



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**ESTUDO TRANSVERSAL DE PROTEÔMICA SALIVAR DE CRIANÇAS COM  
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

**PEDRO HENRIQUE MOREIRA LIMA**

FORTALEZA – CE

2020

**PEDRO HENRIQUE MOREIRA LIMA**

**ESTUDO TRANSVERSAL DE PROTEÔMICA SALIVAR DE CRIANÇAS COM  
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

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

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M838e Moreira Lima, Pedro Henrique.  
Estudo transversal de proteômica salivar de crianças com diabetes mellitus tipo 1 / Pedro Henrique  
Moreira Lima. – 2020.  
75 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e  
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles.
1. Diabetes Mellitus. 2. Saliva. 3. Proteína. I. Título.

CDD 617.6

---

**ESTUDO TRANSVERSAL DE PROTEÔMICA SALIVAR DE CRIANÇAS COM  
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

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

Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles

Data de aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Bruno Anderson Matias da Rocha  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Cláudia Ferreira Santos  
Universidade Estadual do Ceará

FORTALEZA – CE

2020

*Dedico este trabalho a minha mãe, avó e  
tias pelo amor e apoio incondicionais.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por incluir pessoas especiais em minha vida, me dar forças e discernimento. Agradeço à minha mãe enormemente por todo e qualquer apoio, esforço, paciência, sacrifício, empenho e amor incondicional sempre me incentivando e motivando a buscar conhecimento e crescimento sendo sempre luz na minha vida.

Aos meus familiares, tias por sempre estarem presentes em todos os momentos.

À minha amada avó Irene pelo incentivo desde criança com os meus estudos e pela vibração com cada conquista minha.

À minha orientadora, Professora Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles, pela oportunidade de receber seus ensinamentos e pela confiança no meu trabalho, pelo incentivo diário para crescer e por todo apoio. A conclusão desta pesquisa só foi possível devido a sua fé, dedicação, esforço e empenho.

À Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro pelas contribuições e acolhida nessa colaboração. Ao professor Dr; Bruno Anderson Matias da Rocha pela permissão da realização deste trabalho nos laboratórios, além de toda contribuição e também pela aceitação do convite para compor a banca examinadora do presente trabalho.

À Dra. Cláudia Ferreira Santos, pela aceitação do convite para compor a banca examinadora do presente trabalho.

Ao Professor Dr. Fábio Vasconcelos por ter me acompanhado durante a análise laboratorial e suas contribuições.

Aos colegas Renata Asfor, César Filho, Bianca Toscano, Grisielle Mary, Rebeca Marinho, Felipe Marçal, Renata Torreão e Mateus Plutarco presentes nos momentos de conquistas, frustrações e pelo companheirismo durante esta pesquisa.

Às alunas da graduação bolsistas de iniciação à pesquisa Lallessa, Jorge, Agnes e em especial à Sara, Gabriela e Mariana, pela disponibilidade e pela importante colaboração nesta pesquisa.

A todos os meus queridos amigos, em especial Guilherme, Igor, Fred, Gustavo, Eric, Flávio, Juliana, Ylana, Isabelly, Pedryna, Larissa, Beatriz, Aline, Mariana, pelo carinho, apoio e pelo incentivo em todos os momentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia pela contribuição com meu crescimento técnico-científico.

Aos pacientes e seus responsáveis, pela confiança.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## RESUMO

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune que leva à deficiência na produção de insulina, correspondendo à doença mais prevalente na infância, incidente em crianças menores de 5 anos de idade. A saliva tem se mostrado um fluido diagnóstico de doenças sistêmicas, embora ainda sejam escassos os estudos em saliva para identificação de proteínas biomarcadoras. Nessa perspectiva, a presente dissertação objetivou analisar perfil do proteoma salivar de crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1 (compensadas e não-compensadas) e suas correlações com hemoglobina glicada (Hb A1c) e controle metabólico. Foram selecionadas 64 crianças de ambos os sexos, com idade entre 2-10 anos de idade, sendo 32 para compor os grupos compensados e descompensados (DM1-C e DM1-NC, respectivamente) e 32 controles (C) pareadas por idade e sexo. A coleta de dados ocorreu em momento único com anamnese e exames de monitoramento do diabetes (Glicemia em jejum, pós-prandial e Hb A1c), coleta de saliva, exame clínico odontológico, tratamento odontológico e posterior análise com protocolo laboratorial de mensuração de fluxo, dosagem de proteínas por método de Bradford, SDS-PAGE e espectrometria de massa para identificação de peptídeos e proteínas. Os dados foram tabulados no Excel e analisados utilizando SPSS, em seguida, usando testes paramétricos e não-paramétricos, adotou-se nível de significância de  $p \leq 0,05$ . Os resultados mostraram na população do estudo, crianças (30 meninas e 34 meninos) com idade média de  $7,28 \pm 1,87$  anos, A Hb A1c média nos pacientes diabéticos foi de  $7,91\% \pm 1,35\%$  (min-máx. 6,1%-10,3%), sendo DM1-C ( $6,7\% \pm 0,34$ ) e DM1-NC ( $9,1 \pm 0,77$ ). O fluxo salivar médio (mL/min) foi de  $0,37 \pm 0,2$  (min-máx. 0,02 e 1,02), enquanto as concentrações salivares médias de proteínas foram de  $4,23\mu\text{g}/\mu\text{L} \pm 4,3$  (min-máx. -1,48 e 15,71). As concentrações normalizadas de proteínas com base no fluxo salivar foram de  $1,9 \mu\text{g}/\mu\text{L} \pm 0,9$  (min-máx. -0,99 e 14,14). Comparação entre diabéticos e controle não demonstrou haver diferença significativa entre os grupos para as variáveis: concentrações proteicas ( $p=0,41$ ), idade ( $p=0,34$ ), fluxo ( $p=0,49$ ), concentração proteica normalizada com base no fluxo ( $p=0,07$ ), peso ( $p=0,88$ ), altura ( $p=0,36$ ). Houve uma correlação positiva de significância da concentração de proteínas em saliva com a glicose pós-prandial ( $\rho = 0,40$ ;  $p= 0,048$ ) e com a idade ( $\rho=0,32$ ;  $p=0,03$ ). Observou-se uma presença total de 18 bandas proteicas, sem diferença significativa entre presença/ausência das bandas com presença/ausência de DM1 ou DM1-C/DM1-NC. 8 Proteínas foram identificadas: cystatin-B, lysozyme C, cystatin-SN, cystatin-S, cystatin-SA, pancreatic amylase B, alpha-amylase 1, immunoglobulin heavy constant alpha 1. Em conclusão, foram observadas associações e diferenças quantitativas e qualitativas entre a saliva total de pacientes com e sem DM1, no qual a presença de determinadas bandas de proteínas associadas ao sexo, amamentação e alergia podem auxiliar na identificação de determinadas proteínas e fontes biomarcadoras.

## ABSTRACT

Type 1 diabetes mellitus (DM1) is an autoimmune disease that leads to deficiency in insulin production, corresponding to the most prevalent disease in childhood, affecting children under 5 years of age. Saliva has been shown to be a diagnostic fluid for systemic diseases, although studies on saliva for the identification of biomarker proteins are still scarce. In this perspective, the present dissertation aimed to analyze the profile of the salivary proteome of children with and without type 1 diabetes mellitus (compensated and non-compensated) and their correlations with glycated hemoglobin (Hb A1c) and metabolic control. 64 children of both sexes, aged 2-10 years old, were selected, 32 of whom were included in the compensated and decompensated groups (DM1-C and DM1-NC, respectively) and 32 controls (C) matched for age and sex. Data collection occurred in a single moment with anamnesis and diabetes monitoring exams (fasting, postprandial glycemia and Hb A1c), saliva collection, dental clinic exam, dental treatment and subsequent analysis with laboratory flow measurement protocol, protein measurement using the Bradford method, SDS-PAGE and mass spectrometry to identify peptides and proteins. The data were tabulated in Excel and analyzed using SPSS, then, using parametric and non-parametric tests, a significance level of  $p \leq 0.05$  was adopted. The results showed in the study population, children (30 girls and 34 boys) with a mean age of  $7.28 \pm 1.87$  years, the mean Hb A1c in diabetic patients was  $7.91\% \pm 1.35\%$  (min- max 6.1% -10.3%), DM1-C ( $6.7\% \pm 0.34$ ) and DM1-NC ( $9.1 \pm 0.77$ ). The mean salivary flow (mL / min) was  $0.37 \pm 0.2$  (min-max. 0.02 and 1.02), while the mean salivary protein concentrations were  $4.23 \mu\text{g} / \mu\text{L} \pm 4.3$  (min-max. -1.48 and 15.71). Normalized protein concentrations based on salivary flow were  $1.9 \mu\text{g} / \mu\text{L} \pm 0.9$  (min-max. -0.99 and 14.14). Comparison between diabetics and control showed no significant difference between groups for the variables: protein concentrations ( $p = 0.41$ ), age ( $p = 0.34$ ), flow ( $p = 0.49$ ), normalized protein concentration based on flow ( $p = 0.07$ ), weight ( $p = 0.88$ ), height ( $p = 0.36$ ). There was a positive correlation of significance in the concentration of proteins in saliva with postprandial glucose ( $\rho = 0.40$ ;  $p = 0.048$ ) and with age ( $\rho = 0.32$ ;  $p = 0.03$ ). A total presence of 18 protein bands was observed, with no significant difference between the presence / absence of bands with the presence / absence of DM1 or DM1-C / DM1-NC. 8 Proteins were identified: cystatin-B, lysozyme C, cystatin-SN, cystatin-S, cystatin-SA, pancreatic amylase B, alpha-amylase 1, immunoglobulin heavy constant alpha 1. In conclusion, quantitative and qualitative associations and differences were observed between the total saliva of patients with and without DM1, in which the presence of certain bands of proteins associated with sex, breastfeeding and allergy can help in the identification of certain proteins and biomarker sources.