).

A interleucina-22 (IL-22) é uma citocina da família IL-10 com potencial de induzir tanto mediadores pró quanto anti-inflamatórios (Wolk; Sabat, 2006). Está relacionada com a defesa do hospedeiro e reparo tecidual, ativando a defesa inata e atuando na proteção e regeneração dos tecidos. Em indivíduos obesos e com resistência à insulina, houve maior acúmulo de células produtoras de IL-22 no tecido adiposo (Fabbrini *et al.*, 2013). Essa citocina demonstrou, em modelo animal, reverter distúrbios metabólicos como a hiperglicemia e resistência insulínica, bem como atuar na preservação das funções endócrinas e regulação do metabolismo lipídico (Wang *et al.*, 2014).

O Fator de Crescimento Transformador Alfa (TGF- α) pertence à família do Fator de Crescimento Epidérmico (EGF) e desempenha, principalmente, o papel de estimular e ativar células inflamatórias, induzindo simultaneamente a liberação de reguladores inflamatórios. Valores elevados de TGF- α demonstraram associação com avanços nos desfechos negativos neurológicos, oftálmicos e cetoacidose em pessoas com diabetes tipo 2, sugerindo a contribuição dessa molécula com as complicações em indivíduos acometidos pela doença (Liang *et al.*, 2024). Em pacientes com doença renal diabética, observou-se maior nível circulante de TGF- α no sangue, enquanto o bloqueio desse fator em modelo animal atenuou a nefropatia diabética (Heuer *et al.*, 2017).

Tabela 3 - Quadro resumo das características das citocinas

Citocina	Tipo	Fontes celulares	Principais funções biológicas
IL-1 β	Pró-inflamatório	Monócitos/macrófagos	Estimula a expressão de outras citocinas pró-inflamatórias.
IL-6	Pró-inflamatório	Monócitos, fibroblastos, células endoteliais, células imunes (B e T)	Indutor da resposta de fase aguda e respostas imunes celulares e humorais específicas.
IL-8	Pró-inflamatório	Monócitos, macrófagos, células endoteliais, epiteliais, condrócitos e hepatócitos	Recrutamento de leucócitos para o local da inflamação.
IL-17A	Pró-inflamatório	Células T CD4+ ativadas	Recrutamento de leucócitos para áreas infectadas, estímulo da secreção de quimiocinas, como a interleucina-8.
TNF- α	Pró-inflamatório	Macrófagos, monócitos, células NK, células imunes (B e T)	Recrutamento e ativação de neutrófilos e monócitos para o local da inflamação. Reabsorção óssea, necrose tumoral, aumento da permeabilidade.
IL-4	Anti-inflamatório	Células T (Th2), mastócitos, células imunes (B)	Diferenciação de linfócitos Th2; inibição da síntese de citocinas pró-inflamatórias.
IL-10	Anti-inflamatório	Monócitos, macrófagos, células T (Th2), células B	Inibição das respostas de linfócitos Th1; inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias.
IL-22	Anti-inflamatório	Células imunes	Síntese de fatores antimicrobianos, atuação no reparo tecidual e cicatrização.
TGF- α	Pró-inflamatório	Células parietais e células da superfície da mucosa gástrica	Estimular proliferação e diferenciação celular epitelial.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

1.3 Biomarcadores salivares

A saliva é um fluido oral secretado pelas glândulas salivares, composto por constituintes orgânicos e inorgânicos. Seus componentes incluem água (99%), enzimas, proteínas, metabólitos, eletrólitos, fatores de crescimento e imunoglobulina, entre outros (Yoshizawa *et al.*, 2013; Desai *et al.*, 2020). Possui múltiplas funções, como a lubrificação e limpeza da cavidade oral, proteção e digestão, além de possuir propriedades antimicrobianas (Pittman *et al.*, 2023). A saliva total é composta por uma mistura das secreções das glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) e menores, acrescidas do fluido crevicular gengival, transudato da mucosa oral e mucos faríngeos e nasais (Inoue *et al.*, 2008).

A eficácia da saliva como método alternativo na coleta de espécimes biológicos para diagnóstico ou monitoramento de várias condições sistêmicas tem sido avaliada. Tal aplicação se dá pela capacidade da saliva de atuar como um espelho do estado de saúde, visto que substâncias identificadas no plasma sanguíneo também podem ser identificadas na saliva (Cui *et al.*, 2022). Assim, o uso da saliva tem sido progressivamente estudado como um potencial indicador de risco, critério de diagnóstico diferencial e monitoramento do diabetes tipo 2 (Baker *et al.*, 2016).

O uso da saliva oferece diversas vantagens por ser uma ferramenta de baixo custo, fácil coleta e fácil armazenamento. Além disso, a adesão do paciente é notavelmente aumentada quando a saliva é empregada, visto que sua coleta representa desconforto mínimo, não interferindo nos níveis de estresse causados pela “ansiedade da agulha” (Khurshid *et al.*, 2016; Pittman *et al.*, 2023). Em contraste, os exames sanguíneos convencionalmente empregados no monitoramento do diabetes estão associados à dor, gerando ansiedade e desconforto (Dongiovanni *et al.*, 2023; Yoshizawa *et al.*, 2013).

Embora a análise salivar possua diversas vantagens, esta pode sofrer variabilidade em virtude de fatores individuais, dificultando sua padronização, interferência por produtos de higiene oral, contaminação da amostra e falta de padronização na análise (Dongiovanni *et al.*, 2023). Ainda, a expressão menos acentuada de marcadores em comparação com os níveis séricos pode dificultar seu uso como ferramenta associada ao diagnóstico, sendo investigada apenas como uma ferramenta de monitoramento do diabetes tipo 2 (Shettigar *et al.*, 2023).

Outros fatores que devem ser considerados na utilização da saliva incluem variações circadianas, método de coleta da saliva, fatores de estilo de vida e doenças associadas. O ciclo circadiano possui a capacidade de alterar o fluxo salivar. Durante o período diurno, há maior produção salivar, pois o sistema parassimpático está mais ativo, estimulando as glândulas salivares. A respeito da coleta de saliva, esta pode ser feita de maneira estimulada ou não

estimulada. Na coleta estimulada há maior contribuição das glândulas parótidas, enquanto a coleta não estimulada tem a representação da saliva total. O fluxo salivar é afetado durante a prática de exercícios físicos e estímulos adrenérgicos, diminuem a produção salivar. As glândulas salivares comprometidas por doenças ou efeito de drogas têm sua função afetada, diminuindo o fluxo salivar (Nunes; Mussavira; Bindhu, 2015).

Para a análise de biomarcadores, a coleta não estimulada pela técnica da baba passiva é o método mais recomendado, uma vez que é coletada a saliva total e a maioria dos analitos pode ser mensurada pelos métodos tradicionais de quantificação. É contraindicado o consumo de bebidas e alimentos ácidos próximos ao momento da coleta, pois podem alterar o pH da boca e o fluxo salivar. Além disso, não é indicado escovar os dentes horas antes da coleta, para evitar modificações na saliva. Algumas condições fisiológicas como mastigação e exercícios físicos podem alterar o fluxo e conteúdo da saliva (Chicharro *et al.*, 1998; Aps; Martens, 2005). Assim, os pacientes devem ser instruídos a não mascar ou praticar atividade física por algumas horas antes da coleta. Ainda, alguns autores recomendam a limpeza da boca com água destilada para eliminar resíduos. Dessa forma, levar em conta os fatores relacionados à coleta de saliva, bem como a padronização nos procedimentos de coleta e análise possibilita seu uso na detecção e mensuração de biomarcadores (Nunes; Mussavira; Bindhu, 2015).

Considerando que a saliva é um biofluido que reflete o estado de saúde sistêmico, há expressão de biomarcadores inflamatórios na saliva, como proteínas de fase aguda, mediadores de estresse oxidativo, enzimas pró-inflamatórias e quimiocinas e citocinas. Tais biomarcadores entram na saliva pela corrente sanguínea, dada a alta vascularização das glândulas salivares (Cenzato *et al.*, 2023; Dongiovanni *et al.*, 2023). A mensuração desses biomarcadores é de grande interesse no diagnóstico e monitoramento de doenças crônicas como o diabetes tipo 2, onde a inflamação crônica de baixo grau é presente (Dongiovanni *et al.*, 2023).

Em virtude da expressão desses biomarcadores, têm-se explorado o potencial da saliva para avaliar o perfil salivar inflamatório (Desai; Mathews, 2014). Apesar de a saliva apresentar baixos níveis de biomarcadores quando comparados com o sangue (Nunes; Mussavira; Bindhu, 2023), o avanço das técnicas analíticas modernas permite a quantificação de biomoléculas na saliva em níveis muito baixos de analito, na faixa de picogramas por mililitro (pg/mL) (Pfaffe *et al.*, 2011). Em sua composição, o proteoma salivar contém uma ampla gama de peptídeos e proteínas exclusivos, além de citocinas (Loo *et al.*, 2010).

As citocinas são biomarcadores úteis para avaliar a carga inflamatória do indivíduo. Algumas citocinas como IL-1 β , IL-6 e TNF- α são produzidas sistematicamente e localmente na boca (Desai; Mathews, 2014). Estas refletem condições orais e sistêmicas, visto que, em

alguns casos podem estar expressas na saliva em níveis semelhantes aos níveis séricos. Logo, é possível analisar condições fisiopatológicas através da saliva de maneira prática e não invasiva (Buzalaf *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2023; Srinivasan *et al.*, 2015).

Estudos prévios demonstraram a expressão de marcadores inflamatórios na saliva em indivíduos acometidos por diabetes. A concentração de IL-1 β no fluido crevicular gengival é elevada em pessoas com diabetes com controle glicêmico deficiente (Engebretson *et al.*, 2004). A expressão de IL-6 e TNF- α demonstram ser elevadas em pessoas com diabetes tipo 2 (Monea *et al.*, 2014). Nesse estudo, os indivíduos com DT2 e doença periodontal apresentam maiores concentrações séricas e salivares desses marcadores que aqueles indivíduos com apenas doença periodontal.

Um estudo de caso-controle com indivíduos saudáveis e com diabetes detectou maior expressão salivar de proteína C reativa, IL-6 e TNF- α nas pessoas acometidas pela doença, quando comparadas aos indivíduos saudáveis (Agho *et al.*, 2021). Na coleta e análise da saliva não estimulada de pacientes com diabetes tipo 2 e pessoas sem a doença, Shirzaiy *et al.* (2023) observaram maior expressão de IL-8 e HbA1c nesse fluido em comparação com o grupo composto por indivíduos saudáveis incluídos no estudo. Portanto, tais resultados demonstram o potencial desse método na identificação de marcadores inflamatórios tanto em indivíduos saudáveis quanto em pessoas acometidas por doenças sistêmicas como o diabetes tipo 2.

2 CAPÍTULO I

Formatado com base nas normas do periódico Revista Archives of Oral Biology

Assinatura de citocinas salivares correlacionada ao controle glicêmico em adultos com diabetes tipo 2

Salivary cytokine signature correlated with glycemic control in adults with type 2 diabetes

Jessilene Ribeiro Rocha, DDS¹, Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz, DDS, PhD¹

¹Dentistry Graduate Program, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil

Correspondence:

Jessilene Ribeiro Rocha, Dentistry Graduate Program, Federal University of Maranhão, Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, Maranhão, 65080-805, Brazil

E-mail: jessilene.rr@discente.ufma.br

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This research was supported by the Brazilian Coordination for Foundation to Support Research and Scientific and Technological Development of Maranhão (FAPEMA) [Finance Code 001].

ORCID

Jessilene Ribeiro Rocha, <https://orcid.org/0000-0002-5681-5722>

Maria Carmen Fontoura Nogueira da Cruz, <https://orcid.org/0000-0002-0825-8343>

Resumo

Objetivo: Identificar um perfil salivar de citocinas pró- e anti-inflamatórias associadas a marcadores do controle glicêmico em adultos com diabetes tipo 2.

Métodos: Um estudo transversal foi conduzido com 20 indivíduos com diabetes tipo 2 (Grupo diabetes) e 20 voluntários sem diabetes (Grupo Controle). Foram coletados dados sobre a caracterização demográfica, IMC e nível sérico de hemoglobina glicada (H1bAc) e glicemia de jejum (HGT). Amostras de saliva não estimulada foram coletadas para quantificação da concentração de IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α e TNF- α . Os testes Qui-quadrado, Mann-Whitney e correlação de Spearman foram utilizados na análise estatística.

Resultados: Observou-se que o grupo diabetes apresentou níveis salivares mais elevados de IL-6 (P = 0,003) e IL-10 (P = 0,021). A análise da correlação entre citocinas e marcadores do controle glicêmico revelou que houve correlações diretas moderadas de HGT com os níveis salivares de IL-1 β (rho = 0,505; P = 0,032), IL-6 (rho = 0,535; P = 0,022), IL-10 (rho = 0,525; P = 0,025), IL-22 (rho = 0,585; P = 0,011), TGF- α (rho = 0,632; P = 0,005) e TNF- α (rho = 0,624; P = 0,006). O HbA1c apresentou correlações apenas para as razões entre os marcadores salivares (IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10).

Conclusões: A identificação da assinatura de citocinas salivares sugere que desregulações nos níveis citocinas pró- e anti-inflamatórias podem estar relacionadas ao descontrole glicêmico em indivíduos com diabetes tipo 2. Além disso, o nível de citocinas parece responder de forma mais imediata às alterações aferidas pelo HGT, enquanto que o HbA1c parecer estar mais relacionado ao desequilíbrio entre as citocinas, podendo estar relacionado a uma resposta a longo prazo.

Palavras-chave: Citocinas. Saliva. Controle glicêmico. Diabetes tipo 2.

Abstract

Objective: To identify a salivary profile of pro- and anti-inflammatory cytokines associated with markers of glycemic control in adults with type 2 diabetes.

Methods: A cross-sectional study was conducted with 20 individuals with type 2 diabetes (Diabetes Group) and 20 volunteers without diabetes (Control Group). Data on demographic characteristics, BMI, and serum levels of glycated hemoglobin (H1bAc) and fasting glucose (HGT) were collected. Unstimulated salivary samples were collected to quantify the concentration of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-22, TGF- α , and TNF- α . The Chi-square, Mann-Whitney, and Spearman correlation tests were used in the statistical analysis.

Results: It was observed that the diabetes group had higher salivary levels of IL-6 ($P = 0.003$) and IL-10 ($P = 0.021$). The analysis of the correlation between cytokines and markers of glycemic control revealed that there were moderate direct correlations of HGT with salivary levels of IL-1 β ($\rho = 0.505$; $P = 0.032$), IL-6 ($\rho = 0.535$; $P = 0.022$), IL-10 ($\rho = 0.525$; $P = 0.025$), IL-22 ($\rho = 0.585$; $P = 0.011$), TGF- α ($\rho = 0.632$; $P = 0.005$) and TNF- α ($\rho = 0.624$; $P = 0.006$). HbA1c showed correlations only for the ratios between salivary markers (IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10). **Conclusions:** The identification of the salivary cytokine signature suggests that dysregulations in the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines may be related to the lack of glycemic control in individuals with type 2 diabetes. Furthermore, cytokine levels appear to respond more immediately to changes measured by HGT, while HbA1c appears to be more related to imbalance between cytokines, which may be related to a long-term response.

Keywords: Cytokines. Saliva. Glycemic control. Type 2 diabetes.

Introdução

O diabetes tipo 2 (DT2) é uma doença metabólica crônica com alta prevalência global (Cho *et al.*, 2018). Segundo as estimativas do Estudo *Global Burden of Disease* (GBD) 2021, essa condição é a décima principal causa de morte e incapacidade no mundo, representando um problema substancial de saúde pública (GBD, 2024). Caracteriza-se por uma deficiência na secreção de insulina pelas células β pancreáticas e resistência à ação desse hormônio, ocasionando um quadro hiperglicêmico persistente (Rodacki *et al.*, 2023). Há uma relação direta entre a hiperglicemia crônica e complicações microvasculares e macrovasculares, como retinopatia, neuropatia, nefropatia e doenças cardiovasculares (Fowler *et al.*, 2008). Portanto, o controle dos níveis glicêmicos é essencial para prevenir essas complicações, reduzindo a morbidade e mortalidade associadas ao DT2 (Holman *et al.*, 2008).

O monitoramento do DT2 é feito pela avaliação de parâmetros sorológicos, como a glicemia de jejum e a hemoglobina glicada (ADA, 2024). Apesar de serem amplamente utilizados, esses métodos envolvem técnicas invasivas, frequentemente associadas à dor e desconforto. Diante disso, há um crescente interesse na utilização da saliva como ferramenta de monitoramento dos níveis glicêmicos nesse grupo de indivíduos, pois trata-se de um método não invasivo, de bom custo-benefício e fácil coleta e armazenamento (Srinivasan *et al.*, 2015).

A saliva é um biofluido capaz de refletir o estado de saúde do organismo por meio da expressão de biomarcadores (Desai; Matthews, 2014; Yoshizawa *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2009). Para avaliar o grau da inflamação subclínica, diversos biomarcadores inflamatórios têm sido propostos, incluindo as citocinas inflamatórias. Sua presença no fluido salivar possivelmente deriva do soro, por meio da vascularização das glândulas salivares, além de células epiteliais e inflamatórias presentes no espaço crevicular. Uma vez que seus níveis refletem o estado inflamatório sistêmico de um indivíduo, sua análise pode ser empregada como um mecanismo de monitoramento de doenças inflamatórias (Buzalaf *et al.*, 2020; Desai *et al.*, 2020).

Estudos têm destacado o papel da inflamação de baixo grau na fisiopatologia do diabetes tipo 2 (Abrahamian *et al.*, 2007; Randeria *et al.*, 2019; Spranger *et al.*, 2003). Essa relação se dá pela indução do desenvolvimento da resistência à insulina através de mediadores de estresse oxidativo e mediadores pró-inflamatórios, como as citocinas. As citocinas pró-inflamatórias possuem relação com a resistência insulínica e manutenção do processo inflamatório subclínico (Baker *et al.*, 2016, Dongiovanni *et al.*, 2023, Yoshizawa *et al.*, 2013). Ademais, há uma expressão alterada de citocinas anti-inflamatórias no DT2 (Francés *et al.*, 2013; Lontchi-Yimagou *et al.*, 2013).

Levando em consideração que há expressão de citocinas na saliva de indivíduos com DT2 (Davidovich; Mozer; Polak, 2021), é válido analisar os níveis desses biomarcadores e sua relação com marcadores do controle glicêmico. Embora diversos estudos tenham explorado possíveis biomarcadores salivares para o diabetes, poucos se dedicaram a investigar o perfil salivar de citocinas associadas a marcadores do controle glicêmico. Um estudo anterior investigou a presença de biomarcadores inflamatórios na saliva em pessoas com DT2 (Agho *et al.*, 2021). No entanto, estes autores não avaliaram a interação entre os níveis salivares de citocinas pró- e anti-inflamatórias, nem sua repercussão sobre o nível da glicemia. Visto que a inflamação é um processo complexo, há alterações na expressão de fatores tanto pró- quanto anti-inflamatórios.

A hipótese levantada é que o estado glicêmico pode afetar o equilíbrio dos marcadores inflamatórios da saliva deste grupo de pacientes. Portanto, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de identificar citocinas pró- e anti-inflamatórias na saliva relacionadas a marcadores do controle glicêmico em adultos com DT2. Estes achados podem contribuir para a identificação de um perfil inflamatório na saliva associado com DT2. A análise da expressão dos citocinas inflamatórias na saliva de indivíduos com DT2 é um avanço na potencial utilização da saliva para a verificação do estado glicêmico através de um método prático e não invasivo.

Metodologia

Desenho do estudo

Um estudo transversal foi conduzido com dois grupos: 20 indivíduos com diabetes tipo 2 (Grupo Diabetes) e 20 controles sem diabetes (Grupo Controle). Inicialmente, o projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (número do parecer: 5.565.555, CAAE: 60673322.0.0000.5086) (ANEXO A).

Todos os participantes foram informados sobre os objetivos e procedimentos envolvidos no estudo, e após seu completo entendimento, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B). Adicionalmente, todos os participantes receberam orientações sobre prevenção, procedimentos de higiene bucal e tratamento de doenças bucais, além de encaminhados, quando necessário, para tratamento odontológico nas Clínicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Maranhão.

Crítérios de elegibilidade

O grupo diabetes foi constituído de voluntários, de ambos os sexos, com idade igual ou maior que 18 anos, com diagnóstico médico confirmado de diabetes tipo 2 a pelo menos 1 ano, que estivessem em acompanhamento clínico no Centro de Referência em Endocrinologia e Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão. O grupo controle foi constituído por voluntários sem diabetes tipo 2, atendidos nas clínicas odontológicas da Universidade Federal do Maranhão.

Foram excluídos de ambos os grupos, pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva, inconscientes, com hipotireoidismo, Parkinson, Alzheimer, que realizaram ou realizavam radioterapia/quimioterapia, com diagnóstico recente de câncer, doença do enxerto contra o hospedeiro, grávidas ou mulheres em período de amamentação, indivíduos com presença de nódulos ou presença de sinais de afecções infecciosas e/ou inflamatória de glândulas salivares. Para minimizar os vieses da pesquisa o grupo controle foi pareado com o grupo diabetes, levando em consideração a idade (4 anos para mais ou para menos).

Coleta de dados de caracterização geral

Uma entrevista foi conduzida com perguntas realizadas de forma verbal guiadas por um questionário semiestruturado, contendo questões para caracterização sociodemográfica do participante (idade, sexo, escolaridade e renda familiar mensal). As medidas corporais de peso e altura foram mensuradas para o cálculo do índice de massa corporal (IMC) em kg/m². Para o grupo diabetes, o tempo de diagnóstico do diabetes foi coletado do prontuário eletrônico da unidade hospitalar. Ainda, para esse grupo, a coleta sanguínea foi realizada pela equipe médica hospitalar para a análise dos parâmetros bioquímicos hemoglobina glicada (HbA1c) e hemoglicose (HGT) em até ± 48 horas do momento de coleta das amostras salivares.

Coleta de saliva

A coleta da saliva foi realizada no período matutino entre 8 e 9 horas da manhã. O participante foi orientado a não ingerir alimentos sólidos no intervalo inferior a 2 horas antes da coleta. Após o enxágue da cavidade oral com água, a saliva não estimulada foi coletada por meio da técnica de drenagem passiva (Padilla *et al.*, 2020). As amostras foram obtidas com o paciente sentado, com a cabeça levemente abaixada e os lábios entreabertos, permitindo o escoamento da saliva para um tubo de polipropileno seco graduado (tipo Falcon de 50mL) durante 3 minutos cronometrados. Após a coleta, as amostras foram congeladas e armazenadas a -40°C até a quantificação dos marcadores.

Nível salivar de citocinas

As análises dos níveis salivares (em pg/ml) de interleucina (IL)-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-22, fator de crescimento transformador (TGF)- α e fator de necrose tumoral (TNF)- α (em pg/ml) foram processadas em duplicata pela metodologia multiplex nas amostras. A metodologia multiplex é baseada em um teste de imunoensaio que utiliza a citometria de fluxo, na qual anticorpos de captura específicos para cada analito estão ligados a microesferas que são codificadas por cores. Um painel personalizado MILLIPLEX[®] Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Magnetic Based Panel (HCYTA-60K-08, Merck, Darmstadt, Alemanha), foi utilizado para a quantificação simultânea das nove moléculas. Os ensaios foram conduzidos de acordo com as instruções do fabricante.

Análise estatística

Os dados foram analisados usando os softwares R versão 4.4.2 (R-CoreTeam, 2022) e o GraphPad Prism versão 10 (GraphPad Software, San Diego, EUA). As estatísticas descritivas foram calculadas usando medidas de frequência absoluta, relativa, média, mediana, amplitude interquartílica (AIQ) e desvio padrão ($\pm$ SD). O teste do qui-quadrado foi usado para comparar as frequências das variáveis categóricas entre os grupos. A normalidade da distribuição da amostra foi avaliada com o teste Shapiro-Wilk. Após este processamento, o teste Mann-Whitney foi utilizado para comparar o nível salivar das citocinas entre os grupos. O coeficiente de correlação de Spearman (ρ) foi estimado para analisar a correlação entre as medidas. O nível de significância adotado para todas as análises foi de 5% ($P < 0,05$).

Resultados

Caracterização dos grupos

Um total de 40 adultos foram incluídos no presente estudo, sendo 20 com diabetes tipo 2 e 20 controles sem a doença. O grupo diabetes foi formado por 8 mulheres e 12 homens, com média de idade de $57,6 \pm 6,8$ anos, enquanto que o grupo controle foi formado por 10 mulheres e 10 homens, com média de idade de $51,6 \pm 12,7$ anos. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para as variáveis sociodemográficas ($P > 0,05$).

Tabela 1

Caracterização geral dos grupos de estudo

Variáveis	Grupo		Grupo		P
	Diabetes tipo 2		Controle		
Sexo [n (%)]					0,525
Feminino	8	(40,0)	10	(50,0)	
Masculino	12	(60,0)	10	(50,0)	
Idade [média ±dp]	57,6	±6,8	51,6	±12,7	0,088
Escolaridade [n (%)]					0,327
Até 8 anos de estudo	9	(45,0)	6	(30,0)	
Mais que 8 anos de estudo	11	(55,0)	14	(70,0)	
Renda familiar mensal [média ±dp]	3.401	±2,466	2,769	±1,979	0,436
Hipertensão arterial [n (%)]					0,507
Não	12	(60,0)	14	(70,0)	
Sim	8	(40,0)	6	(30,0)	
IMC [média ±dp]	26,9	±6,5	28,0	±4,7	0,357

$\pm$ dp = desvio-padrão. IMC = índice de massa corporal. Renda familiar em R\$ (moeda corrente brasileira).

Assinatura salivar de citocinas no diabetes tipo 2

A Figura 1 e Tabela 2 apresentam a análise comparativa univariada dos níveis salivares das citocinas entre os grupos diabetes e controle. Os resultados mostraram que o grupo diabetes apresentou níveis estatisticamente mais elevados de IL-6 ($P = 0,003$) e IL-10 ($P = 0,021$) quando comparado aos controles.

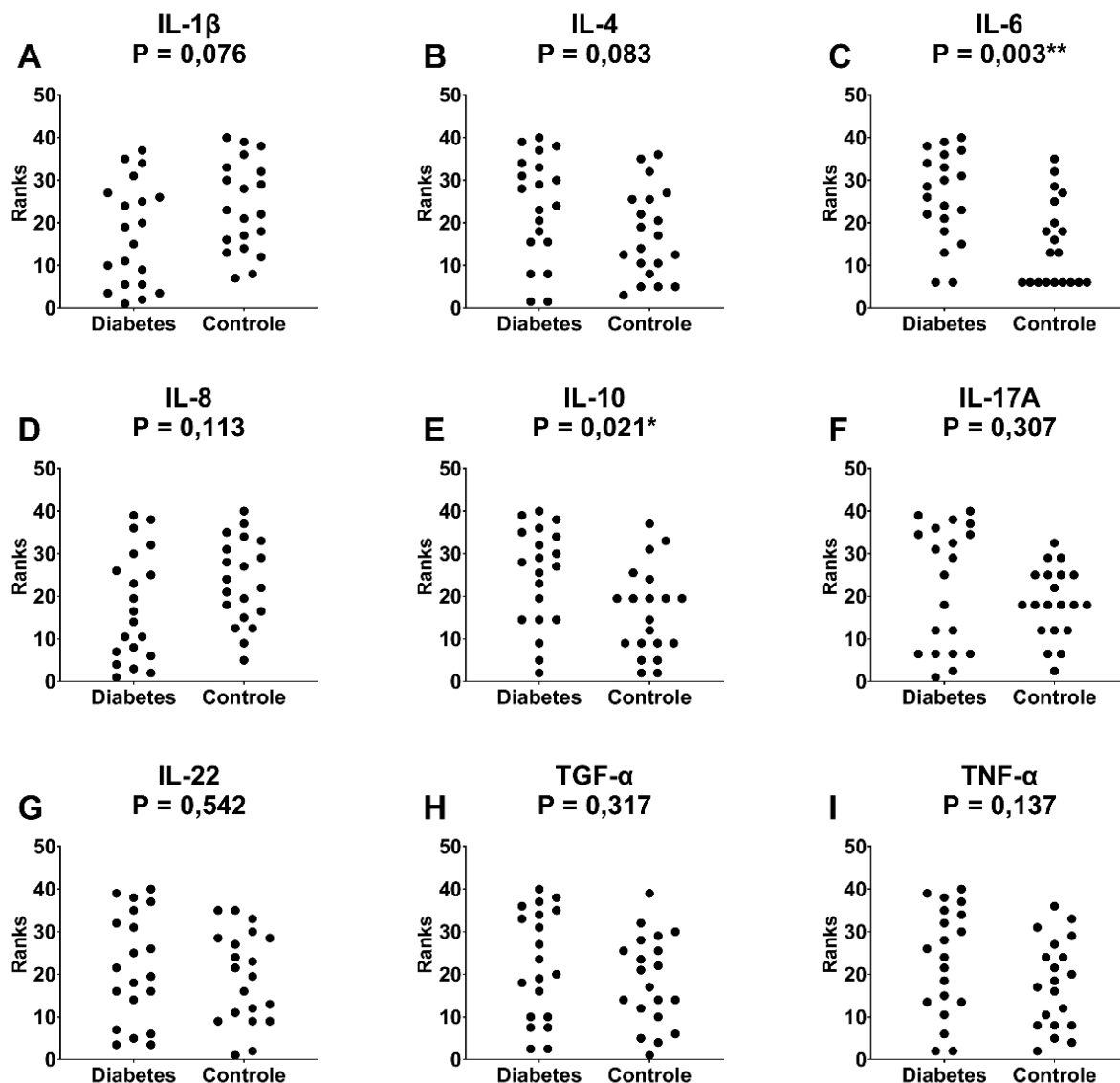


Figura 1. Gráficos de ordem (*Rank plots*) da análise comparativa dos níveis salivares de IL-1 β (A), IL-4 (B), IL-6 (C), IL-8 (D), IL-10 (E), IL-17A (F), IL-22 (G), TGF- α (H) e TNF- α (I) entre os grupos diabetes tipo 2 e controle. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$

Tabela 2

Mediana e amplitude interquartílica (AIQ) dos níveis dos marcadores salivares nos grupos diabetes tipo 2 e controle.

Marcadores salivares	Grupo		Grupo		Efeito	P
	Diabetes tipo 2		Controle			
	med	AIQ	med	AIQ		
IL-1β	30	126	60,7	282	0,330	0,076
IL-4	7,21	15,5	3,63	4,87	0,322	0,083
IL-6	7,22	5,39	0,02	4,79	0,552	0,003**
IL-8	242	334	323	470	0,295	0,113
IL-10	5,47	19,3	0,92	0,44	0,427	0,021*
IL-17A	0,25	3,37	0,11	0,13	0,190	0,307
IL-22	131	131	131	122	0,115	0,542
TGF-α	12,9	29,6	11,7	12,5	0,187	0,317
TNF-α	70,3	101	55,1	52,1	0,277	0,137

med = mediana. AIQ = amplitude interquartílica. IL = interleucina. TGF- α = fator de crescimento transformador alfa. TNF- α = fator de necrose tumoral alfa. Dimensão do efeito estimada através da correlação biserial de ordens. *P <0,05. **P <0,01.

A análise de correlação entre as citocinas está sintetizada na Figura 2 e Tabela 3. Destaca-se que as três correlações diretas mais fortes identificadas foram entre TNF- α e TGF- α (Rho = 0,891; P <0,001), IL-6 e TGF- α (Rho = 0,873; P <0,001), e IL-6 e IL-10 (Rho = 0,871; P <0,001). Além disso, observou-se que IL-6, IL-10 e TNF- α apresentaram correlações diretas com todas as outras citocinas, com exceção de IL-8.

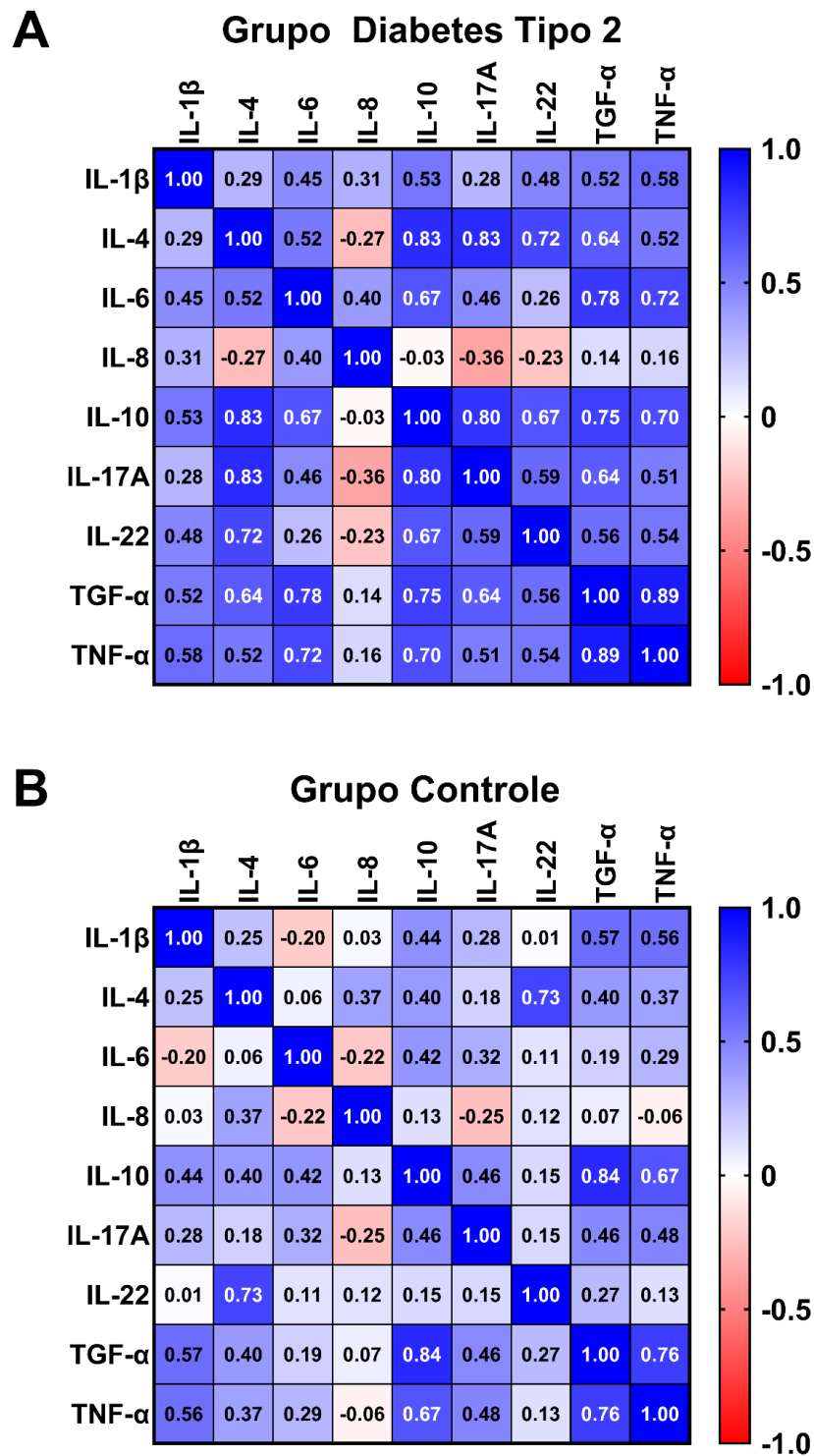


Figura 2. Mapa de calor (*Heat map*) dos coeficientes de correlação de Spearman entre nos níveis dos marcadores salivares no grupo diabetes tipo 2 (A) e no grupo controle (B).

Tabela 3

Matriz de correlação de Spearman do nível salivar das citocinas no grupo diabetes tipo 2.

	IL-1 β	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-17A	IL-22	TGF- α
	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho	Rho
	P	P	P	P	P	P	P	P
IL-4	0,288	—						
	0,219	—						
IL-6	0,487	0,764	—					
	0,029	< 0,001	—					
IL-8	0,309	-0,265	0,038	—				
	0,184	0,259	0,872	—				
IL-10	0,534	0,828	0,871	-0,030	—			
	0,015	< 0,001	< 0,001	0,900	—			
IL-17A	0,283	0,831	0,739	-0,36	0,797	—		
	0,227	< 0,001	< 0,001	0,119	< 0,001	—		
IL-22	0,476	0,724	0,540	-0,228	0,669	0,585	—	
	0,034	< 0,001	0,014	0,333	< 0,001	0,007	—	
TGF- α	0,519	0,644	0,873	0,136	0,752	0,642	0,564	—
	0,019	0,002	< 0,001	0,569	< 0,001	0,002	0,01	—
TNF- α	0,579	0,523	0,804	0,163	0,696	0,508	0,536	0,891
	0,007	0,018	< 0,001	0,491	< 0,001	0,022	0,015	< 0,001

Rho = coeficiente de correlação de Spearman.

A Tabela 4 evidencia que as citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-22, TGF- α , TNF- α apresentaram correlações diretas moderadas com o nível de HGT. O nível HbA1c não apresentou correlações estatisticamente significantes com as citocinas salivares avaliadas.

Tabela 4

Correlação entre o nível salivar das citocinas e o nível sérico de HbA1c e HGT.

Citocinas	HbA1c	HGT
	Rho	Rho
	P	P
IL-1 β	-0,090	0,505
	0,732	0,032*
IL-4	-0,454	0,415
	0,067	0,087
IL-6	-0,387	0,535
	0,125	0,022*
IL-8	0,253	0,271
	0,327	0,277
IL-10	-0,195	0,525
	0,453	0,025*
IL-17A	-0,247	0,285
	0,338	0,252
IL-22	-0,141	0,585
	0,589	0,011*
TGF- α	-0,167	0,632
	0,522	0,005**
TNF- α	-0,21	0,624
	0,418	0,006**

Rho = coeficiente de correlação de Spearman. *P

<0,05. **P <0,01.

Razão entre citocinas pró/anti-inflamatórias

A análise comparativa das razões entre IL-1 β /IL-4 (P = 0.008), IL-1 β /IL-10 (P <0.001), IL-8/IL-10 (P = 0.004), IL-22/IL-10 (P = 0.032), TGF- α /IL-10 (P = 0.005) e TNF- α /IL-10 (P = 0.011) mostraram que adultos com diabetes tipo 2 apresentam níveis mais altos de citocinas anti-inflamatórias que os controles, visto que o denominador contribuiu para o valor da mediana.

Tabela 5

Análise comparativa das razões (*ratio*) entre as citocinas pró/anti-inflamatórias entre os grupos diabetes tipo 2 e controle.

pró/anti	Grupo Diabetes tipo 2		Grupo Controle		Efeito	P
	med	AIQ	med	AIQ		
IL-1 β /IL-4	4.16	9.96	12.8	29.5	0.495	0.008**
IL-6/IL-4	0.625	0.919	1.17	2.56	0.15	0.425
IL-8/IL-4	35.5	216	121	174	0.33	0.076
IL-17A/IL-4	0.0835	0.413	0.024	0.0341	0.205	0.273
IL-22/IL-4	17.9	23	29.2	40.4	0.265	0.156
TGF- α /IL-4	2.16	4.04	2.19	3.4	0.005	0.989
TNF- α /IL-4	8.16	16.2	9.39	16.2	0.065	0.735
IL-1 β /IL-10	3	11.5	46.5	133	0.705	<0.001***
IL-6/IL-10	0.665	1.18	2.1	8.12	0.305	0.102
IL-8/IL-10	52.2	199	487	430	0.535	0.004**
IL-17A/IL-10	0.0882	0.625	0.109	0.131	0.0725	0.705
IL-22/IL-10	27.2	107	140	146	0.4	0.032*
TGF- α /IL-10	2.7	3.2	7.78	8.63	0.5175	0.005**
TNF- α /IL-10	6.63	17.2	38.7	53.8	0.47	0.011*

med = mediana. AIQ = amplitude interquartilica. *P <0,05. **P <0,01. ***P <0,001.

A Tabela 6 mostra a análise de correlação entre as interação das citocinas e os marcadores glicêmicos. Os resultados mostraram correlação diretas moderadas entre HbA1c e as razões IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10. Estes achados podem indicam um possível efeito longitudinal do controle glicêmico sobre o desequilíbrio entre as citocinas.

Tabela 6

Correlação entre as razões entre as citocinas e o nível sérico de HbA1c e HGT.

Razões pró/anti	HbA1c	HGT
	Rho P	Rho P
IL-1 β /IL-4	0,475 0,054	0,163 0,518
IL-6/IL-4	-0,188 0,470	0,407 0,094
IL-8/IL-4	0,455 0,066	-0,145 0,567
IL-17A/IL-4	-0,083 0,750	0,035 0,890
IL-22/IL-4	0,605 0,010*	0,165 0,512
TGF- α /IL-4	0,199 0,444	0,244 0,330
TNF- α /IL-4	0,492 0,045*	0,136 0,590
IL-1 β /IL-10	0,318 0,214	0,107 0,671
IL-6/IL-10	-0,511 0,036*	-0,083 0,744
IL-8/IL-10	0,317 0,215	-0,068 0,788
IL-17A/IL-10	-0,262 0,311	-0,021 0,935
IL-22/IL-10	0,070 0,790	-0,417 0,085
TGF- α /IL-10	-0,195 0,453	-0,126 0,618
TNF- α /IL-10	0,118 0,652	-0,192 0,445

Rho = coeficiente de correlação de Spearman. *P <0,05.

**P <0,01.

Discussão

Os principais achados deste estudo sugerem que o diabetes tipo 2 pode estar relacionado ao incremento do nível salivar de IL-6 e IL-10. Ainda, o nível glicêmico mensurado através de HGT parece estar correlacionado à desregulação individual das citocinas, enquanto o efeito longitudinal do controle glicêmico demonstrou afetar a interação entre as citocinas. Estas alterações salivares identificadas sugerem que a mudança no perfil glicêmico em adultos com diabetes tipo 2 pode modificar a assinatura salivar de citocinas inflamatórias.

Esse estudo detectou alterações nos níveis de marcadores inflamatórios salivares em pacientes com diabetes tipo 2, demonstrando resultados convergentes com achados da literatura. Rao *et al.* (2009), ao analisarem a saliva de pacientes diabéticos, saudáveis e pré-diabéticos, encontraram expressão diferenciada de biomarcadores entre os grupos, havendo maiores níveis de moléculas relacionadas à inflamação e processos imunes na saliva dos pacientes diabéticos. Além disso, Srinivasan *et al.* (2015) constataram que mais de 60% das proteínas séricas associadas ao diabetes tipo 2 foram detectadas e quantificadas na saliva. A estreita relação entre níveis séricos e salivares de marcadores inflamatórios pode ser explicada pelo transporte de moléculas e proteínas do sangue ao fluido salivar, seja por difusão passiva ou transporte ativo, ocorrendo uma troca entre esses fluidos (Dongiovanni *et al.*, 2023).

Estudos prévios evidenciaram que há maior expressão de marcadores inflamatórios em indivíduos acometidos por diabetes tipo 2. De acordo com Marques-Vidal *et al.* (2012), houve forte correlação entre níveis não ideais de marcadores inflamatórios e citocinas pró-inflamatórias e diabetes. Em indivíduos obesos e com resistência insulínica, houve maior concentração plasmática de IL-6 (Vozarova *et al.*, 2002). De maneira similar, Agho *et al.* (2021) identificaram maiores níveis salivares de IL-6, TNF- α e PCR em pacientes com diabetes em comparação com o grupo controle. Em relação aos níveis salivares de marcadores inflamatórios em pacientes diabéticos, Shirzaiy *et al.* (2023) constataram maior expressão de IL-8, embora esta não demonstrou correlação com o controle glicêmico e níveis salivares das demais citocinas avaliadas.

Os níveis mais elevados de IL-6 em indivíduos com diabetes do que em controles saudáveis apoiam a hipótese de que a patogênese do diabetes tipo 2 envolve uma inflamação crônica subclínica (Badawi *et al.*, 2010). Esse achado vai de acordo com Monea *et al.* (2016) e Agho *et al.* (2021), que identificaram níveis salivares significativamente maiores de IL-6 em indivíduos com diabetes tipo 2. A regulação defeituosa da IL-6 pode exacerbar reações imunológicas inflamatórias, contribuindo para quadros constantes de inflamação de baixo grau

e consequente expressão acentuada de fatores inflamatórios (Alexandraki *et al.*, 2006; Lontchi-Yimigou, 2013).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que desempenha um papel importante na regulação da resposta imune e inflamatória (Halimi *et al.*, 2022). O estudo de Blüher *et al.* (2005) evidenciou menores níveis séricos de IL-10 em pacientes com tolerância à glicose prejudicada ou diabetes tipo 2. Contrariamente, Al-Shukaili *et al.* (2013), encontraram maiores níveis de IL-10 em pacientes com diabetes quando comparados a indivíduos saudáveis. Logo, considerando as contradições na literatura, é necessário investigar se a maior expressão de IL-10 possui efeito protetor contra o diabetes tipo 2 ao atuar na redução de citocinas pró-inflamatórias ou se os níveis aumentados de IL-10 no diabetes tipo 2 decorrem de uma resposta contra a elevação de mediadores pró-inflamatórios (Rodrigues *et al.*, 2017). Esses resultados conflitantes podem ser explicados pela flutuação dos níveis de IL-10 dependendo do tempo com a doença. Teoriza-se que a expressão de IL-10 varia de acordo com o estado glicêmico, inicialmente expressando níveis baixos e eventualmente em níveis maiores (Haber *et al.*, 2023).

Nossos achados indicaram maior expressão salivar de IL-10 em pessoas com DT2. Um ambiente hiperglicêmico a longo prazo parece interferir na sinalização dessa citocina, afetando sua responsividade (Barry *et al.*, 2016). Dessa forma, é possível que a maior produção de IL-10 pelo organismo possua um caráter compensatório quando a condição hiperglicêmica persiste. Tendo em vista que foram incluídos apenas pacientes com pelo menos 1 ano de diagnóstico da doença, é possível que a superexpressão dessa citocina seja decorrente do tempo com a doença.

A correlação entre HbA1c e as razões IL-22/IL-4, TNF- α /IL-4 e IL-6/IL-10 evidenciada nesse estudo sugere um efeito longitudinal do controle glicêmico no desequilíbrio entre as citocinas. Agho *et al.* (2021) observaram correlação positiva entre IL-6, TNF- α e HbA1c em pacientes com diabetes tipo 2. A ação das citocinas e mediadores inflamatórios nos níveis glicêmicos foi relatada por Alexandraki *et al.* (2006), cuja pesquisa relatou a ação de adipocinas, quimiocinas e citocinas na modulação de processos inflamatórios crônicos. Com isso, a sinalização de insulina é prejudicada, além do envolvimento dessas moléculas em processos de apoptose de células β pancreáticas e reações de estresse oxidativo.

O presente estudo encontrou correlações fortes e diretas entre TNF- α e TGF- α , IL-6 e TGF- α , IL-6 e IL-10, além de correlação direta entre IL-6, IL-10 e TNF- α com as outras citocinas estudadas. Altos níveis de TNF- α e TGF- α foram observados em um estudo sobre progressão de diabetes tipo 2 e nefropatia diabética (Heuer *et al.*, 2017). Cruz *et al.* (2012) demonstraram a expressão de TNF- α e a IL-6 associada a mecanismos de resistência insulínica,

interferindo na sinalização da molécula e contribuindo para a manutenção de ambiente hiperglicêmico. Rehman *et al.* (2017) constataram que os mediadores pró-inflamatórios, especialmente a IL-6, TNF- α e outros mediadores dependentes de IL-1 atuam na indução de estresse oxidativo. Tal mecanismo pode levar a um funcionamento defeituoso e posterior falha das ilhotas pancreáticas, prejudicando a ação e sinalização insulínicas, o que pode explicar a correlação entre os marcadores inflamatórios e seu efeito nos níveis glicêmicos e resistência insulínica.

O TNF- α e TGF- α apresentaram as correlações diretamente proporcionais mais fortes com os níveis de glicemia de jejum. O TNF- α é um dos principais mediadores pró-inflamatórios e está expresso em níveis elevados em pacientes com diabetes tipo 2. Um estudo encontrou associação positiva entre níveis de TNF- α e níveis glicêmicos em pacientes com DT2 (Alzamil, 2020). De maneira similar, Chen *et al.* (2017) observaram maior expressão desse fator em pacientes com DT2 e nefropatia diabética, demonstrando associação com a carga inflamatória nesses indivíduos. Sua correlação com os níveis séricos de glicemia pode ser explicada por sua ação no transportador de glicose GLUT-4, reduzindo a expressão dessa molécula. Além disso, pode atuar na inibição dos receptores periféricos de insulina, visto que induz a fosforilação da serina do substrato-1 do receptor de insulina, levando à resistência insulínica (Akash, Rehman, Liaqat, 2018).

TGF- α é um polipeptídeo mitogênico que atua em processo de angiogênese e é estruturalmente relacionado ao fator de crescimento epidérmico. Uma possível explicação para a alta expressão desse marcador na saliva de indivíduos com diabetes é que as ações combinadas de citocinas num ambiente inflamatório crônico elevam os níveis séricos de TGF- α . Considerando o constante quadro de inflamação crônica ocorrida no DT2 e a capacidade da saliva de refletir condições sistêmicas, sugere-se que essa via de ação permitiu a expressão e detecção na saliva dos indivíduos estudados. Contudo, por não se tratar de uma relação clara, dada a escassez de estudos sobre essa associação, são necessárias mais pesquisas.

Este estudo tem algumas limitações que devem ser consideradas ao interpretar os achados. A amostra de estudo foi pequena, o que pode interferir na validade dos resultados. Apesar disso, foi possível identificar diferenças significativas entre os grupos. Outra limitação refere-se à ausência de dados bucais. Considerando que doenças bucais, como a doença periodontal, podem atuar como confundidores, sugere-se realizar futuras pesquisas incluindo a coleta de dados bucais para ajustar a análise considerando essas variáveis.

Entretanto, a pesquisa possui pontos fortes. Foram quantificadas várias citocinas inflamatórias, possibilitando traçar um perfil inflamatório salivar de pessoas com DT2. A

análise de marcadores inflamatórios na saliva permite uma coleta facilitada e indolor, sendo um método confortável, estimulando maior colaboração do paciente. Além disso, a expressão de marcadores salivares permite monitorar e investigar associações entre determinados biomarcadores e condições sistêmicas, servindo como uma ferramenta viável para auxiliar no controle e predição de doenças. Assim, os testes clínicos baseados em saliva podem fornecer uma ferramenta de diagnóstico potencial para a detecção de doenças e condições usando biomarcadores associados à inflamação sistêmica aumentada. Pesquisas adicionais nesta área são necessárias para fortalecer esta avaliação e validar esse método.

Conclusão

Os achados desse estudo sugerem que há uma associação entre os níveis de citocinas inflamatórias salivares e o controle glicêmico aferido pelo HGT em adultos com diabetes tipo 2. Assim, a análise de citocinas inflamatórias demonstra potencial como ferramenta de monitoramento não invasiva para avaliar o estado glicêmico de pessoas com diabetes. O resultado pode contribuir para o conhecimento sobre o desenvolvimento de protocolo padronizado que usa a saliva como uma ferramenta de diagnóstico para monitoramento e gerenciamento do DT2.

Referências

- Abrahamian, H., Endler, G., Exner, M., Mauler, H., Raith, M., Endler, L., ... & Wagner, O. F. (2007). Association of low-grade inflammation with nephropathy in type 2 diabetic patients: role of elevated CRP-levels and 2 different gene-polymorphisms of proinflammatory cytokines. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, 115(01), 38-41.
- American Diabetes Association. ADA. (2024). Professional Practice Committee. 6. Glycemic goals and hypoglycemia: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes care*, 47, Supplement_1, S111-S125.
- Agho, E. T., Owotade, F. J., Kolawole, B. A., Oyetola, E. O., & Adedeji, T. A. (2021). Salivary inflammatory biomarkers and glycated haemoglobin among patients with type 2 diabetic mellitus. *BMC Oral Health*, 21, 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01453-y>
- Alexandraki, K., Piperi, C., Kalofoutis, C., Singh, J., Alaveras, A., & Kalofoutis, A. (2006). Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1084, 89–117. <https://doi.org/10.1196/annals.1372.039>
- Al-Shukaili, A., Al-Ghafri, S., Al-Marhoobi, S., Al-Abri, S., Al-Lawati, J., & Al-Maskari, M. (2013). Analysis of inflammatory mediators in type 2 diabetes patients. *International journal of endocrinology*, 2013, 976810. <https://doi.org/10.1155/2013/976810>

- Alzamil H. (2020). Elevated Serum TNF- α Is Related to Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus and Is Associated with Glycemic Control and Insulin Resistance. *Journal of obesity*, 2020, 5076858. <https://doi.org/10.1155/2020/5076858>
- Badawi, A., Klip, A., Haddad, P., Cole, D. E., Bailo, B. G., El-Sohemy, A., & Karmali, M. (2010). Type 2 diabetes mellitus and inflammation: Prospects for biomarkers of risk and nutritional intervention. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 173-186.
- Baker, M. J., Hussain, S. R., Lovergne, L., Untereiner, V., Hughes, C., Lukaszewski, R. A., ... & Sockalingum, G. D. (2016). Developing and understanding biofluid vibrational spectroscopy: a critical review. *Chemical Society Reviews*, 45(7), 1803-1818.
- Barry, J. C., Shakibakho, S., Durrer, C., Simtchouk, S., Jawanda, K. K., Cheung, S. T., ... & Little, J. P. (2016). Hyporesponsiveness to the anti-inflammatory action of interleukin-10 in type 2 diabetes. *Scientific reports*, 6(1), 21244.
- Blüher, M., Fasshauer, M., Tönjes, A., Kratzsch, J., Schön, M. R., & Paschke, R. (2005). Association of interleukin-6, C-reactive protein, interleukin-10 and adiponectin plasma concentrations with measures of obesity, insulin sensitivity and glucose metabolism. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes*, 113(9), 534-537. <https://doi.org/10.1055/s-2005-872851>
- Buzalaf, M. A. R., Ortiz, A. C., Carvalho, T. S., Fideles, S. O. M., Araújo, T. T., Moraes, S. M., Buzalaf, N. R., & Reis, F. N. (2020). Saliva as a diagnostic tool for dental caries, periodontal disease and cancer: is there a need for more biomarkers?. *Expert review of molecular diagnostics*, 20(5), 543-555. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1743686>
- Chen, C., Shao, Y., Wu, X., Huang, C., & Lu, W. (2016). Elevated interleukin-17 levels in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Biochem Physiol*, 5(206), 2-10.
- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 138, 271-281. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
- Cruz, N. G., Sousa, L. P., Sousa, M. O., Pietrani, N. T., Fernandes, A. P., & Gomes, K. B. (2013). The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 99(2), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.09.003>
- Davidovich, E., Mozer, Y., & Polak, D. (2021). Salivary inflammatory cytokines echo the low inflammatory burden in liver-transplanted children. *Clinical oral investigations*, 25(5), 2993-2998. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03619-4>
- Desai, G. S., & Mathews, S. T. (2014). Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. *World journal of diabetes*, 5(6), 730-738. <https://doi.org/10.4239/wjd.v5.i6.730>
- Desai, P., Donovan, L., Janowitz, E., & Kim, J. Y. (2020). The Clinical Utility of Salivary Biomarkers in the Identification of Type 2 Diabetes Risk and Metabolic Syndrome. *Diabetes*,

metabolic syndrome and obesity: targets and therapy, 13, 3587–3599.
<https://doi.org/10.2147/DMSO.S265879>

Dongiovanni, P., Meroni, M., Casati, S., Goldoni, R., Thomaz, D. V., Kehr, N. S., Galimberti, D., Del Fabbro, M., & Tartaglia, G. M. (2023). Salivary biomarkers: novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation. *International journal of oral science*, 15(1), 27.
<https://doi.org/10.1038/s41368-023-00231-6>

Fowler, M. J. (2008). Microvascular and macrovascular complications of diabetes. *Clinical diabetes*, 26(2), 77–82. <https://doi.org/10.2337/diaclin.26.2.77>

GBD 2021 Causes of Death Collaborators (2024). Global burden of 288 causes of death and life expectancy decomposition in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet*, 403(10440):2100–32.

Haber, J. F., Barbalho, S. M., Sgarbi, J. A., Argollo Haber, R. S., de Labio, R. W., Laurindo, L. F., Chagas, E. F. B., & Payão, S. L. M. (2023). The Relationship between Type 1 Diabetes Mellitus, TNF- α , and IL-10 Gene Expression. *Biomedicines*, 11(4), 1120.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11041120>

Halimi, A., Mortazavi, N., Memarian, A., Zahedi, M., Niknejad, F., Sohrabi, A., & Sarraf, S. J. (2022). The relation between serum levels of interleukin 10 and interferon-gamma with oral candidiasis in type 2 diabetes mellitus patients. *BMC endocrine disorders*, 22(1), 296.
<https://doi.org/10.1186/s12902-022-01217-x>

Heuer, J. G., Harlan, S. M., Yang, D. D., Jaqua, D. L., Boyles, J. S., Wilson, J. M., Heinz-Taheny, K. M., Sullivan, J. M., Wei, T., Qian, H. R., Witcher, D. R., & Breyer, M. D. (2017). Role of TGF- α in the progression of diabetic kidney disease. *American journal of physiology. Renal physiology*, 312(6), F951–F962.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00443.2016>

Holman, R. R., Paul, S. K., Bethel, M. A., Matthews, D. R., & Neil, H. A. (2008). 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *The New England journal of medicine*, 359(15), 1577–1589. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0806470>

Lontchi-Yimagou, E., Sobngwi, E., Matsha, T. E., & Kengne, A. P. (2013). Diabetes mellitus and inflammation. *Current diabetes reports*, 13(3), 435–444. <https://doi.org/10.1007/s11892-013-0375-y>

Marques-Vidal, P., Schmid, R., Bochud, M., Bastardot, F., von Känel, R., Paccaud, F., Glaus, J., Preisig, M., Waeber, G., & Vollenweider, P. (2012). Adipocytokines, hepatic and inflammatory biomarkers and incidence of type 2 diabetes. the CoLaus study. *PloS one*, 7(12), e51768. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051768>

Monea, A., Gruber, R., Elod, N., Beresescu, G., Moldov, C., & Monea, M. (2014). Saliva and serum levels of TNF- α and IL-6 in a sample of Romanian adult subjects with Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. *European Scientific Journal*, 10(9).

Padilla, G. A., Calvi, J. L., Taylor, M. K., & Granger, D. A. (2020). *Saliva collection, handling, transport, and storage: Special considerations and best practices for interdisciplinary salivary bioscience research*. *Salivary bioscience: Foundations of interdisciplinary saliva research and applications*, 21-47.

Randeria, S. N., Thomson, G. J. A., Nell, T. A., Roberts, T., & Pretorius, E. (2019). Inflammatory cytokines in type 2 diabetes mellitus as facilitators of hypercoagulation and abnormal clot formation. *Cardiovascular diabetology*, 18(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0870-9>

Rao, P. V., Reddy, A. P., Lu, X., Dasari, S., Krishnaprasad, A., Biggs, E., Roberts, C. T., & Nagalla, S. R. (2009). Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. *Journal of proteome research*, 8(1), 239–245. <https://doi.org/10.1021/pr8003776>

Rodacki, M., Teles, M., Gabbay, M., Montenegro, R., & Bertoluci, M. (2023). Classificação do diabetes. *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes*, 557753-2022.

Rodrigues, K. F., Pietrani, N. T., Bosco, A. A., Campos, F. M. F., Sandrim, V. C., & Gomes, K. B. (2017). IL-6, TNF- α , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. *Archives of endocrinology and metabolism*, 61(5), 438–446. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000254>

Shirzaiy, M., Dalirsani, Z., Peymankar, P., & Taherizadeh, M. (2023). Relationship between salivary levels of interleukin-8 and HbA1c in patients with type 2 diabetes. *Endocrinology, diabetes & metabolism*, 6(6), e455. <https://doi.org/10.1002/edm2.455>

Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Hoffmann, K., Bergmann, M. M., Ristow, M., Boeing, H., & Pfeiffer, A. F. (2003). Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*, 52(3), 812–817. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.3.812>

Srinivasan, M., Blackburn, C., Mohamed, M., Sivagami, A. V., & Blum, J. (2015). Literature-based discovery of salivary biomarkers for type 2 diabetes mellitus. *Biomarker insights*, 10, 39–45. <https://doi.org/10.4137/BMI.S22177>

Yoshizawa, J. M., Schafer, C. A., Schafer, J. J., Farrell, J. J., Paster, B. J., & Wong, D. T. (2013). Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 781–791. <https://doi.org/10.1128/CMR.00021-13>

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho analisou a expressão de citocinas inflamatórias na saliva de pacientes com diabetes tipo 2. Os dados provenientes dessa pesquisa são relevantes em virtude da necessidade de um método não invasivo para o monitoramento do diabetes tipo 2, considerando a alta prevalência e as projeções de aumento substancial dessa doença nos próximos anos. Ademais, considerando que os métodos convencionais de monitoramento causam dor, a utilização de uma técnica não invasiva pode evitar estresse e desconforto. Por meio desta pesquisa, pretende-se contribuir para o avanço no uso da saliva como ferramenta de monitoramento dos níveis glicêmicos nesses indivíduos. Os achados deste estudo foram apresentados na XXV Reunião da Sociedade Nordeste e Norte de Pesquisa Odontológica (SNNPqO), contribuindo para a produção científica e disponibilizando dados de grande interesse sobre potenciais marcadores salivares da inflamação crônica do diabetes tipo 2. Como passos futuros, busca-se efetuar a coleta e análise de dados bucais, bem como ampliar a amostra da pesquisa, contribuindo para a robustez do estudo.

REFERÊNCIAS

- ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. **Diabetes care**, v. 41, n. Supplement_1, p. S13-S27, 2018.
- ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2020. **Diabetes care**, v. 43, n. Supplement_1, p. S14-S31, 2020.
- ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Professional Practice Committee. 6. Glycemic goals and hypoglycemia: Standards of Care in Diabetes—2024. **Diabetes care**, v. 47, n. Supplement_1, p. S111-S125, 2024.
- AGHO, Ekhsuehi Theophilus *et al.* Salivary inflammatory biomarkers and glycated haemoglobin among patients with type 2 diabetic mellitus. **BMC Oral Health**, v. 21, p. 1-8, 2021.
- AKASH, Muhammad; REHMAN, Kanwal; CHEN, Shuqing. Role of inflammatory mechanisms in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 114, n. 3, p. 525-531, 2013.
- AKASH, Muhammad; REHMAN, Kanwal; LIAQAT, Aamira. Tumor necrosis factor-alpha: role in development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 1, p. 105-110, 2018.
- ALEXANDRAKI, Krystallenia *et al.* Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1084, n. 1, p. 89-117, 2006.
- ALMEIDA-PITITTO, B. *et al.* Metas no tratamento do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, v. 2022, p. 1-23, 2022.
- AL-SHUKAILI, Ahmed *et al.* Analysis of inflammatory mediators in type 2 diabetes patients. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, n. 1, p. 976810, 2013.
- ALZAMIL, Hana. Elevated serum TNF- α is related to obesity in type 2 diabetes mellitus and is associated with glycemic control and insulin resistance. **Journal of Obesity**, v. 2020, n. 1, p. 5076858, 2020.
- BASTARD, Jean-Philippe *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European Cytokine Network**, v. 17, n. 1, p. 4-12, 2006.
- APS, Johan; MARTENS, Luc. The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. **Forensic Science International**, v. 150, n. 2-3, p. 119-131, 2005.
- AREND, William; PALMER, Gaby; GABAY, Cem. IL-1, IL-18, and IL-33 families of cytokines. **Immunological Reviews**, v. 223, n. 1, p. 20-38, 2008.

BAKER, Matthew *et al.* Developing and understanding biofluid vibrational spectroscopy: a critical review. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 7, p. 1803-1818, 2016.

BARRY, Julianne *et al.* Hyporesponsiveness to the anti-inflammatory action of interleukin-10 in type 2 diabetes. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 21244, 2016.

BATTELINO, Tadej *et al.* Clinical targets for continuous glucose monitoring data interpretation: recommendations from the international consensus on time in range. **Diabetes care**, v. 42, n. 8, p. 1593-1603, 2019.

BINISOR, Ioana *et al.* Abdominal obesity and type 2 diabetes mellitus are associated with higher seric levels of IL 4 in adults. **Current Health Sciences Journal**, v. 42, n. 3, p. 231, 2016.

BRASIL. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Brasília: **Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2019. 491 p. ISBN: 978-85-93746-02-4.

BUZALAF, Marilia Afonso Rabelo *et al.* Saliva as a diagnostic tool for dental caries, periodontal disease and cancer: is there a need for more biomarkers?. **Expert review of molecular diagnostics**, v. 20, n. 5, p. 543-555, 2020.

CARVALHO, Maria Helena C. de; COLAÇO, André Luiz; FORTES, Zuleica Bruno. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 304-312, 2006.

CIMINI, F. *et al.* Circulating IL-8 levels are increased in patients with type 2 diabetes and associated with worse inflammatory and cardiometabolic profile. **Acta diabetologica**, v. 54, p. 961-967, 2017.

CENZATO, N. *et al.* SALIVA-based diagnostic approach for diabetes mellitus: a step towards non-invasive detection-a scoping review. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 27, n. 24, p. 12080-12087, 2023.

CHAN, Juliana *et al.* The Lancet Commission on diabetes: using data to transform diabetes care and patient lives. **Lancet**, v. 396, n. 10267, p. 2019–2082, 2021.

CHEN, Chunhua *et al.* Elevated interleukin-17 levels in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. **Biochem Physiol**, v. 5, n. 206, p. 2-10, 2016.

CHICHARRO, José *et al.* Saliva composition and exercise. **Sports medicine**, v. 26, p. 17-27, 1998.

CHO, Nam *et al.* IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. **Diabetes research and clinical practice**, v. 138, p. 271-281, 2018.

CRUZ, Nathália *et al.* The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 99, n. 2, p. 85-92, 2013.

CUI, Yangyang *et al.* Developments in diagnostic applications of saliva in human organ diseases. **Medicine in Novel Technology and Devices**, v. 13, p. 100115, 2022.

DAVIDOVICH, Esti; MOZER, Yael; POLAK, David. Salivary inflammatory cytokines echo the low inflammatory burden in liver-transplanted children. **Clinical Oral Investigations**, v. 25, p. 2993-2998, 2021.

DESAI, Gauri; MATHEWS, Suresh. Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. **World Journal of Diabetes**, v. 5, n. 6, p. 730, 2014.

DESAI, Priya *et al.* The clinical utility of salivary biomarkers in the identification of type 2 diabetes risk and metabolic syndrome. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v. 13, p. 3587-3599, 2020.

DONATH, Marc; SHOELSON, Steven. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 98-107, 2011.

DONGIOVANNI, Paola *et al.* Salivary biomarkers: novel noninvasive tools to diagnose chronic inflammation. **International Journal of Oral Science**, v. 15, n. 1, p. 27, 2023.

DUNCAN, Bruce *et al.* Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. **Diabetes**, v. 52, n. 7, p. 1799-1805, 2003.

ENGEBRETSON, Steven *et al.* Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. **Journal of Periodontology**, v. 75, n. 9, p. 1203-1208, 2004.

FABBRINI, Elisa *et al.* Association between specific adipose tissue CD4⁺ T-cell populations and insulin resistance in obese individuals. **Gastroenterology**, v. 145, n. 2, p. 366-374. e3, 2013.

FRANCÉS, Daniel *et al.* Diabetes, an inflammatory process: oxidative stress and TNF-alpha involved in hepatic complication. **Journal of Biomedical Science and Engineering**, v. 6, n. 6, 2013.

FRANCISCO, C. *et al.* Perfil de citocinas e subconjuntos de linfócitos no diabetes tipo 2. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**, v. 49, n. 4, p. e5062, 2016.

GAFFEN, Sarah *et al.* The IL-23–IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 9, p. 585-600, 2014.

GKRANIA-KLOTSAS, Effrossyni *et al.* Differential white blood cell count and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of cross-sectional and prospective studies. **PloS one**, v. 5, n. 10, p. e13405, 2010.

IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Atlas**. 10. ed. Bruxelas: International Diabetes Federation, 2021.

INOUE, Hiroko *et al.* Rheological properties of human saliva and salivary mucins. **Journal of Oral Biosciences**, v. 50, n. 2, p. 134-141, 2008.

HOTAMISLIGIL, Gokhan *et al.* Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 95, n. 5, p. 2409-2415, 1995.

KADO, S.; NAGASE, T.; NAGATA, N. Circulating levels of interleukin-6, its soluble receptor and interleukin-6/interleukin-6 receptor complexes in patients with type 2 diabetes mellitus. **Acta diabetologica**, v. 36, p. 67-72, 1999.

KAMINSKI, A.; KAMINSKI, E.; MORGAN, N. Pre-incubation with interleukin-4 mediates a direct protective effect against the loss of pancreatic β -cell viability induced by proinflammatory cytokines. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 148, n. 3, p. 583-588, 2007.

KERSHAW, Erin; FLIER, Jeffrey. Adipose tissue as an endocrine organ. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2548-2556, 2004.

KHALID, Mariyam; PETROIANU, Georg; ADEM, Abdu. Advanced glycation end products and diabetes mellitus: mechanisms and perspectives. **Biomolecules**, v. 12, n. 4, p. 542, 2022.

KHURSHID, Zohaib *et al.* Human saliva collection devices for proteomics: an update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, p. 846, 2016.

KING, George. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. **Journal of Periodontology**, v. 79, p. 1527-1534, 2008.

KOLB, H.; MANDRUP-POULSEN, T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. **Diabetologia**, v. 53, n. 1, p. 10-20, 2010.

LEINONEN, Eeva *et al.* Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. **Atherosclerosis**, v. 166, n. 2, p. 387-394, 2003.

LIAO, Caizhi; CHEN, Xiaofeng; FU, Ying. Salivary analysis: An emerging paradigm for non-invasive healthcare diagnosis and monitoring. **Interdisciplinary Medicine**, v. 1, n. 3, p. e20230009, 2023.

LONTCHI-YIMAGOU, Eric *et al.* Diabetes mellitus and inflammation. **Current Diabetes Reports**, v. 13, n. 3, p. 435-444, 2013.

LOO, J. *et al.* Comparative human salivary and plasma proteomes. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 10, p. 1016-1023, 2010.

MAEDLER, K.; DONATH, M. Y. β -Cells in type 2 diabetes: a loss of function and mass. **Hormone research**, v. 62, n. Suppl. 3, p. 67-73, 2004.

MARQUES-VIDAL, Pedro *et al.* Adipocytokines, hepatic and inflammatory biomarkers and incidence of type 2 diabetes. the CoLaus study. **PloS one**, v. 7, n. 12, p. e51768, 2012.

MARSELLI, Lorella *et al.* Th2 cytokines have a partial, direct protective effect on the function and survival of isolated human islets exposed to combined proinflammatory and Th1

cytokines. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 10, p. 4974-4978, 2001.

MARTINEZ, Marcela *et al.* Glycemic variability and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. **BMJ Open Diabetes Research and Care**, v. 9, n. 1, p. e002032, 2021.

MONEA, Adriana *et al.* Saliva and serum levels of TNF-alpha and IL-6 in a sample of Romanian adult subjects with Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. **European Scientific Journal**, v. 10, n. 9, 2014.

NATHAN, David *et al.* Translating the A1C assay into estimated average glucose values. **Diabetes care**, v. 31, n. 8, p. 1473-1478, 2008.

WELLEN, K, HOTAMISLIGIL, E. *et al.* Inflammation, stress, and diabetes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 5, p. 1111-1119, 2005.

NELMS, Keats *et al.* The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. **Annual Review of Immunology**, v. 17, n. 1, p. 701-738, 1999.

NUNES, Lazaro; MUSSAVIRA, Sayeeda; BINDHU, Omana. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. **Biochemia medica**, v. 25, n. 2, p. 177-192, 2015.

O'CONNOR, Jason *et al.* Type 2 diabetes impairs insulin receptor substrate-2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase activity in primary macrophages to induce a state of cytokine resistance to IL-4 in association with overexpression of suppressor of cytokine signaling-3. **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 11, p. 6886-6893, 2007.

OKDAHL, Tina *et al.* Low-grade inflammation in type 2 diabetes: a cross-sectional study from a Danish diabetes outpatient clinic. **BMJ open**, v. 12, n. 12, p. e062188, 2022.

ONISHI, Reiko; GAFFEN, Sarah. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. **Immunology**, v. 129, n. 3, p. 311-321, 2010.

PARHI, Ashirbad *et al.* The level and role of Interleukin-17 in patients of type 2 diabetes mellitus with and without complications. **Journal of Diabetes Mellitus**, v. 9, n. 04, p. 176, 2019.

PAUL, William. Interleukin 4: signalling mechanisms and control of T cell differentiation. In: **Ciba Foundation Symposium 204-The Molecular Basis of Cellular Defence Mechanisms: The Molecular Basis of Cellular Defence Mechanisms: Ciba Foundation Symposium 204**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2007. p. 208-219.

PERALDI, Pascal; SPIEGELMAN, Bruce. TNF- α and insulin resistance: summary and future prospects. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 182, p. 169-175, 1998.

PFAFFE, Tina *et al.* Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. **Clinical chemistry**, v. 57, n. 5, p. 675-687, 2011.

PICKUP, John. Inflammatory Markers and Type 2 Diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics*. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 8, n. 1, 2006.

PINTO, Wagner. A função endócrina do tecido adiposo. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 16, n. 3, p. 111-120, 2014.

PIROLA, Luciano; FERRAZ, José Candido. Role of pro-and anti-inflammatory phenomena in the physiopathology of type 2 diabetes and obesity. **World Journal of Biological Chemistry**, v. 8, n. 2, p. 120, 2017.

PITTMAN, Trey W. et al. Saliva-based microfluidic point-of-care diagnostic. **Theranostics**, v. 13, n. 3, p. 1091, 2023.

PRADO, Wagner *et al.* Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 15, p. 378-383, 2009.

RANDERIA, Shehan *et al.* Inflammatory cytokines in type 2 diabetes mellitus as facilitators of hypercoagulation and abnormal clot formation. **Cardiovascular Diabetology**, v. 18, p. 1-15, 2019.

RAO, Paturi *et al.* Proteomic identification of salivary biomarkers of type-2 diabetes. **Journal of proteome research**, v. 8, n. 1, p. 239-245, 2009.

REHMAN, Kanwal; AKASH, Muhammad Sajid Hamid. Mechanism of generation of oxidative stress and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: how are they interlinked?. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 118, n. 11, p. 3577-3585, 2017.

RODACKI, Melanie *et al.* Classificação do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, p. 557753.2022-1, 2023.

RODRIGUES, Kathryn *et al.* IL-6, TNF- α , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 61, p. 438-446, 2017.

ROSENVINGE, A. *et al.* Insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis: effect of anti-TNF α therapy. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 36, n. 2, p. 91-96, 2007.

SAEEDI, Pouya *et al.* Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 157, p. 107843, 2019.

SHETTIGAR, Laasya *et al.* Correlational analysis between salivary and blood glucose levels in individuals with and without diabetes mellitus: a cross-sectional study. **Acta Odontologica Scandinavica**, p. 1-11, 2023.

SHIRZAIY, Masoomah *et al.* Relationship between salivary levels of interleukin-8 and HbA1c in patients with type 2 diabetes. **Endocrinology, Diabetes & Metabolism**, v. 6, n. 6, p. e455, 2023.

SHOELSON, Steven; LEE, Jongsoon; GOLDFINE, Allison. Inflammation and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1793-1801, 2006.

SONG, Mengyuan *et al.* Promising applications of human-derived saliva biomarker testing in clinical diagnostics. **International Journal of Oral Science**, v. 15, n. 1, p. 2, 2023.

SPRANGER, Joachim *et al.* Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. **Diabetes**, v. 52, n. 3, p. 812-817, 2003.

SRINIVASAN, Mythily *et al.* Literature-Based Discovery of Salivary Biomarkers for Type 2 Diabetes Mellitus. **Biomarker Insights**, v. 10, p. 39, 2015.

VAN EXEL, Eric *et al.* Low production capacity of interleukin-10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: the Leiden 85-Plus Study. **Diabetes**, v. 51, n. 4, p. 1088-1092, 2002.

VOZAROVA, Barbora *et al.* High white blood cell count is associated with a worsening of insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. **Diabetes**, v. 51, n. 2, p. 455-461, 2002.

WANG, Xiaoting *et al.* Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. **Nature**, v. 514, n. 7521, p. 237-241, 2014.

WESTHOLM, Efraim *et al.* Interleukin-4 reduces insulin secretion in human islets from healthy but not type-2 diabetic donors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 649, p. 87-92, 2023.

WOLK, Kerstin; SABAT, Robert. Interleukin-22: a novel T-and NK-cell derived cytokine that regulates the biology of tissue cells. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 17, n. 5, p. 367-380, 2006.

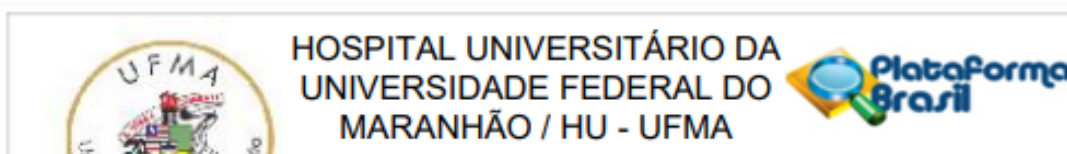
YAGHINI, Narges *et al.* Serum levels of interleukin 10 (IL-10) in patients with type 2 diabetes. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 13, n. 10, p. 752, 2011.

YOSHIZAWA, Janice *et al.* Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 781-791, 2013.

YOUSEFIDARETOR, Hassan *et al.* IL-17A plays an important role in induction of type 2 diabetes and its complications. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 5, p. 412-415, 2014.

ZOZULIŃSKA, D. *et al.* Serum interleukin-8 level is increased in diabetic patients. **Diabetologia**, v. 42, n. 1, p. 117-118, 1999.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Fatores associados ao fluxo salivar de pacientes diabéticos durante a internação hospitalar

Pesquisador: VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 60673322.0.0000.5086

Instituição Proponente: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS)

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.565.555

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1950117. Datado de 02/06/22).

Introdução:

A saliva é um fluido secretado por três pares de glândulas salivares maiores (parótida, submandibular e sublingual) e por inúmeras glândulas menores localizadas na submucosa da cavidade oral (Battino et al., 2002; Proctor et al., 2006). Sua composição é formada 99% por água, 0,3% proteínas e 0,2% substâncias inorgânicas, além de conter outros compostos como glicose e produtos nitrogenados (Almeida et al., 2008; Yoshizawa et al., 2013). A composição heterogênea da saliva justifica as diversas funções para a homeostase da cavidade oral, entre elas: reparação tecidual, lubrificação, tamponamento, integridade do dente, ação antimicrobiana, digestiva, e sistema de defesa antioxidante (Carpenter, 2013; Falcão et al., 2013). Devido a este arcabouço funcional complexo, distúrbios nas glândulas ou na estimulação nervosa delas poderão iniciar um processo de disfunção salivar com consequente desequilíbrio da microbiota oral, predisposição de dentes e mucosas a infecções e lesões orais, funções fisiológicas prejudicadas e sintomatologias como a ardência bucal. O termo técnico para o baixo fluxo salivar é chamado de hipossalivação,

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

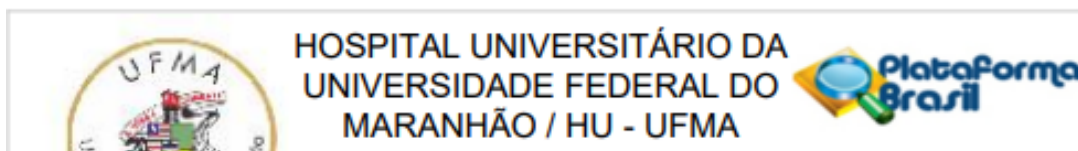
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

um dado objetivo e quantificado pela amostra de saliva produzida em relação ao tempo. Em alguns pacientes é observado também outro sintoma, este mais subjetivo e qualitativo, denominado xerostomia, que consiste na sensação de boca seca devido a mudanças na composição salivar, ou seja, não é uma condição especificamente determinada pela diminuição do fluxo (López-Pinto et al., 2016; Varellis et al., 2020). As causas que determinam esses distúrbios são múltiplas e englobam desde medicamentos e desordens que afetam o sistema nervoso autônomo como anticolinérgicos e a síndrome de Sjögren, a tratamentos antineoplásicos, desordens genéticas, doenças infecciosas e patologias crônicas como a diabetes (Saleh et al., 2015). A diabetes tipo 1 e tipo 2 são doenças metabólicas que apresentam etiologia e processo patofisiológico diferentes. A diabetes tipo 1 é uma doença com herança poligênica e está associada com uma complexa interação entre as células -pancreáticas e o sistema imune inato e adaptativo, onde há a formação de anticorpos contra essas células, destruindo-as e impossibilitando deste modo a produção de insulina, hormônio responsável pelo transporte da glicose no corpo (DiMeglio et al, 2018). A diabetes tipo 2 tem etiologia mista e está associada com a combinação de vários defeitos metabólicos causados pela incapacidade das células beta pancreáticas em secretar corretamente a insulina; e a inabilidade deste hormônio em exercer suas funções biológicas normais de transporte, biotransformação e armazenamento das moléculas de glicose nos músculos e tecidos adiposos (Ullah et al, 2015); resultando deste modo na hiperglicemia extracelular e em diversas alterações bioquímicas da glicose e da peroxidação lipídica (Mahboob, 2005;). Em condições de homeostase anormal da glicose, o exame de hemoglobina glicada servirá de biomarcador padrão do controle glicêmico, sendo o valor de A1c 6,5% o critério laboratorial de diagnóstico para diabetes. Contudo, esse marcador sozinho é menos sensível para diabetes tipo 1, uma vez que a progressão da disglucemia é mais rápida nesses pacientes, sendo recomendável associar com os resultados do exame de glicemia em jejum, onde os valores acima de 70 mmol/L (126mg/L) representam o diagnóstico de diabetes (American Diabetic Association, 2010; Kerner et al., 2014; DiMeglio et al, 2018). A hiperglicemia na corrente sanguínea e a hipoglicemia intracelular são responsáveis por diversas alterações macro e microvasculares a curto e longo prazo, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, retinopatias, nefropatias, neuropatias e infecções, assim como exerce papel fundamental no aumento do estresse oxidativo, principalmente nas neuropatias diabéticas (Figuerola-Romero, 2008; Zheng et al., 2018). Da mesma forma, a diabetes interage particularmente com a cavidade oral, sendo um fator de risco para a doença periodontal e um agente etiológico da disfunção salivar (Preshaw et al, 2011). Com relação a

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

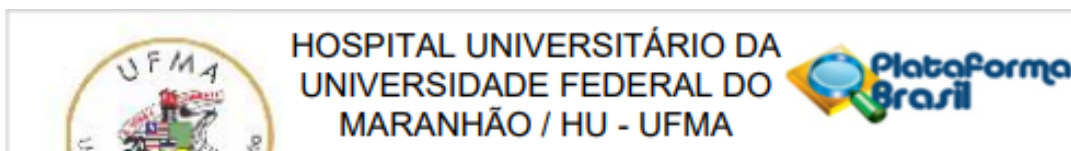
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

hipossalivação/xerostomia, acreditava-se que a diabetes causava apenas uma diminuição do fluxo salivar, porém, nas últimas décadas, foi possível realizar análises proteômicas e estabelecer biomarcadores salivares específicos para diabetes tipo 1 e 2, facilitando estudos diagnósticos e demonstrando que essas desordens também podem alterar a composição salivar (Carda et al., 2006; Bencharit et al., 2013; Srinivasan et al., 2015; Lima et al., 2017). A diabetes torna-se neste contexto, um fator de predisposição à hipossalivação/xerostomia, assim como é um problema de saúde pública, uma vez que os dados epidemiológicos sobre diabetes apontam um crescimento exponencial da doença a nível mundial. A IDF (International Diabetes Federation) na sua décima edição do atlas sobre a prevalência da Diabetes no mundo estimou que 537 milhões de adultos convivem com ela em 2021, e que a doença foi responsável por 6,7 milhões de mortes nesse mesmo ano, 1 morte a cada 5 segundos. A diabetes tipo 2 entra nesse contexto com o maior número de diagnósticos, representando 90% dos casos (Zheng et al., 2018; International Diabetes Federation, 2021). Dessa forma, se a cada ano esses números aumentam, também aumentam os relatos de complicações orais decorrentes dessa desordem metabólica. Pacientes diabéticos apresentam queixas de boca seca, dificuldades mastigatórias, lesões orais decorrentes da diminuição de fluxo salivar, infecções oportunistas como a candidíase oral e risco acentuado para desenvolvimento e exacerbação da doença periodontal. O tratamento multidisciplinar do paciente diabético é uma das políticas de saúde pública que mais impactam o Sistema Único de Saúde do Brasil. Em estudo recente sobre países com maiores gastos relacionados à doença, o Brasil se encontrava em terceiro lugar, perdendo apenas para Estados Unidos e China (Williams et al., 2020). Estabelecer dados sobre as complicações orais derivadas da diabetes na realidade brasileira é um meio de prevenir e prover qualidade de vida, além de auxiliar na redução de recursos financeiros. Embora seja um sinal/sintoma encontrado em muitos pacientes, a hipossalivação/xerostomia ainda carece da implementação de protocolos de tratamento e medidas terapêuticas nos serviços de saúde no Brasil. Na internação hospitalar, onde o paciente diabético é polimedicado e sujeito a condições psicológicas debilitantes, o conhecimento das queixas e sinais estomatognáticos resultantes da redução do fluxo salivar possibilitarão a criação de um protocolo terapêutico efetivo e preventivo para melhora da sua qualidade de vida, sendo inclusive, um possível aliado na redução do período de internação desses pacientes.

Hipótese:

1a Hipótese: A diabetes tipo 1 e 2 reduz a produção do fluxo salivar dos pacientes.

2a Hipótese: A hipossalivação/xerostomia pode impactar negativamente a qualidade de vida de

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

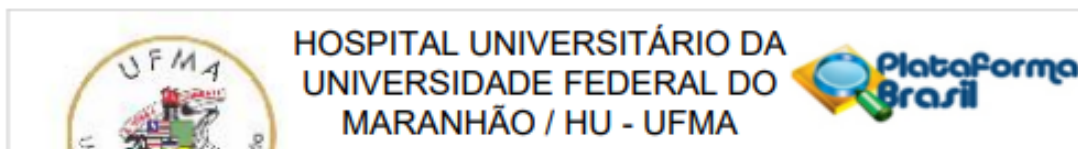
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2.

3a Hipótese: A hipossalivação/xerostomia está diretamente associada com a prevalência/incidência de infecções oportunistas em pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2.

4a Hipótese: Pacientes diabéticos descompensados apresentam maior hipossalivação/xerostomia que os compensados.

Metodologia Proposta:

Desenho de estudo e amostra

Será conduzido um estudo observacional de corte transversal com uma amostra de pacientes adultos internados com diabetes tipo 1 e 2 no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – Unidade Presidente Dutra.

Serão incluídos pacientes adultos internados nas clínicas médica e cirúrgica do HU-UFMA com diagnóstico de diabetes tipo 1 e 2 no período mínimo de 1 ano e que disponham de exames laboratoriais atuais para análise do valor da hemoglobina glicada nos últimos 3 meses. Os critérios de exclusão englobam pacientes com diagnóstico de doenças inflamatórias reumatológicas; com hipotireoidismo; Parkinson; Alzheimer; que realizaram ou realizam radioterapia/quimioterapia; com diagnóstico recente de câncer; portadores de HIV; com diagnóstico da doença do enxerto contra o hospedeiro; sarcoidose; com pancreatite crônica; bulímicos e alcoólatras; mulheres grávidas ou que estejam amamentando (Falcão et al, 2013; Saleh et al., 2015).

Para o cálculo, estimou-se o fluxo de pacientes internados na unidade hospitalar por complicação de diabetes no período de 6 meses em 110, intervalo de confiança de 95%, margem de erro de 5%. Dessa forma, a amostra mínima requerida foi de 86.

Coleta de dados

Todos os pacientes da amostra passarão por uma anamnese criteriosa e exame clínico, com disponibilização de seus prontuários para coleta de dados. Serão feitas anotações seguindo ficha de anamnese específica para pacientes diabéticos, assim como questionário sociodemográfico. O exame clínico será extraoral e intraoral. Além disso, será observado a interação medicamentosa: todos os medicamentos utilizados pelo paciente serão coletados na anamnese e divididos em medicamentos que potencialmente causam hipossalivação.

Avaliação da qualidade de vida e hipossalivação/xerostomia

Os questionários sobre hipossalivação e qualidade de vida do paciente serão aplicados através do OHIP-14 e da escala visual analógica adaptada para xerostomia/hipossalivação. A análise

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

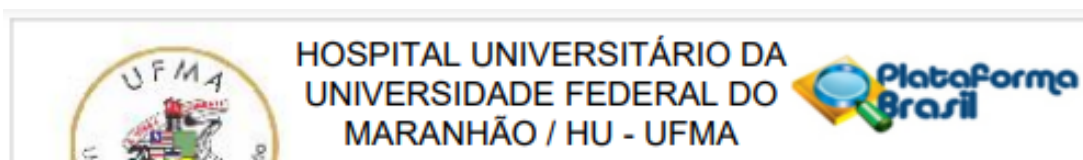
UF: MA

Telefone: (98)2109-1250

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

quantitativa da saliva de cada paciente será coletada após anamnese e exame clínico, no período matutino (8-9 horas). Precauções antes da coleta: O paciente será solicitado a não ingerir alimentos, fumar, ou fazer exercício físico 2 horas antes da coleta. Após o enxague da cavidade oral com água, a amostra de saliva não estimulada será coletada com o paciente sentado na cama, com a cabeça levemente abaixada. Por meio da técnica de drenagem passiva, a saliva será coletada em um tubo de polipropileno seco graduado durante 5 minutos cronometrados. A amostra da saliva estimulada será coletada por estímulo mecânico com parafina durante 5 minutos cronometrados, sendo que a cada 1 minuto de estímulo mecânico, o paciente irá expelir a saliva no tubo. A quantificação da saliva será determinada pela mensuração em balança de precisão de uso laboratorial. A concentração será determinada em ml/min, e a hipossalivação será observada quando a concentração da amostra não estimulada estiver abaixo de 0,1 ml/min e na amostra estimulada abaixo de 0,7 ml/min (Navazesh, 1993).

Análise estatística

Os dados serão analisados utilizando os recursos do SPSS software version 26.0 (IBM, Chicago, IL, USA). Inicialmente será realizada a estatística descritiva dos dados utilizando medidas de frequências, tendência central e dispersão. Os testes qui-quadrado e exato de Fisher serão utilizados para analisar as variáveis categóricas. O teste Shapiro-Wilk avaliará a normalidade da distribuição dos dados contínuos. Após este processamento, o teste t de Student independente ou Mann-Whitney serão utilizados para analisar as variáveis numéricas. O nível de significância adotado para todos os testes será de 5%.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos pacientes adultos internados nas clínicas médica e cirúrgica do HU-UFMA com diagnóstico de diabetes tipo 1 e 2 no período mínimo de 1 ano e que disponham de exames laboratoriais atuais para análise do valor da hemoglobina glicada nos últimos 3 meses.

Critério de Exclusão:

Os critérios de exclusão englobam pacientes com diagnóstico de doenças inflamatórias reumatológicas; com hipotireoidismo; Parkinson; Alzheimer; que realizaram ou realizam radioterapia/quimioterapia; com diagnóstico recente de câncer; portadores de HIV; com diagnóstico da doença do enxerto contra o hospedeiro; sarcoidose; com pancreatite crônica; bulímicos e alcoólatras; mulheres grávidas ou que estejam amamentando.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

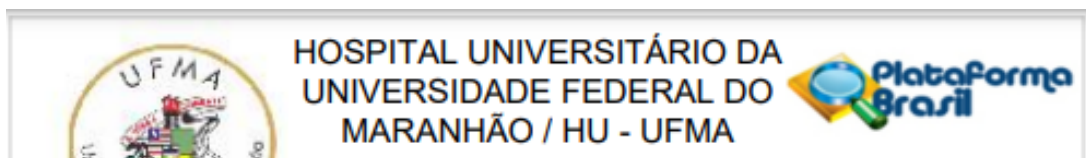
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

Metodologia de Análise de Dados:

Os dados serão analisados utilizando os recursos do SPSS software version 26.0 (IBM, Chicago, IL, USA). Inicialmente será realizada a estatística descritiva dos dados utilizando medidas de frequências, tendência central e dispersão. Os testes qui-quadrado e exato de Fisher serão utilizados para analisar as variáveis categóricas. O teste Shapiro-Wilk avaliará a normalidade da distribuição dos dados contínuos. Após este processamento, o teste t de Student independente ou Mann-Whitney serão utilizados para analisar as variáveis numéricas. O nível de significância adotado para todos os testes será de 5%.

Desfecho Primário:

Fluxo salivar mensurado dos pacientes.

Tamanho da Amostra no Brasil: 86

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a prevalência da hipossalivação e xerostomia em pacientes com diagnóstico de diabetes tipo 1 ou tipo 2 durante período de internação em clínica médica e cirúrgica.

Objetivo Secundário:

- Analisar a concentração do fluxo salivar estimulado e não estimulado; • Coletar dados sociodemográficos para análise epidemiológica;
- Coletar dados sobre hábitos alimentares e medicações utilizadas para análise multivariada com a hipossalivação/xerostomia;
- Avaliar grau de hipossalivação/xerostomia por meio da aplicação de questionários padronizados;
- Correlacionar a ocorrência de sinais e sintomas orais decorrentes da hipossalivação/xerostomia durante o período de internação desses pacientes. • Comparar o grau de hipossalivação/xerostomia entre pacientes diabéticos compensados e descompensados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Durante a realização da pesquisa poderão ocorrer eventuais desconfortos e possíveis riscos como o registro de suas informações pessoais, e coleta de seu material biológico. Esses potenciais riscos

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

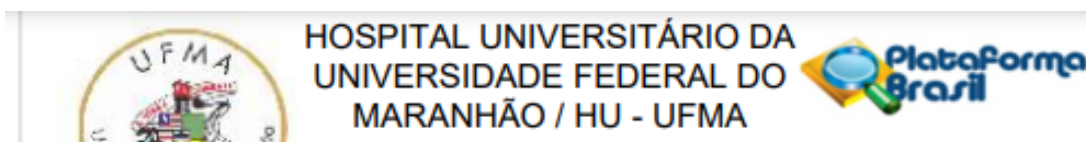
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 3.565.555

serão minimizados por meio da categorização anônima dos pacientes do estudo, sendo suas informações e amostras salivares de uso restrito aos pesquisadores. Serão aplicadas medidas de biossegurança com o uso de gorros, máscaras, luvas e instrumentais autoclavados. Os materiais utilizados para coleta salivar serão estes: tubo e funil de prolipropileno, parafina, gaze e gelo; sem prejuízo ou risco de acidentes perfuro-cortantes aos pacientes.

Benefícios:

Como benefício, será ofertado a cada participante o diagnóstico de lesões orais, doenças ou outras condições bucais durante anamnese e exame clínico oral; orientações sobre higiene bucal e encaminhamento para tratamentos especializados em órgãos públicos quando conveniente. Serão entregues kits de higiene oral a cada participante. A análise dos dados da amostra contribuirá para o desenvolvimento de um protocolo terapêutico de hipossalivação/xerostomia que ajudará na melhora de qualidade de vida de muitos pacientes diabéticos que futuramente serão internados neste hospital.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A saliva é um produto complexo de três pares de glândulas salivares cuja importância para a homeostasia da cavidade oral se justifica por suas funções de lubrificação, tamponamento, ação antimicrobiana, digestiva e antioxidante; além de ser um ótimo meio para análises diagnósticas e de biomarcadores. Uma vez que a produção do fluxo salivar está diminuída ou apresenta alterações na sua composição, o paciente apresentará sinais e sintomas que reduzem sua qualidade de vida, assim como uma predisposição a infecções. Entre as diversas causas para disfunção salivar, a diabetes tipo 1 e tipo 2 se caracterizam como patologias que predis põem o paciente a hipossalivação e xerostomia. A fisiopatologia dessas desordens metabólicas resulta da falta ou dificuldade de secreção da insulina pelas células beta-pancreáticas. Devido ao quadro de alterações a nível sistêmico, pacientes diabéticos apresentam complicações orais a curto e longo prazo, necessitando de tratamento multidisciplinar periódico e preventivo.

O estudo é relevante cientificamente por permitir conhecer a prevalência de hipossalivação e xerostomia em pacientes diabéticos internados nas clínicas médica e cirúrgica do Hospital Universitário - Unidade Presidente Dutra. O estudo apresentará delineamento transversal e avaliará uma amostra de pacientes com diabetes tipo 1 e 2 internados nas clínicas médica e cirúrgica do Hospital Universitário – Unidade Presidente Dutra. A análise estatística incluirá o cálculo das medidas descritiva, testes qui-quadrado ou exato de fisher para as variáveis categóricas, e testes Mann-Whitney ou t de Student não pareado para as variáveis contínuas. Os resultados e impactos

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

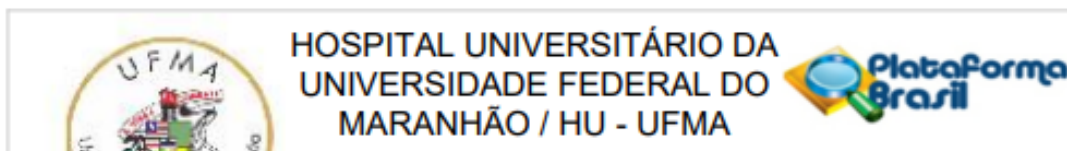
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

esperados incluem a identificação da prevalência de hipossalivação/xerostomia em pacientes com diabetes tipo 1 e 2, a estimação da associação com perda de qualidade de vida e aumento de infecções e lesões orais durante internação hospitalar, e a determinação de um protocolo de tratamento de hipossalivação/xerostomia para os pacientes internados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Declaração de compromisso em anexar os resultados na plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word. Atende à Norma Operacional no 001/2013 (item 3/ 3.3).

Recomendações:

- 1- Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.
- 2- De forma a garantir sua integridade, o TCLE deve apresentar a numeração das páginas. Solicita-se que esta seja inserida de forma a indicar, também, o número total de páginas, por exemplo: 1/3, 2/3, 3/3....

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O PROTOCOLO não apresenta óbices éticos, portanto atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares. sendo considerado APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa–CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

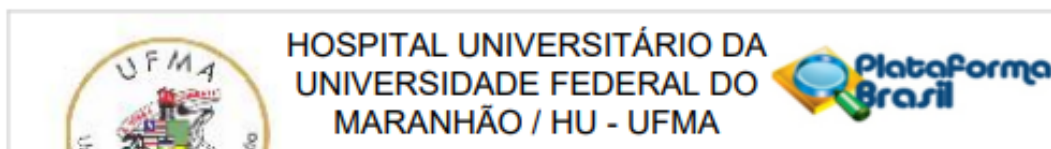
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 5.565.555

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1950117.pdf	02/06/2022 14:02:07		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mila_HUUFMA_.pdf	02/06/2022 14:01:33	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_CEP.pdf	02/06/2022 13:48:46	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declara_ifra.pdf	02/06/2022 13:46:18	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Declaração de concordância	Carta_Anuencia_HUUFMA_Rede_pesquisa.pdf	02/06/2022 12:29:48	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_consentimento_.pdf	31/05/2022 14:28:42	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Orçamento	Orcamento_.pdf	31/05/2022 14:22:35	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	2_Declaracao_Pesquisador.pdf	31/05/2022 14:17:20	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_.pdf	31/05/2022 14:13:00	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito
Brochura Pesquisa	Projeto_Mila_HUUFMA.pdf	31/05/2022 14:11:32	VANDILSON PINHEIRO RODRIGUES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



O(a) Sr(a) está sendo convidado a participar da pesquisa “Fatores associados ao fluxo salivar de pacientes diabéticos durante a internação hospitalar”, que tem como pesquisador responsável: Vandilson Pinheiro Rodrigues.

Esta pesquisa pretende avaliar a prevalência de hipossalivação e xerostomia em pacientes diabéticos internados nas clínicas médica e cirúrgica do Hospital Universitário – Unidade Presidente Dutra no ano de 2022, de forma a desenvolver a médio e longo prazo um protocolo terapêutico para hipossalivação/xerostomia, além de proporcionar melhora na qualidade de vida do paciente diabético.

O(A) Sr(a) está sendo convidado porque se insere no grupo de pacientes adultos com o diagnóstico de diabetes tipo 1 e 2 que apresentam queixa de secura bucal e dificuldade de engolir e mastigar, além de estar mais suscetível a infecções orais, diminuindo sua qualidade de vida e predispondo-o(a) a uso de medicações para tratamentos antimicrobianos em diferentes fases da vida. O motivo que nos leva a desenvolver esse estudo é identificar o quadro epidemiológico de hipossalivação/xerostomia que pacientes diabéticos, com a doença compensada ou não, apresentam durante internação hospitalar; e estabelecer a médio e longo prazo um protocolo terapêutico pautado na abordagem preventiva, permitindo autonomia de cuidado e redução do uso de antimicrobianos.

Caso decida participar, sua participação consistirá em uma anamnese e exame odontológico, onde os pesquisadores terão acesso aos seus dados médicos atuais e anteriores por meio do prontuário e dos exames laboratoriais, além de efetuarem um exame minucioso extraoral (da face) e intraoral (cavidade bucal) por meio da análise visual e palpação. Juntamente a isto, serão utilizados dois questionários e uma escala visual analógica. Os questionários consistirão numa análise sociodemográfica onde poderemos traçar um perfil dos pacientes diabéticos admitidos no hospital e um específico para hipossalivação/xerostomia (secura bucal e/ou sensação de boca seca) e como esses sinais e sintomas podem afetar sua qualidade de vida. A escala visual analógica permitirá que possamos quantificar o grau de disfunção salivar (sinais e sintomas) que o(a) sr(a) esteja apresentando durante a avaliação. A duração da anamnese, exame oral, questionários e da escala visual será em torno de 20 a 25 minutos. E por fim, será coletado material biológico (saliva), em material autoclavado, por meio da drenagem passiva (a saliva escorrerá da boca para o tubo) e com estimulação mecânica (através da mastigação, sendo ambas as coletas de 5 minutos cada. A amostra salivar será quantificada por meio de uma balança de precisão, serão anotados as quantificações observadas e depois o material biológico será dispensado.

Cabe ressaltar que os dados e imagens obtidos durante a pesquisa serão de uso exclusivo para o estudo dos pesquisadores envolvidos, assim como será assegurado seu direito à confidencialidade e privacidade, sem prejuízo nos aspectos pessoal, psicológico, econômico-financeiro.

Durante a realização da pesquisa poderão ocorrer eventuais desconfortos e possíveis riscos como o registro de suas informações pessoais, e coleta de seu material biológico. Dito isso, esses potenciais riscos serão minimizados por meio da categorização anônima dos pacientes do estudo, sendo suas informações e amostras salivares de uso restrito aos pesquisadores. Serão aplicadas medidas de biossegurança com o uso de gorros, máscaras, luvas e instrumentais autoclavados. Os materiais utilizados para coleta de saliva serão estes: tubo e funil de prolipropileno, parafina, gaze e gelo; sem prejuízo ou risco de acidentes perfuro-cortantes aos pacientes.

Como benefício, será ofertado ao Sr(a) o diagnóstico de lesões orais, doenças ou outras condições bucais durante anamnese e exame clínico oral; orientações sobre higiene bucal e encaminhamento para tratamentos especializados em órgãos públicos quando conveniente. Serão entregues kits de higiene oral a cada participante; e o(a) sr(a) estará contribuindo para o desenvolvimento de um protocolo terapêutico de hipossalivação/xerostomia que ajudará na melhoria de qualidade de vida de muitos pacientes diabéticos que futuramente serão internados neste hospital.

Se julgar necessário, o(a) Sr(a) disporá de tempo para refletir sobre sua participação, consultando, se necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-lo na tomada de decisão livre e esclarecida.

Asseguramos ao(à) Sr(a) o direito de assistência integral gratuita devido a danos diretos/indiretos e imediatos/tardios decorrentes da sua participação no estudo, pelo tempo que for necessário.

Garantimos ao(à) Sr(a) a manutenção do sigilo e da privacidade de sua participação e de seus dados durante todas as fases da pesquisa e posteriormente em eventos de divulgação científica. O(a) Sr(a) terá o direito de se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem nenhum prejuízo para você.

Os dados fornecidos durante o estudo serão confidenciais e serão divulgados apenas em congressos ou publicações científicas, sempre de forma anônima, não havendo divulgação de nenhum dado que possa lhe identificar.

Caso você tenha algum gasto pela sua participação nessa pesquisa, eles serão assumidos pelo pesquisador e reembolsado para você.

Se você sofrer qualquer dano decorrente desta pesquisa, sendo ele imediato ou tardio, previsto ou não, você terá o direito de buscar indenização nas instâncias legais. (Item IV - 4.c da Resolução Nº 466 de 12/12/2012).

O(A) Sr(a). pode entrar em contato com o pesquisador responsável Vandilson Pinheiro Rodrigues a qualquer tempo para informação adicional no endereço: Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Avenida dos Portugueses, 1966, Cidade Universitária Dom Delgado, São Luís - MA, 65080-805 (Hospital Universitário - Unidade Presidente Dutra), por meio do telefone: (98) 98141-5836 ou e-mail: vandilson.rodrigues@ufma.br.

Qualquer dúvida sobre a ética dessa pesquisa você deverá ligar para o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, no telefone (98) 2109-1250, através do e-mail cep@huufma.br. Você ainda pode ir pessoalmente à sede do CEP, de segunda a sexta, das 08:00h às 12:00h e das 14:00h às 17:00h, no Hospital Universitário Presidente Dutra, Rua Barão de Itapary, nº 227, Centro, São Luís-MA. CEP: 65020-070.

Os Comitês de Ética em Pesquisa são colegiados interdisciplinares e independentes, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criados para garantir a proteção dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Este documento foi impresso em duas vias e deverá ser rubricado em todas as páginas e assinadas na última página por você ou por seu representante legal. Uma via ficará com você e a outra com o pesquisador responsável.

Consentimento Livre e Esclarecido

Após ter sido esclarecido sobre os objetivos, importância e o modo como os dados serão coletados nessa pesquisa, além de conhecer os riscos, desconfortos e benefícios que ela trará para mim e ter ficado ciente de todos os meus direitos, concordo em participar desta pesquisa, e autorizo a divulgação das informações por mim fornecidas em congressos e/ou publicações científicas desde que nenhum dado possa me identificar.

São Luís (MA), _____.

Assinatura do participante da pesquisa

Assinatura do pesquisador responsável