



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

RENATA ASFOR ROCHA CARVALHO MARTINS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS SALIVARES, SOROLÓGICOS E
ALIMENTARES EM INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1**

FORTALEZA

2021

RENATA ASFOR ROCHA CARVALHO MARTINS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS SALIVARES, SOROLÓGICOS E
ALIMENTARES EM INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Thyciana Rodrigues Ribeiro.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane Sá Roriz Fonteles.

FORTALEZA

2021

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)

M345a Martins, Renata Asfor Rocha Carvalho.
Avaliação de parâmetros salivares, sorológicos e alimentares em indivíduos com e sem diabetes mellitus tipo 1 / Renata Asfor Rocha Carvalho Martins. – 2021.
73 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2021.
Orientação: Profa. Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro.
Coorientação: Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles.

1. Diabetes Mellitus Tipo 1 . 2. Saliva. 3. Cárie Dentária. 4. Gengiva. 5. Criança. I. Título.

CDD 617.6

RENATA ASFOR ROCHA CARVALHO MARTINS

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS SALIVARES, SOROLÓGICOS E
ALIMENTARES EM INDIVÍDUOS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Thyciana Rodrigues Ribeiro (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Luciano Pimenta Couto
Universidade Federal do Ceará *Campus* Sobral (UFC Sobral)

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva
Centro Universitário Christus (Unichristus)

Prof^a. Dr^a. Anya Pimentel Gomes Fernandes Vieira Meyer
Fundação Oswaldo Cruz Ceará (Fiocruz Ceará)

Prof^a. Dr^a. Juliana Ximenes Damasceno
Centro Universitário Christus (Unichristus)

A Deus.

Aos meus pais, Marcus e Eveline.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão maravilhoso e cuidar de todos os pequenos detalhes da minha vida. A Ele minha maior gratidão.

Aos meus maravilhosos pais, Marcus e Eveline, meus maiores ídolos e também meus maiores fãs. Eles são meus principais exemplos de fé, amor ao próximo e dedicação à família. Sei que abriram mão de muitos sonhos deles para que eu pudesse realizar os meus. Agradeço o amor e o apoio incondicionais.

Ao meu esposo, Júnior, que dá leveza aos meus dias, pelo amor, pelo companheirismo e pelo bom humor diário que me dá descanso nos dias difíceis.

Aos meus irmãos, Germana, Marquinhos e Fernanda, por serem irmãos no sentido mais verdadeiro da palavra, com quem andarei de mãos dadas por toda a vida.

Às minhas amadas Sia, Vovó Zélia, Titimar e Dadá pelo amor e por me ensinarem tanto.

Aos meus amigos, em especial Olga e Marina, que se fizeram presentes ao longo de toda essa caminhada, sempre com palavras e gestos de amor e encorajamento.

À minha orientadora, Professora Dra. Thyciana Rodrigues Ribeiro, por ter sido uma inspiração ao longo de todos os anos trabalhando juntas. Por ter acreditado em mim e no meu trabalho, sempre com uma palavra de incentivo e conforto. Agradeço por todos os momentos de apoio e dedicação em cada fase dessa pesquisa.

À Professora Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles, por quem tenho imensa admiração, pelo acolhimento e pelos ensinamentos. Minha gratidão por todo esforço para a conclusão deste e de muitos outros trabalhos.

Aos Professor Dr. Fábio Wildson Gurgel Costa, que tanto admiro, por toda colaboração e dedicação no desenvolvimento de um dos capítulos dessa tese. Sou muito grata por todos os ensinamentos.

Aos Professores Dr. Francisco Samuel Rodrigues Carvalho e Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva pela contribuição neste trabalho e pela disponibilidade em muitos momentos.

A todos os amigos da pós-graduação e, em especial, César Filho, Felipe Marçal e Henrique Moreira pela amizade e pelo companheirismo.

À Sara Maria Silva, minha fiel companheira, por toda contribuição e dedicação em todas as fases desta pesquisa. Obrigada por ouvir minhas dores e se empenhar em curá-las.

Aos Titulares e Suplentes da banca de pré-defesa e defesa, pela disponibilidade e pelo apoio.

Ao Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão e ao Hospital Universitário Walter Cantídio pelo acolhimento e pela disponibilidade para a realização desta pesquisa.

Aos Professores Dr. Manassés Claudino Fonteles e Dra. Cláudia Ferreira Santos pela colaboração.

Aos pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e familiares que acreditaram na seriedade da nossa pesquisa. Agradeço a confiança.

À CAPES e à FUNCAP pelo apoio financeiro.

RESUMO

A presente tese tem seus objetivos divididos em dois capítulos. O capítulo 1 objetivou, através de uma revisão sistemática com meta-análise, investigar se o diabetes mellitus tipo 1 (DM1) promove alterações de níveis salivares de imunoglobulinas (Ig) A, G e M quando comparado a indivíduos sem a doença. A estratégia de busca foi realizada em oito bases de dados e literatura cinzenta, sendo selecionados nove estudos. Pacientes diabéticos apresentaram redução significativa do fluxo salivar ($p=0,0008$; d de Cohen = $-0,19$, CI 95% = $-0,33$, $-0,05$), mas não significativo o suficiente para modificar a concentração de IgA ($p=0,120$; d de Cohen = $0,58$, CI 95% = $-0,15$, $1,32$). No entanto, o DM1 aumentou a concentração de IgA através da redução do fluxo salivar (d de Cohen = $0,84$; IC 95% = $0,36$, $1,32$), com uma forte estimativa de efeito ($p=0,0006$). Em relação ao IgG, nenhuma alteração significativa foi observada com DM1 na saliva dos pacientes ($p=0,420$). Não houve variação significativa nos níveis de IgM salivar ($p=0,300$). O capítulo 2 teve como objetivo avaliar a associação entre os parâmetros salivares: glicose (GS), fluxo, pH e concentração de proteínas; as glicemias em jejum e pós-prandial; a hemoglobina glicada; os índices de cárie (IC), placa (IP) e sangramento gengival (IS); e a dieta em crianças com (CDM1) e sem (SDM1) DM1. Os grupos CDM1 e SDM1 foram compostos por 36 e 49 pacientes, respectivamente, pareados quanto a sexo e idade. Para avaliação de IC, IP e IS foi realizado o exame clínico. O padrão alimentar foi obtido através do diário de dieta referente às 24 horas anteriores à consulta. Saliva total não estimulada foi coletada. Concentração de proteínas salivares foi analisada pelo método do ácido bicinonínico. Utilizou-se os testes de Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney e Spearman, sendo considerado $p<0,05$ e software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®). GS, IC, IP e IS foram submetidos ao modelo de regressão linear múltipla. Não houve diferença de fluxo salivar médio ($p=0,649$), IC ($p=0,868$), IP ($p=0,618$) e concentração de proteínas ($p=0,712$). CDM1 apresentou menores IS ($p=0,031$) e pH ($p<0,001$), maiores valores para número médio de refeições ($p<0,001$) e refeições à base de carboidratos ($p<0,001$), menor média dos intervalos ($p<0,001$) e maior GS ($p=0,036$). Glicose salivar foi diretamente correlacionada com glicemia em jejum ($p=0,043$) em CDM1 e mostrou colinearidade positiva com contagem de fibras ($p=0,018$) e glicose em jejum ($p=0,048$). No grupo CDM1, o sexo feminino ($p=0,033$) foi significativamente associado ao índice de placa, enquanto o número de refeições com sacarose mostrou colinearidade inversa com esse parâmetro ($p=0,046$) e o pH ($p=0,034$) mostrou colinearidade direta. O índice de sangramento mostrou colinearidade direta com a idade ($p=0,043$) e com a glicemia pós-prandial ($p=0,023$). Concluiu-se, então, que a glicose salivar não mostrou associação com as demais

variáveis em SDM1, mas com a glicemia em jejum e a dieta em CDM1. Diante disso, futuros estudos são necessários para ratificar o uso de glicose salivar no diagnóstico precoce e no monitoramento do DM1. Portanto, os achados da presente pesquisa sugerem que mais estudos com métodos de amostragem de saliva semelhantes sejam realizados.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus Tipo 1. Saliva. Dieta. Cárie Dentária. Gengiva. Criança.

ABSTRACT

The present thesis has objectives divided into two chapters. Chapter 1 aims, through a systematic review with meta-analysis, to investigate whether diabetes mellitus type 1 (DM1) promotes changes in salivary levels of immunoglobulins (Ig) A, G and M when compared to that in individuals without DM1. The search strategy was performed in eight databases and gray literature, with nine studies being selected. Diabetic patients had a significant reduction in salivary flow ($p=0.0008$; Cohen's $d = -0.19$, 95% CI= $-0.33, -0.05$), but not significant enough to modify the IgA concentration ($p=0.120$; Cohen's $d = 0.58$, 95% CI = $-0.15, 1.32$). However, DM1 increased IgA concentration by reducing salivary flow (Cohen's $d = 0.84$; 95% CI = $0.36, 1.32$), with a strong estimate of effect ($p=0.0006$). Regarding IgG, no significant change was observed with DM1 in the patients' saliva ($p=0.420$). There was no significant variation in salivary IgM levels ($p=0.300$). Chapter 2 aimed to evaluate the association between salivary parameters: glucose (SG), flow, pH and proteins concentration; fasting and postprandial blood glucose; glycated hemoglobin; caries (CI), plaque (PI) and gingival bleeding (BI) indexes; and diet in children with (CDM1) and without (SDM1) DM1. The CDM1 and SDM1 groups were composed of 36 and 49 patients, respectively, matched for sex and age. For the evaluation of CI, PI and BI, a clinical examination was performed. The dietary pattern was obtained through the diet diary for the 24 hours prior to the appointment. Unstimulated total saliva was collected. Salivary protein concentration was analyzed by the bicinchoninic acid method. The Kolmogorov-Smirnov, Mann-Whitney and Spearman tests were used, considering $p<0.05$ and Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) software. SG, CI, PI and BI were submitted to the multiple linear regression model. There was no difference in mean salivary flow ($p=0.649$), CI ($p=0.868$), IP ($p=0.618$) and protein concentration ($p=0.712$). CDM1 had lower BI ($p=0.031$) and pH ($p<0.001$), higher values for mean number of meals ($p<0.001$) and carbohydrate-based meals ($p<0.001$), lower mean of intervals ($p<0.001$) and higher SG ($p=0.036$). Salivary glucose was directly correlated with fasting glucose ($p=0.043$) in CDM1 and showed positive collinearity with fiber count ($p=0.018$) and fasting glucose ($p=0.048$). In the CDM1 group, female gender ($p=0.033$) was significantly associated with plaque index, while the number of meals with sucrose showed inverse collinearity with this parameter ($p=0.046$) and pH ($p=0.034$) showed direct collinearity. The bleeding index showed direct collinearity with age ($p=0.043$) and with postprandial blood glucose ($p=0.023$). It was concluded, then, that salivary glucose was not associated with the other variables in SDM1, but with fasting glucose and diet in CDM1. Future studies are needed to confirm the use of salivary

glucose in the early diagnosis and monitoring of DM1. The findings of the present research suggest that more studies with similar saliva sampling methods would be carried out.

Keywords: Diabetes Mellitus Type 1. Saliva. Diet. Dental Caries. Gingiva. Child.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A1c	Hemoglobina Glicada
BCA	Método do Ácido Bicinconínico
CDM1	Com Diabetes Mellitus Tipo 1
CIDH	Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
GRADE	<i>Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation</i> (Sistema desenvolvido para graduar a qualidade das evidências e a força das recomendações em saúde)
GS	Glicose Salivar
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IC	Índice de Cárie
IP	Índice de Placa
IS	Índice de Sangramento
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i> (Itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises)
PROSPERO	<i>Prospective Register of Systematic Reviews</i> (Registro prospectivo de revisões sistemáticas)
SDM1	Sem Diabetes Mellitus Tipo 1
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i> (Pacote estatístico para ciências sociais)
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TOTG	Teste Oral de Tolerância à Glicose
UFC	Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO GERAL.....	12
II PROPOSIÇÃO	16
III CAPÍTULOS	17
CAPÍTULO 1.....	18
Salivary immunoglobulins (A, G, and M) in type 1 diabetes mellitus patients: A PROSPERO-registered systematic review and meta-analysis	18
CAPÍTULO 2.....	30
Avaliação de parâmetros salivares, plasmáticos, nutricionais, gengivais e de experiência de cárie em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1	30
IV CONCLUSÃO GERAL.....	59
REFERÊNCIAS	60
ANEXO A – REGIMENTO INTERNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA.....	64
ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	65

I INTRODUÇÃO GERAL

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune, de caráter multifatorial, resultante da destruição das células β pancreáticas, ocasionando deficiência completa na produção de insulina e dependência de insulina exógena ao longo da vida (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2021). As causas desse processo de destruição ainda são imprecisas, mas sugere-se uma combinação de suscetibilidade genética e fatores ambientais, como alguns fatores dietéticos, infecções virais e toxinas (YOU; HENNEBERG, 2016). A prevalência de DM1 está em crescimento e, atualmente, corresponde a um índice de 5 a 10% de todos os casos de diabetes mellitus (DM). Essa doença afeta igualmente homens e mulheres e é regularmente diagnosticada em crianças, adolescentes e adultos jovens (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019).

Em 2019, estimou-se que aproximadamente 463 milhões de pessoas no mundo tinham diabetes e presume-se que esse número chegará a 578 milhões em 2030 e 700 milhões em 2045 (INTERNACIONAL DIABETES FEDERATION, 2019). Dados preveem que, anualmente, aproximadamente 76.000 indivíduos abaixo de 15 anos de idade desenvolvem DM1 em todo o mundo, além de haver uma tendência de aumento da incidência da doença em menores de 5 anos de idade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019).

O DM1 subdivide-se em: (1) tipo 1A – confirmado pela presença de um ou mais autoanticorpos, sendo a forma mais frequente de DM1. Mesmo com sua fisiopatologia ainda não integralmente conhecida, sabe-se que envolve predisposição genética associada a fatores ambientais, como elementos dietéticos, infecções virais e determinadas composições da microbiota intestinal, que estimulam a resposta autoimune; (2) tipo 1B – denominado idiopático. Nesses casos, não há detecção de autoanticorpos circulantes, o que pode contribuir para um conflito de diagnóstico com outros tipos de DM (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019). Além do DM1, há outras classificações de diabetes mellitus: diabetes mellitus tipo 2 (progressiva diminuição da secreção insulínica); e tipos específicos de diabetes envolvendo outras causas, como doenças do pâncreas exócrino, induzido por medicamentos ou agentes químicos e diabetes gestacional (diagnosticado no segundo ou terceiro trimestre de gravidez sem ter sido previamente detectada) (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2021).

O diagnóstico do DM se dá através dos seguintes valores em exames laboratoriais: glicemia em jejum $\geq 126\text{mg/dL}$; glicose plasmática de 2h, durante um teste oral de tolerância à glicose de 75g (TOTG) $\geq 200\text{mg/dL}$; hemoglobina glicada (A1c) $\geq 6,5\%$ e glicose ao acaso \geq

200 com sintomas inequívocos de hiperglicemia (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019). A menos que haja um diagnóstico clínico claro (crise hiperglicêmica ou sintomas clássicos de hiperglicemia e glicose plasmática aleatória ≥ 200 mg/dL), o diagnóstico de diabetes requer dois resultados de teste anormais (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2021).

A apresentação inicial da doença se dá através de poliúria, polidipsia, boca seca, falta de energia, perda de peso súbita e visão embaçada (LARGAY, 2012). Em situações mais graves, o paciente pode apresentar um quadro de cetoacidose, resultado do excesso de glicose e cetona no sangue, gerando desidratação severa e perda de eletrólitos. Se não tratada, a cetoacidose diabética pode levar a edema cerebral, ao coma e até à morte (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019).

Uma dieta saudável com alimentos em quantidades e proporções adequadas à idade e ao estágio de crescimento geram grandes benefícios às crianças com diabetes, uma vez que fornece a ingestão de energia e nutrientes adequados, favorece o controle glicêmico, previne os episódios de hipo e hiperglicemia e reduz o risco de complicações micro e macrovasculares (SMART; ASLANDER-VAN VLIET; WALDRON, 2009). Com o objetivo de realizar o controle glicêmico e permitir flexibilidade nas escolhas alimentares, os pacientes são orientados a fazer a contagem de carboidratos, que é um planejamento de refeições que foca no carboidrato como nutriente primário que afeta a resposta glicêmica pós-prandial (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). Esse registro pode ser feito através de um registro ou diário alimentar, que fornece informações sobre a ingestão de todos os alimentos e bebidas consumidos durante um determinado período (DOICHINOVA; BAKARDJIEV; PENEVA, 2015).

Evidências mostram a importância do controle glicêmico em pacientes com DM1 ao relatarem sua relação com a redução no desenvolvimento de complicações microvasculares, como retinopatias, nefropatias e neuropatias. Adolescentes apresentam maior dificuldade de estabelecer o controle glicêmico em comparação com adultos, apresentando elevados níveis de A1c, e maior suscetibilidade aos episódios de hipoglicemia grave (DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP, 1993).

O tratamento para crianças e adolescentes consiste em uma tríade: múltiplas injeções de insulina diariamente, alimentação saudável e atividade física regular

(INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017). Em crianças de 2 a 5 anos de idade, o controle glicêmico adequado é usualmente difícil de ser atingido, possivelmente devido às variações na alimentação diária e na atividade física (KIESS et al., 1998). Diretamente envolvida nesse controle glicêmico está a insulina, que é o mais potente hormônio anabólico e exerce um papel fundamental no desenvolvimento de tecidos, no crescimento e na regulação da homeostase da glicose em todo o corpo, além de influenciar o metabolismo de lipídios, aumentando a síntese lipídica no fígado e nas células de gordura (PESSIN; SALATIEL, 2000).

O DM1, assim como outras doenças com repercussão sistêmica, afeta a função das glândulas salivares, comprometendo a quantidade e a qualidade de saliva produzida (LIMA-ARAGÃO et al., 2016). Alterações salivares são encontradas em pacientes diabéticos, especialmente naqueles que possuem baixo controle metabólico, e influenciam no desenvolvimento, nos sintomas e na severidade de muitas doenças da cavidade oral (NEGRATO; TARZIA, 2010). Ao ser comparada com a saliva de pacientes saudáveis, a saliva de diabéticos apresenta algumas diferenças qualitativas e quantitativas, como: redução do pH salivar e da capacidade tampão (MOREIRA et al., 2007) e níveis elevados de glicose, carboidratos e proteínas totais (LÓPEZ et al., 2003; SIUDIKIENE et al. 2008), assim como de IgA e IgG (JAVED et al., 2009; SIUDIKIENE et al., 2008; TENOVUO et al., 1986).

A utilização da saliva como meio diagnóstico tem sido amplamente difundida devido à facilidade de coleta, ao menor risco de contaminação para o profissional durante o manuseio do fluido, ao fácil armazenamento e ao baixo custo quando comparada à coleta de sangue (MOURA et al., 2007). Em pacientes diabéticos, a saliva tem sido estudada para análise de fluxo salivar estimulado (BELAZI et al. 1998; ROSA; ROCHA; LOPES, 1993; TENOVUO et al. 1986) e não estimulado (BEN ARYEH et al., 1993; MOORE et al., 2001), glicose (LOPEZ et al., 2003), pH (LOPEZ et al., 2003; MOREIRA et al., 2009), composição proteica (AYDIN, 2007; CABRAS et al., 2010) e imunoglobulinas (MALICKA; KACZMAREK; SKOSKIEWICZ-MALINOWSKA, 2015).

A análise de imunoglobulinas na saliva vem sendo estudada em diversas populações portadoras de diferentes tipos de hepatite (DAMASCENO et al., 2018; SINGH et al., 2016), COVID-19 (ISHO et al., 2020; LI et al., 2021; MACMULLAN et al., 2021), insuficiência renal crônica (PALLOS et al., 2015), leucemia linfoblástica aguda (PROC et al., 2020), ansiedade (MA; SERBIN; STACK, 2018), entre outras. Pesquisas que relacionam DM1 e imunoglobulinas salivares abordam diferentes metodologias e revelam diferentes desfechos (BELAZI et al., 1998; BEN-ARYEH et al. 1993; MALICKA; KACZMAREK; SKOSKIEWICZ-MALINOWSKA, 2015; ROSA; ROCHA; LOPES, 1993; TENOVUO et al.

1986). Reforçando a controvérsia desses resultados, Martins et al. (2021) observaram que pacientes com DM1 apresentavam redução significativa do fluxo salivar não estimulado e que a concentração salivar de IgA, IgG e IgM não pareceu alterada nesses indivíduos quando comparada a controles saudáveis. Contudo, eles também verificaram aumento nos níveis salivares de IgA dependente da estimativa de proteína total e devido a uma redução no fluxo salivar. Tais achados destacaram a carência de estudos bem delineados, com base em metodologias padronizadas.

Tendo em vista a escassez de estudos pareados entre pacientes com e sem DM1, a presente tese tem por objetivo aprimorar o conhecimento a respeito das características inerentes aos pacientes com a doença e comparar aos saudáveis para esclarecer questões do DM1 ainda incompreendidas.

II PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente trabalho foram:

Objetivo geral

Avaliar transversalmente dados sobre padrões alimentares, salivares e plasmáticos, experiências de cárie e doenças periodontais em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1.

Objetivos específicos

- Verificar se há na literatura associação entre níveis salivares de imunoglobulinas (A, G e M) e DM1;
- Avaliar a associação entre glicose, fluxo, pH e concentração de proteínas salivares; glicemia em jejum e pós-prandial; hemoglobina glicada; índices de cárie, placa e sangramento gengival; dieta; e características socioeconômicas em crianças com e sem DM1.

III CAPÍTULOS

Esta tese está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado, e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato (Anexos A). Parte dela, por se tratar de estudo envolvendo seres humanos, foi submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará e aprovada (protocolo número 1.020.102) (Anexo B). Assim sendo, esta tese é composta de dois capítulos, conforme descrito abaixo:

Capítulo 1 (publicado): Salivary immunoglobulins (A, G and M) in type 1 diabetes mellitus patients: A PROSPERO-registered systematic review and meta-analysis

Revista: Archives of Oral Biology*

Renata Asfor Rocha Carvalho Martins, Fábio Wildson Gurgel Costa, Sara Maria Silva, Paulo Goberlânio de Barros Silva, Francisco Samuel Rodrigues Carvalho, Cristiane Sá Roriz Fonteles, Thyciana Rodrigues Ribeiro

Capítulo 2 (será submetido à publicação): Avaliação de parâmetros salivares, plasmáticos, nutricionais, periodontais e de experiência de cárie em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1

Revista: Pediatric Diabetes**

Renata Asfor Rocha Carvalho Martins, Sara Maria Silva, Paulo Goberlânio de Barros Silva, Cláudia Ferreira Santos, Ana Paula Dias Rangel Montenegro, Adriana Costa e Forti, Fábio Wildson Gurgel Costa, Cristiane Sá Roriz Fonteles, Thyciana Rodrigues Ribeiro

Normas das Revistas:

* <https://www.elsevier.com/journals/archives-of-oral-biology/0003-9969/guide-for-authors>

** <https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/13995448/homepage/forauthors.html>

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Archives of Oral Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/archoralbio

Review

Salivary immunoglobulins (A, G, and M) in type 1 diabetes mellitus patients: A PROSPERO-registered systematic review and meta-analysis

Renata Asfor Rocha Carvalho Martins^{a,1}, Fábio Wildson Gurgel Costa^{a,1,*}, Sara Maria Silva^a, Paulo Goberlanio de Barros Silva^b, Francisco Samuel Rodrigues Carvalho^c, Cristiane Sá Roriz Fonteles^a, Thyciana Rodrigues Ribeiro^{a,*}

^a Department of Clinical Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Ceará, Rua Monsenhor Furtado, s/n, Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-160, Fortaleza, Ceará, Brazil

^b Division of Oral Pathology, UNICHRISTUS, Rua João Adolfo Gurgel, 133, Cocô, CEP: 60190-180, Fortaleza, Ceará, Brazil

^c Division of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Federal University of Ceará Campus Sobral, Rua Conselheiro José Júlio, S/N, Centro, CEP: 62010-820, Sobral, Ceará, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Immunoglobulin A
Immunoglobulin G
Immunoglobulin M
Saliva
Diabetes mellitus
Type 1

ABSTRACT

Objective: To assess the difference in the salivary levels of immunoglobulins between patients with type 1 diabetes mellitus (DM1) and healthy controls.

Design: This systematic review was registered on the PROSPERO (CRD42020159198) database. All references were cross-checked and the risk of bias assessment was conducted using the Newcastle-Ottawa Scale. The Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) approach was used to appraise the quality of evidence. The standardized mean difference and Cohen's *d* as the effect size were used in the meta-analysis. I-square statistics was used to estimate heterogeneity. Analysis was performed using the RevMan® software ($p < 0.05$) with a 95 % confidence interval.

Results: Of the total 92 articles, 9 were selected for this study. The meta-analysis included 333 DM1 patients and 325 healthy controls. DM1 patients showed a significant reduction in salivary flow ($p = 0.0008$; Cohen's $d = -0.19$, CI 95 % = $-0.33, -0.05$), although not significant enough to modify the IgA concentration ($p = 0.120$; Cohen's $d = 0.58$, CI 95 % = $-0.15, 1.32$). However, DM1 increased IgA concentration by reducing salivary flow (Cohen's $d = 0.84$; CI 95 % = $0.36, 1.32$), with a strong estimate of effect ($p = 0.0006$). Regarding IgG, no significant change was noted with DM1 in the patient's saliva ($p = 0.420$). Furthermore, there was no significant variation in the salivary IgM levels ($p = 0.300$).

Conclusions: The data suggest that the salivary levels of the evaluated immunoglobulins do not seem to be altered in DM1 patients when compared to that in healthy controls. However, the increase in IgA salivary concentration was dependent on total protein estimation.

1. Introduction

Type 1 diabetes mellitus (DM1) is an autoimmune disease characterized by the progressive inability to produce endogenous insulin due to partial or total destruction of pancreatic islet β cells (American Diabetes Association, 2019). DM1 accounts for 5–10 % of diabetes patients

worldwide, mainly affecting children and adolescents (Atkinson, Eisenbarth, & Michels, 2014; Daneman, 2006).

DM1 can be subdivided into types 1A (autoimmune) and 1B (idiopathic), depending on the presence or absence of circulating autoantibodies, respectively (Atkinson et al., 2014; Daneman, 2006). Type 1A accounts for most of the DM1 cases, and its pathophysiology involves

Abbreviations: DM1, type 1 diabetes mellitus; GRADE, grading of recommendations, assessment, development, and evaluation; SMD, standardized mean difference; NOS, Newcastle-Ottawa Scale; RoB, risk of bias.

* Corresponding authors at: Department of Clinical Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Ceará, Rua Monsenhor Furtado, s/n, Rodolfo Teófilo, CEP: 60430-160, Fortaleza, Ceará, Brazil.

E-mail addresses: asfor.renata@gmail.com (R.A.R.C. Martins), fabiowildson@ufc.br (F.W.G. Costa), sara.maria2808@alu.ufc.br (S.M. Silva), paulo_goberlanio@yahoo.com.br (P.G.B. Silva), samuelpcarvalho@ufc.br (F.S.R. Carvalho), cfontele@ufc.br (C.S.R. Fonteles), thyciana.ribeiro@ufc.br (T.R. Ribeiro).

¹ These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.105025>

Received 22 August 2020; Received in revised form 28 November 2020; Accepted 6 December 2020

Available online 8 December 2020

0003-9969/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

both environmental and genetic factors. Type 1B, on the other hand, has no apparent cause. However, both subtypes have no differences in treatment and possible acute and chronic complications (American Diabetes Association, 2019). When not controlled in the long run, insulin deficiency causes extensive and irreversible damage to the kidneys, eyes, nerves, large and small vessels, and the blood clotting process (International Diabetes Federation, 2019).

Blood is a liquid tissue formed by different cell types, including antibodies called immunoglobulins, suspended in plasma. Immunoglobulins are glycoprotein molecules produced by B lymphocytes in a "Y" form, and are responsible for identifying, binding, and neutralizing foreign organisms and substances such as bacteria, viruses, fungi, toxins, and allergens (Tiller & Tessier, 2015). Currently, there are five classes of immunoglobulin isotypes known in mammals, namely IgA, IgD, IgE, IgG, and IgM (Tiller & Tessier, 2015). Blood IgA deficiency is observed in DM1 individuals and is usually accompanied by normal or increased serum levels of IgG and IgM (Hong & Ammann, 1989; Landgraf, Rosário, Moura, Wells, & Figueiredo, 2008).

Saliva is an aqueous fluid consisting of secretory products (organic and inorganic) from the salivary glands and other substances from the oropharyngeal mucosa, upper airways, gastrointestinal reflux, gingival sulcus fluid, food debris, and blood-derived components. It is responsible for multiple functions, such as digestion, buffer, remineralization, lubrication, and protection (Malathi, Mythili, & Vasanthi, 2014). The current consensus is that almost everything that can be measured in blood is also measurable in the saliva (Javaid, Ahmed, Durand, & Tran, 2016).

Throughout the day, fluctuations in salivary variables, such as the flow rate and the concentration of the different components, are influenced by the circadian rhythm (Brandão, Soares, Mateus, & de Freitas, 2014; Damasceno et al., 2018; Dawes, 1975; Ferguson & Botchway, 1979). Therefore, its recognition as a valuable medical data source is important.

Systemic diseases such as DM1 can compromise salivary gland function and consequently influence the quantity and quality of the saliva produced (Mata et al., 2004; Tenovuo et al., 1986). Reduced salivary flow and higher concentrations of glucose, urea, and total proteins, have also been frequently reported (Belazi, Galli-Tsinopoulou, Drakoulakos, Fleva, & Papanayiotou, 1998; Ben-Aryeh, Cohen, Kanter, Szargel, & Laufer, 1988; Busato, de Antoni, Calcagnotto, Ignácio, & Azevedo-Alanis, 2016; Khayamzadeh et al., 2017; López et al., 2003; Pappa, Vastardis, & Rahiotis, 2020; Shahbaz et al., 2014; Shahbaz, Katti, Khan, & Pawar, 2017).

Elevated levels of immunoglobulin have been strongly associated with the development and progression of inflammatory diseases such as diabetes (Parizi, Akbari, Malek-Mohamadi, Parizi, & Kakoei, 2019). Nieminen, Kari, and Saxen (1993) demonstrated that the titers of salivary antibodies correlated directly with the titers of serum antibodies, which reinforces the importance of assessment of these biomarkers in saliva samples from diabetic subjects.

Of clinical importance, immunoglobulins seem to influence oral health, as they interfere with microbial adherence or inhibit the cellular metabolism of pathogens (Naiff, Orlandi, & Santos, 2012). In patients who develop diabetes mellitus, there is an increased susceptibility to infections; therefore, they also become more susceptible to periodontal disease (Grossi et al., 1997). The imbalance in the production or secretion of immunoglobulins in these systemically compromised individuals alters mucosal defenses against specific microorganisms, such as *A. actinomycetemcomitans*, which increases susceptibility to periodontal disease (Gomes et al., 2006). Chronic periodontitis patients have demonstrated both higher mean serum and salivary levels of IgA against *A. actinomycetemcomitans* (Gadekar et al., 2018) and a strong association between saliva-related quantities of this pathogen and the concentration of this immunoglobulin (Isola et al., 2020; Liljestrand et al., 2014). Furthermore, it has been shown that the IgA-mediated salivary response against *A. actinomycetemcomitans* can be targeted in diabetic individuals

with periodontitis (Bachrach et al., 2008).

Previous studies have analyzed the presence and quantity of salivary immunoglobulins in different systemic diseases (Damasceno et al., 2018; Del Roio Liberatore et al., 2005; Pels, 2017). In the field of DM1, some investigations have shown controversial results regarding the quantification of IgA, IgG, and IgM from saliva samples. When compared with non-diabetic patients, data from individual studies have shown increased levels of IgA (Belazi et al., 1998; Ben-Aryeh, Serouya, Kanter, Szargel, & Laufer, 1993; Malicka, Kaczmarek, & Skośkiewicz-Malinowska, 2015; Tenovuo et al., 1986; Yavuzylmaz et al., 1996) and IgG (Javed, Sundin, Altamash, Klinge, & Engström, 2009; Tenovuo et al., 1986) in DM1 individuals and non-significant differences in IgA (Ahmadiashar, Mohsenifard, & Mazloomzadeh, 2015; Ben-Aryeh et al., 1988; Javed et al., 2009; Rosa, Rocha, & Lopes, 1993), IgM (Rosa et al., 1993; Tenovuo et al., 1986), and IgG (Belaziet al., 1998; Rosa et al., 1993) between both groups (DM1 versus non-diabetic subjects). In this scenario, considering the role of immunoglobulins in the pathogenesis of several oral diseases that could affect individuals with type 1 diabetes, it is reasonable to synthesize the published data regarding the levels of immunoglobulins in saliva from DM1 subjects compared to healthy patients as well as analyze the certainty of evidence through a systematic review approach.

The present study hypothesizes that saliva from DM1 patients shows altered concentrations of IgA, IgG, and IgM. Therefore, the objective of this systematic review was to summarize the existing evidence from primary studies in order to answer the following question: Does DM1 alter the levels of salivary immunoglobulins (A, G, and M) when compared to that in individuals without DM1?

2. Materials and methods

The present systematic review was performed following seven main phases: protocol registration, information sources and search strategy, study selection, data collection process, data analysis, risk of bias evaluation, confidence in cumulative evidence, and synthesis of the results. The process of article selection and conduction of this research did not require ethical approval since this review did not directly involve human subjects and was based on an analysis of published studies.

2.1. Study design, protocol, and registration

This study evaluated the salivary immunoglobulins in patients with DM1 and followed "Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses" (PRISMA) (Moher, Liberati, Tetzlaff, & Altman, 2009). This systematic review was registered at the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) with the protocol number CRD4202159198.

2.2. Inclusion and exclusion criteria

Studies that focused on the salivary immunoglobulins in human DM1, without any language or year of publication restrictions, were selected for data analysis. Investigations were excluded for any of the following reasons: (1) letters to the editor, (2) author's personal opinions, (3) reviews, (4) book chapters, (5) meeting abstracts, (6) unavailable full texts, (7) patients with syndromes, craniofacial abnormalities, and medical impairments, (8) absence of data related to DM1, and (9) studies not written in Latin (Roman) alphabet. During the article selection process, studies were included regardless of the age at which diabetes was diagnosed since there is evidence in the literature that DM1 can be diagnosed late in adulthood (Maahs, West, Lawrence, & Mayer-Davis, 2010; Merger, Leslie, & Boehm, 2013; Thomas et al., 2018).

2.3. Information sources and search strategy

Individual searches were performed on the PubMed, Scopus, Web of Science, COCHRANE, LILACS, and DOSS databases. A partial gray literature search was also performed using Google Scholar, ProQuest, and OpenGrey. Combinations of words were appropriately selected for each database, as illustrated in Supplementary file 1. The search included all articles published up to June 2020, with no time or language restrictions. Duplicate studies were identified using EndNote X8® (Thompson Reuters, New York, NY).

2.4. Study selection

The study selection was performed using a two-phase process. Phase 1 involved screening the titles and abstracts of each study by two independent reviewers (RARCM and FWGC), using a web application for systematic reviews (Rayyan®, Qatar Computing Research Institute, Doha, Qatar) (Ouzzani, Hammady, Fedorowicz, & Elmagarmid, 2016). Articles that did not fulfill the inclusion criteria were excluded. Phase 2 comprised full reading of the studies from Phase 1 by the same two reviewers (RARCM and FWGC). Any disagreements between the observers were resolved by discussion with a third author (TRR).

2.5. Data collection process

Data were extracted by one author (SMS). A second author (FSRC) cross-checked all the information to verify the quality of the data. In cases of disagreement between the authors who participated in this process, a third author (TRR) made the final decision.

The following information was obtained from the selected studies: author(s), publication year, country, methodological design, saliva collection (method, origin, stimulation, time, inhibitor, flow rate), participants (sample size, sex, and age), DM1 findings (diagnosis time, use of glucose-lowering drugs, glycemic control aspects, and associated comorbidities), immunoglobulins (laboratory method and concentration), and the main conclusions.

2.6. Data analysis

The meta-analysis of the salivary flow was conducted using the differences between the means. Since they were not on the same scale, the immunoglobulin concentrations were included in the meta-analysis with the standardized mean difference (SMD) and Cohen's *d* values. To calculate Cohen's *d*, which is a useful approach to standardize the effect size from measurements made at different scales, it is necessary to divide the mean difference by the standard deviation of the difference related to each study and evaluated parameters.

For both cases, the random-effects and inverse variance methods were used because the studies were non-clinical trials (fixed effects) and non-standardized in the same parameters. The coefficient I^2 , which allows for the discrepancy between the results of the evaluated studies, was used to estimate the heterogeneity. Additionally, a subgroup analysis was performed for unstimulated vs. stimulated saliva, and one-of-out analysis was performed by removal of study-to-study to verify the weight of each study in the meta-analysis.

The analysis was performed using RevMan® software ($p < 0.05$) with a 95 % confidence interval.

2.7. Risk of bias in individual studies

This analysis aimed to evaluate the risk of biased results and identify potential systematic or random errors that could occur when conducting each included study. Therefore, the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) was used to appraise the methodologic quality-based risk of bias (RoB) of the included studies. This tool attributes scores (currently represented by a star) based on a point system among the three main domains: selection

(maximum of one point per item), comparability (maximum of two points considering both items), and exposure (maximum of one point per item). According to Pereira, Mata, Figueiredo, Silva, and Pereira (2019), the cut-off point to classify the study quality as "low" (high RoB) is ≤ 3 . Moderate (moderate RoB) and high (low RoB) quality studies received 4–6 and 7–9 points, respectively. This analysis was performed to evaluate biased results and identify systematic or random errors in the execution of the included studies.

2.8. Quality of the evidence

Grading of Recommendations, Assessment, Development, and Evaluation (GRADE) recommendation was used to evaluate the quality of evidence. This assessment is based on the reliability of an estimate of effect or association, reflecting the item being assessed (Schünemann, Brozek, Guyatt, & Oxman, 2013). The GRADE profiler condenses the evidence quality using GRADE pro-GDT software (<http://gdt.guideline-development.org>). One or two levels downgrade the quality of the evidence for each evaluated characteristic, depending on the seriousness of some features such as study design, RoB, consistency (i.e., assessment of differences in the estimated size of an intervention's effect from the included primary studies), directness (i.e., use of surrogate outcomes), heterogeneity, precision (i.e., random error based on confidence interval analysis), bias related to publications (i.e., a tendency to publish studies with statistically significant results), and other characteristics reported by studies included in the systematic review. This analysis was performed to score the level of evidence of this systematic review, which is very important to check how close the findings are to the highest level of evidence and how much of the results can be considered as "true".

3. Results

3.1. Study selection

Initially, a total of 92 articles were found from the six primary electronic databases (PubMed, Scopus, Web of Science, COCHRANE, LILACS, and DOSS) in addition to the three databases for gray literature (Google Scholar, ProQuest, and OpenGrey). After removing the duplicates, 73 studies were selected for further reading of the titles and abstracts, 11 of which were then read in full to assess their eligibility according to the criteria. Two articles were excluded as they did not include enough data to identify patients with DM1.

3.2. Characterization of the included studies

Nine studies that fulfilled the inclusion criteria were included in this systematic review. A flowchart of the identification, screening, and inclusion process is depicted in Fig. 1. The selected studies ($n = 9$) assessed populations from different countries: Finland (Tenovuo et al., 1986), Brazil (Rosa et al., 1993), Israel (Ben-Aryeh et al., 1988, 1993), Greece (Belazi et al., 1998), Turkey (Yavuzylmaz et al., 1996), Pakistan (Javed et al., 2009), Iran (Ahmadiashar et al., 2015), and Poland (Malicka et al., 2015), totaling 658 patients (DM1 333, control 325). Considering the studies that reported the number of individuals regarding sex, there were 575 subjects (DM1 288, control 287). From this total, the absolute number of males ($n = 295$) was higher than that of females ($n = 280$). The distribution of sex did not differ in the following studies: Ahmadiashar et al. (2015) ($p = 0.101$), Belazi et al. (1998) ($p = 1,000$), Ben-Aryeh et al. (1988) ($p = 0.851$), Javed et al. (2009) ($p = 0.413$), Malicka et al. (2015) ($p = 0.975$), and Tenovuo et al. (1986) ($p = 1,000$). Ben-Aryeh et al. (1993); Rosa et al. (1993) and Yavuzylmaz et al. (1996) did not analyze sex distribution. The mean age (years) ranged from 6.8–54.23 years in DM1 patients and from 10.5–40.4 years in the control group (Table 1).

According to Table 2, five investigations did not inform the use of glucose-lowering agents. Four articles mentioned the use of insulin

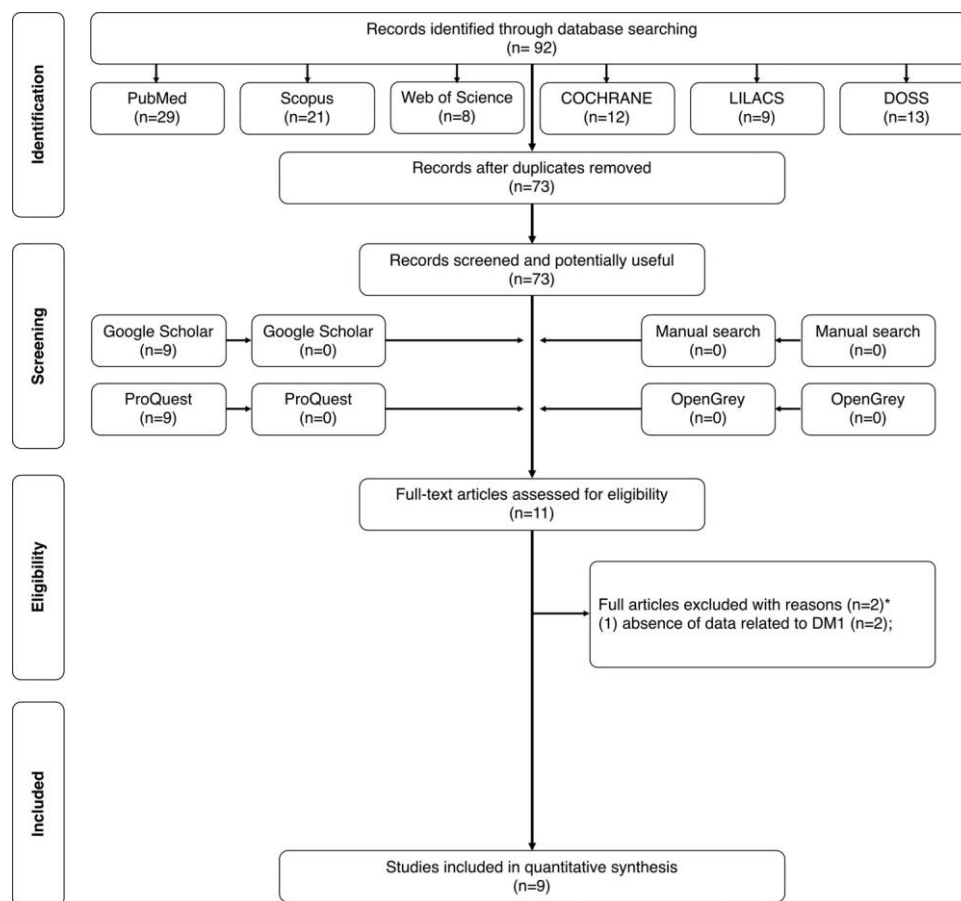


Fig. 1. Flowchart of the literature search and selection criteria. Adapted from PRISMA.

therapy, and two studies detailed its protocol. In addition, two articles categorized the metabolic control status of diabetic patients according to different cut-off points of HbA1c: 6.5 % (Javed et al., 2009) and 8.5 % (Malicka et al., 2015). Glycemic control aspects and other information from the included articles are reported in Table 2.

Of the articles included in this systematic review, only Javed et al. (2009) cited data on family history and socioeconomic status. According to these authors, 81.3 % of diabetic patients had at least one case of the disease in their family, while for subjects with low metabolic control, this number reached 100 %. Regarding family income, control group patients and diabetics with low metabolic control showed the highest and lowest mean monthly wages, respectively.

All nine studies were included in the meta-analysis, and all of them were case-control studies written in English. None of these studies used the immunoglobulins measurement as a diagnostic method; however, Ahmadiashar et al. (2015) and Belazi et al. (1998) performed bioequivalence on the plasma.

The immunoglobulin concentration in unstimulated saliva was the most used method in five studies (Ahmadiashar et al., 2015; Belazi et al., 1998; Javed et al., 2009; Malicka et al., 2015; Yavuzylmaz et al., 1996). Ben-Aryeh et al. in 1988 and 1993 performed a simultaneous analysis of the unstimulated and stimulated saliva (submandibular and parotid, respectively), and Tenovuo et al. (1986) and Rosa et al. (1993) analyzed only the stimulated saliva. Four studies reported fasting before the collection (Belazi et al., 1998; Ben-Aryeh et al., 1993; Tenovuo et al., 1986; Yavuzylmaz et al., 1996) and all articles that mentioned the collection time performed it in the morning between 8 a.m. and 11 a.m. No study described the use of an enzyme inhibitor (Table 3).

All studies analyzed IgA levels. IgG levels were additionally analyzed by Javed et al. (2009); Belazi et al. (1998), and Tenovuo et al. (1986)

and IgM by Tenovuo et al. (1986) and Rosa et al. (1993). Ahmadiashar et al. (2015); Javed et al. (2009), and Tenovuo et al. (1986) used analysis methods utilizing antigen-antibody reactions and colorimetric staining. Malicka et al. (2015) used the immunoturbidimetric method, and Belazi et al. (1998); Ben-Aryeh et al. (1993), 1988; Rosa et al. (1993) and Yavuzylmaz et al. (1996) used radial immunodiffusion (Table 3).

The mean duration of DM1 ranged from 4.6 (Javed et al., 2009) to 14 (Tenovuo et al., 1986) years (Table 1).

3.3. Meta-analysis: DM1 significantly reduces unstimulated and stimulated salivary flow

Belazi et al. (1998); Ben-Aryeh et al. (1993); Javed et al. (2009), and Malicka et al. (2015) analyzed unstimulated salivary flow. These studies showed a significant reduction in the mean salivary flow by -0.19 mL/min (CI 95 % -0.33 to 0.05) in DM1 patients ($p = 0.008$). There was a significant heterogeneity ($p < 0.001$, $I^2 = 88\%$) and in the one-of-out analysis, the removal of Belazi et al. (1998) ($p = 0.020$), Ben-Aryeh et al. (1993) ($p < 0.001$), Javed et al. (2009) ($p = 0.001$), and Malicka et al. (2015) ($p = 0.040$) did not change this outcome (Fig. 2).

Ben-Aryeh et al. (1993); Rosa et al. (1993) and Tenovuo et al. (1986) analyzed the stimulated salivary flow and observed a significant reduction in DM1 patients ($p = 0.0003$). In this subgroup, there was no significant heterogeneity ($p = 0.820$, $I^2 = 0\%$) and the one-of-out analysis showed that only the removal of the study by Rosa et al. (1993) ($p = 0.330$) modified the outcome, with its removal diluting the significant difference between the groups (Fig. 2).

Regarding the stimulated and non-stimulated methods, no difference was observed between the subgroups ($p = 0.060$), and a significant average reduction of -0.14 (CI95 % $= -0.27$ to -0.02) ml/min was

Table 1
Sample characterization according to the mean duration of DM1, demographic aspects, and eligibility criteria.

AUTHOR (country)	Mean duration of DM1 (years)	Study group	Sex			Age (years)*	Inclusion criteria	Exclusion criteria
			Female	Male	Total			
Ahmadiafshar et al., 2015 (Iran)	7.7 ± 6.4	DM1	74	52	126	24.2 ± 13.1	Diabetes diagnosis based on the American Diabetes Association diagnostic criteria and healthy accompanying non-relative voluntaries or medical staff of the hospital to compose the control group	Patients with any diabetic complications, age < 5 years, presence of acute or chronic infectious diseases, inflammatory, endocrine and immunologic disorders, and individuals with a history of anticonvulsive drugs, penicillamine, and non-steroidal anti-inflammatory drugs use at least 4 weeks before study
		Control	60	64	124	29.8 ± 11.7		
Malicka et al., 2015 (Poland)	NI	DM1	18	16	34	37.5 ± 12.47 (21–57)	Well-established diabetes diagnosis for at least 1 year, recruited from the ill of the outpatient diabetic clinic and healthy non-diabetic individuals to compose the control group	Any other systemic illnesses or medications other than those for diabetes
		Control	16	14	30	37.0 ± 12.03 (21–57)		
Javed et al., 2009 (Pakistan)	4.6 (2–12)	DM1	21	27	48	15 (10–19)	Diabetic and non-diabetic children aged 10–19 years with similar socioeconomic statuses	Smoking habit, viral infectious diseases (hepatitis B or C, and human immunodeficiency virus), and usage of narcotic drugs
		Control	21	19	40	14.6 (10–19)		
Belazi et al., 1998 (Greece)	NI	DM1	5	5	10	6.8 (4–15)	Newly diagnosed diabetic children and healthy children to compose the control group	Other acute or systemic diseases
		Control	4	6	10	10.5 (5–17)		
Yavuzylmaz et al., 1996 (Turkey)	NI	DM1	NI	NI	7	54.23 ± 15.82 (25–74)	Diabetic patients and systemically and periodontally healthy subjects (control group)	Periodontal treatment and/or antibiotics in the previous six months
		Control	10	7	17	23.17 ± 3.26 (19–29)		
Ben-Aryeh et al., 1993 (Israel)	14.2 ± 8.5	DM1	NI	NI	20	38.9 ± 13.7	Diabetic patients without any other systemic disease or treatment	Other systemic disease or drug treatment
		Control	NI	NI	20	40.4 ± 12.0		
Rosa et al., 1993 (Brazil)	NI	Control	NI	NI	18	16.0	comparable in age, sex, race, and socioeconomic status	Other systematic disease or antibiotic therapy in the previous six months
Ben-Aryeh et al., 1988 (Israel)	9.5	DM1	15	20	35	31.2 ± 7.4	Diabetic subjects without any other systemic disease or any treatment except insulin	Other systemic disease or treatment except for insulin
		Control	14	17	31	29.0 ± 6.2		
Tenovuo et al., 1986 (Finland)	14.0 ± 9.1	DM1	11	24	35	30.4(17–61)	NI	NI
		Control	11	24	35	(17–61)		

* Age was reported in "average ± standard deviation" or "average (range)" or "average" or "range". NI, not informed.

observed in DM1 patients (p = 0.030), despite the significant heterogeneity (p < 0.001, I = 82 %). Cohen's d value showed a significant (p = 0.020) strong estimate of effect (d = -0.95; CI95 % = -1.74 to -0.16) for this parameter (Fig. 2).

3.4. Meta-analysis: DM1 increases IgA by reducing salivary flow

Since the studies reported their immunoglobulin concentration data using different scales, the meta-analysis of this parameter was performed using the SMD (Fig. 3).

The meta-analysis of all data showed that DM1 did not significantly modify the IgA concentration (p=0.120) with a Cohen's d value of 0.58 (CI95 % -0.15 to 1.32). Furthermore, there was significant heterogeneity between the studies (p < 0.001, I² 94 %) (Fig. 3).

In the subgroup of the unstimulated saliva, DM1 did not significantly increase the IgA concentration (p=0.120), similar to the subgroup of stimulated saliva (p=0.000), without any significant differences between the two subgroups (p=0.220) (Fig. 3).

Using one-of-out analysis, removal of articles that evaluated the unstimulated saliva [Ahmadiafshar et al. (2015) (p=0.200), Belazi et al. (1998) (p=0.260), Ben-Aryeh et al. (1988) (p=0.160), Ben-Aryeh

et al. (1993) (p=0.220), Malicka et al. (2015) (p=0.170), and Yavu-zyilmaz et al. (1996) (p=0.290)] did not change this outcome. However, when the only study that evaluated IgA by mg of proteins, instead of by the volume of saliva, was removed (Javed et al., 2009), the DM1 group revealed a statistically significant increase in the IgA concentration (d = 0.84; CI 95 % = 0.36–1.32), with a strong estimate of effect (p = 0.0006). The removal of studies that evaluated the stimulated

saliva [Ben-Aryeh et al. (1988) (p 0.090), Ben-Aryeh et al. (1993) (p 0.150), and Rosa et al. (1993) (p 0.130)] also did not change the outcome (Fig. 3).

=
=

3.5. Meta-analysis: DM1 does not change the concentrations of IgG and IgM

Upon assessing the IgG concentrations, no significant change was observed in the saliva of DM1 patients (p 0.420), but significant heterogeneity was observed in the studies (p < 0.001, I² 95 %). The one-of-out analysis showed no significant change in this outcome with the removal of Belazi et al. (1998) (p 0.340), Javed et al. (2009) (p 0.700), Rosa et al. (1993) (p 0.320) or Tenovuo et al. (1986) (p 0.500). Only Javed et al. (2009) showed a higher concentration of IgG since they uniquely evaluated the concentration of IgG by protein concentration and not by the volume of saliva (Fig. 4).

=
=

For the analysis of IgM, Tenovuo et al. (1986) showed an increase in the concentration of IgM and Rosa et al. (1993) showed no significant differences. Regarding these two studies, the meta-analysis showed no significant variation in salivary IgM (p 0.300), and the heterogeneity was high (Fig. 5).

=
=

=
=

=

3.6. RoB appraisal

One study scored eight out of the maximum of nine points on the NOS, three studies received seven points, four scored six points, and one study scored only three points. The item that received the lowest number of scores in 77.8 % of the articles was the "selection of controls." In terms

Table 2
Sample characterization (DM1) according to the use of medications, glycemic control, and additional information.

AUTHOR	Use of medications	Glycemic control aspects	Other information
Ahmadiafshar et al., 2015	NI	HbA1c: 7.65 ± 1.14 %	IgA vs. HbA1c ($r = 34$; $p = 0.003$)
Malicka et al., 2015	NI	HbA1c ≤ 8.5 % (well-controlled)	Subgroups according to the time of DM1 diagnosis: < 10 years or ≥ 10 years
		HbA1c > 8.5 % (poorly controlled)	
Javed et al., 2009	Insulin therapy	HbA1c < 6.5 % (well-controlled; $n = 12$; mean of 5.5 % [5.1–6.2]) HbA1c ≥ 6.5 % (poorly controlled; $n = 36$; mean of 12.2 % [11.5–15.2])	HbA1c levels were assessed between 7 and 30 days before the study. Random blood glucose levels were measured in well-controlled (mean of 5.5 mmol L ⁻¹ [5.4–6]) and poorly controlled (mean of 13.5 mmol L ⁻¹ [11.7–14]) patients.
Belazi et al., 1998	Insulin therapy (two injections daily; blend of short- and medium-acting insulin forms)	NI	All subjects free from other acute or systemic diseases.
Yavuzilmaz et al., 1996	NI	Mean blood glucose: 1.57 ± 0.20 mg/mL	NI
Ben-Aryeh et al., 1993	Insulin therapy	NI	NI
Rosa et al., 1993	NI	NI	NI
Ben-Aryeh et al., 1988	Insulin therapy (one or two injections daily; average insulin dose of 44.4U/day)	NI	Retinopathy ($n = 9$), nephropathy ($n = 2$), peripheral vascular disease ($n = 3$), neuropathy ($n = 7$), dermatologic problem ($n = 10$)
Tenovuo et al., 1986	NI	NI	Regular smokers ($n = 12$), sarcoidosis and rheumatoid arthritis ($n = 1$), cardiac insufficiency and hypertension ($n = 2$)

*Age was reported in “average ± standard deviation” or “average (range)” or “average” or “range”.

of bias, four studies were classified as low, four as moderate, and one had a high RoB (Table 4).

information related to the concentrations of IgA, IgG, and IgM in saliva from individuals with diabetes, especially subjects with DM1. Cumulative evidence from the studies included in this systematic review

revealed important findings. Data related to diabetic individuals showed an altered salivary flow rate; however, there were no changes in the

levels of IgG and IgM when compared with healthy controls. Also, the salivary concentration of IgA remained controversial based on the present results. From a clinical point of view, the assessment of salivary immunoglobulins standardized by the total amount of proteins seems to be a promising method that minimizes the influence of the salivary flow rate on the dosage of these biomarkers in diabetic patients. Furthermore, this study highlighted the importance of determining the salivary levels

of IgA, IgG, and IgM, since they could be investigated in future studies evaluating oral health aspects of patients with DM1.

Saliva is a complex aqueous fluid that contains essential humoral immunity components, such as immunoglobulins (Lee & Wong, 2009). Regarding the oral cavity, most of these antibodies are of the A and G classes. They are present in periodontal tissues, commonly found in the gingival crevicular fluid, reacting with different molecules (e.g., liposaccharides and bacterial carbohydrates) in periodontal disease (Isaza-Guzmán, Tobón-Arroyave, & Martínez-Pabón, 2016). IgA is a predominant immunoglobulin in the mucous membranes of the gastro-

intestinal, respiratory, and genitourinary tracts and in secretions such as tears, breast milk, and saliva (Miletic, Schiffman, Miletic, & Miller, 1996), which justifies the choice of this immunoglobulin for analysis by all the studies included in this review. In saliva, its dimeric form (IgA-s) can better resist proteolysis due to the presence of a secretory component composed by two antibodies (Miletic et al., 1996) and correspond to an important parameter that reflects the mucosal immune status and different systemic conditions, with an additional advantage that it is

measurable using noninvasive methods and with minimal discomfort (Bosqui et al., 2020; de Andrade et al., 2019; Hucklebridge et al., 2000;

Kilian, Reinholdt, Lomholt, Poulsen, & Frandsen, 1996; Parizi et al., 2019).

Presently, some studies have reported a significant salivary increase

in IgA levels. However, pooled statistics indicated a dependent effect related to salivary flow reduction. It is essential to consider that changes in salivary flow rates may have a dilutive effect on the concentration of salivary gland immunoglobulins (Bishop & Gleeson, 2009). In addition, a high concentration of this immunoglobulin may be the result of its local production in the salivary glands or reflects an altered glandular cell permeability (Liberati et al., 2009). Concerning IgG, although two studies have demonstrated higher titers of this antibody in saliva from

diabetic patients (Javed et al., 2009; Tenovuo et al., 1986), cumulative data did not show a statistically significant difference in comparison to healthy controls. Altogether, the interpretation of the results for both salivary immunoglobulins should be carefully evaluated, since different standard methods for estimating salivary concentrations have been reported.

Diabetes mellitus is an endocrinal disease that commonly displays

3.7. Additional analysis and confidence in cumulative evidence

According to the GRADE evidence profile table, which is based on certain aspects outlined in Table 5, the certainty was estimated to be very low for all outcomes (salivary IgA, IgG, and IgM concentrations).

4. Discussion

To date, no meta-analysis has assessed and documented detailed

impaired host immune system and metabolic dysfunction, predisposing the occurrence of disorders in the oral cavity (e.g., mucosal lesions, dental-related alterations, and salivary flow changes), as summarized in a published systematic review (González-Serrano et al., 2016). A higher prevalence of oral colonization by *Candida* sp. has been observed in type 1 diabetic individuals when compared with type 2 diabetes mellitus (Kumar, Padshetty, Bai, & Rao, 2005) as well as in uncontrolled diabetic subjects (Kheirmand Parizi, Akbari, Malek-Mohamadi, Kheirmand Par-izi, & Kakoei, 2019). Interestingly, Javed et al. (2009) demonstrated a statistically significant increase in the concentration of IgG ($\mu\text{g}/\text{mg}$) protein in saliva from diabetic patients that exhibited this fungal infection, which is an immunoglobulin indicator of oral inflammation (Sandholm, Tolo, & Olsen, 1987). Regarding the number of decayed, missing, and filled teeth (DMFT), two studies included in this systematic review did not report a significant correlation between DMFT and salivary immunoglobulin levels in patients with DM1 (Ben-Aryeh et al.,

Table 3
Methodological characterization of the studies.

Author	Type of saliva collection	Type of saliva	Fasting	Collection time	IgA	IgG	IgM	Dosage method	Salivary glucose
Ahmadiashar et al., 2015	Unstimulated	Whole	NI	NI	Yes	No	No	ELISA (colorimetric)	No
Malicka et al., 2015	Unstimulated	Whole	NI	NI	Yes	No	No	Immunoturbidimetric method	No
Javed et al., 2009	Unstimulated	Whole	NI	NI	Yes	Yes	No	ELISA	No
Belazi et al., 1998	Unstimulated	Whole	2 h of fasting	9h - 11h	Yes	Yes	No	Radial immunodiffusion and nephelometry	Yes
Yavuzylmaz et al., 1996	Unstimulated	Whole	1h after breakfast	8h - 11h	Yes	No	No	Radial immunodiffusion (precipitation)	No
Ben-Aryeh et al., 1993	Stimulated and unstimulated	Whole unstimulated Whole stimulated Submandibular stimulated	1h after the last meal	9h - 11h	Yes	No	No	Radial immunodiffusion	No
Rosa et al., 1993	Stimulated	Whole	Minimum 2 h after breakfast	NI	Yes	Yes	Yes	Simple radial immunodiffusion	No
Ben-Aryeh et al., 1988	Stimulated and unstimulated	Whole unstimulated Parotid parotid	NI	8h30—11h	Yes	No	No	Radial immunodiffusion	Yes
Tenovuo et al., 1986	Stimulated	Whole	meal 1h after the last	8h - 11h	Yes	Yes	Yes	"Trapping antibody"- type enzyme immunoassay	No

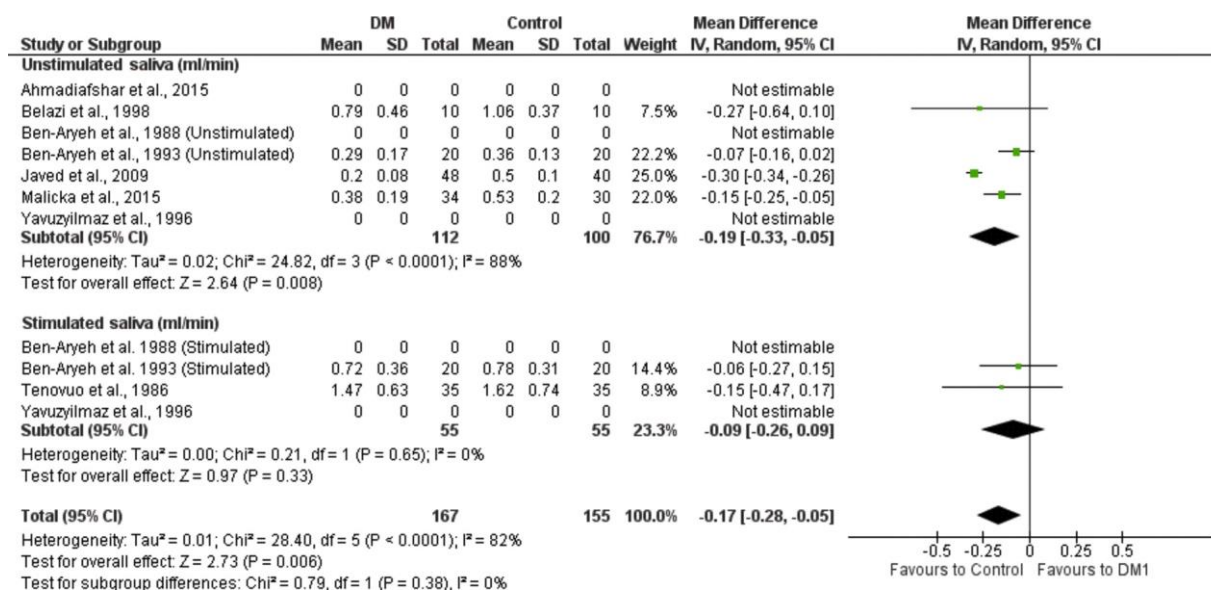


Fig. 2. Forest plot of the salivary flow in DM1 and control divided by stimulated and unstimulated saliva.

1993; Rosa et al., 1993).

The main finding observed from the present meta-analysis was the raised salivary quantity of IgA when adjusted in terms of salivary flow or total protein concentration (mg). In periodontitis, it could be partially explained by elevated serum effusion through the inflamed pocket epithelium and prolonged antigenic stimulus (Reiff, 1984). Additionally, specific interleukins (e.g., IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, and IL-10) are involved in the activation and proliferation of B lymphocytes and the production of IgG and IgA in response to microorganisms associated with periodontal disease (Lappin, MacLeod, Kerr, Mitchell, & Kinane, 2001). These aspects of the inflammatory process have been implicated in the pathogenesis of diabetes since periodontal disease is one of the most prevalent oral disorders in diabetic type 1 patients (Sadeghi, Taleghani, Mohammadi, & Zohri, 2017). Although the assessment of periodontal status was not the primary aim of this systematic review, three studies reported a reduced response of the periodontium against oral pathogens, which was clinically characterized by higher gingival index-related severity scores (Ben-Aryeh

to healthy controls. However, these data were not correlated with salivary IgA (Ben-Aryeh et al., 1993; Malicka et al., 2015) and mean probing depth (Yavuzylmaz et al., 1996) as compared

vary immunoglobulin levels.

Although the previously mentioned alterations are not specific in individuals with diabetes, their incidence or progression may be favored by poor glycemic control and periodontal disease. In contrast, chronic damage to the periodontal tissues can aggravate uncontrolled glycemic status, raise the level of pro-inflammatory cytokines, predispose patients to bacteremia, and consequently, increase the risk of cardiovascular complications (American Academy of Periodontology, 2000; Saremi et al., 2005; Ship, 2003). Mucosal atrophy, candidiasis, and lichen pla-

nus have been reported in subjects with diabetes and to be related to chronic salivary hypofunction (Gandara & Morton, 2011). Of the studies included in the present review, no articles had details on this data. Additionally, it is noteworthy that the immune status of diabetic patients, especially that related to the production of antibodies, can be impaired due to hyperglycemia (Sakowicz-Burkiewicz et al., 2013). Two studies (Ben-Aryeh et al., 1988, 1993) reported that diabetic patients had systemic changes caused by the disease, such as retinopathy, neuropathy, sexual impotence, dermatological problems, and peripheral

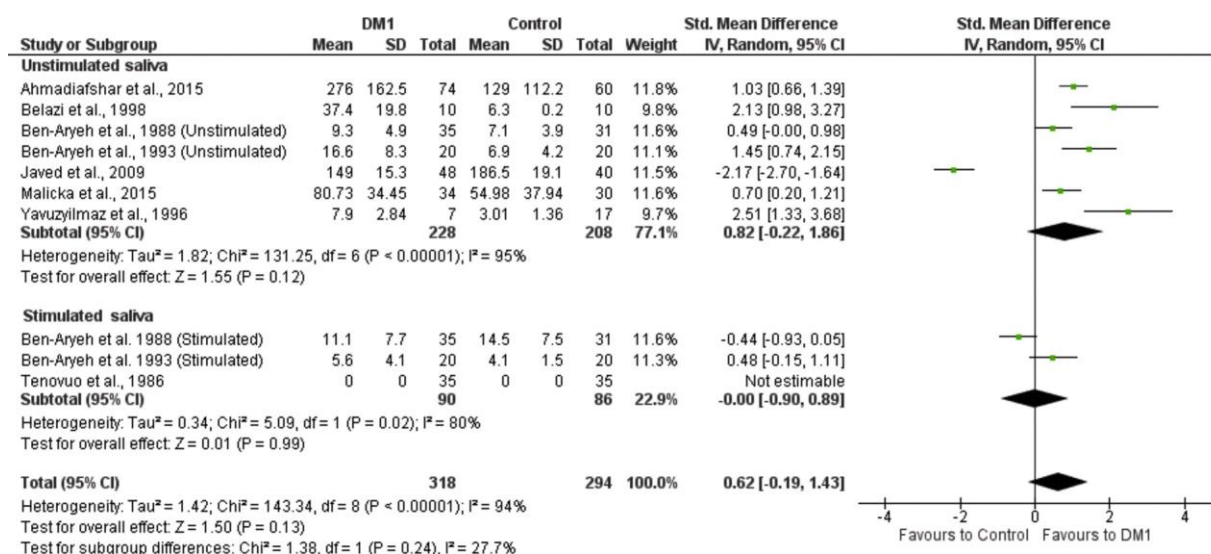


Fig. 3. Forest plot of the IgA concentration in DM1 and control divided by stimulated and unstimulated saliva.

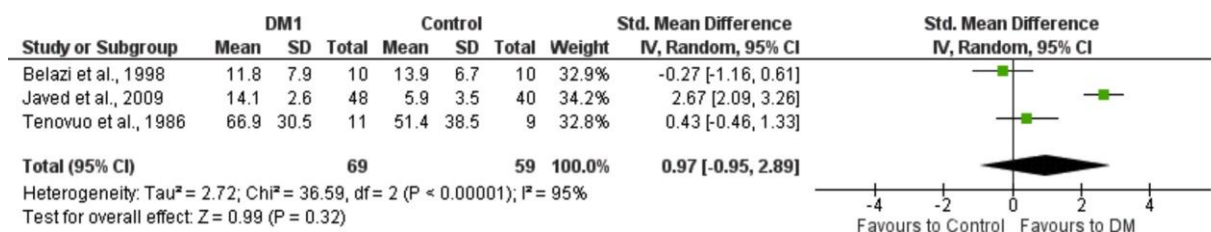


Fig. 4. Forest plot of the IgG concentration in DM1 and control divided by stimulated and unstimulated saliva.

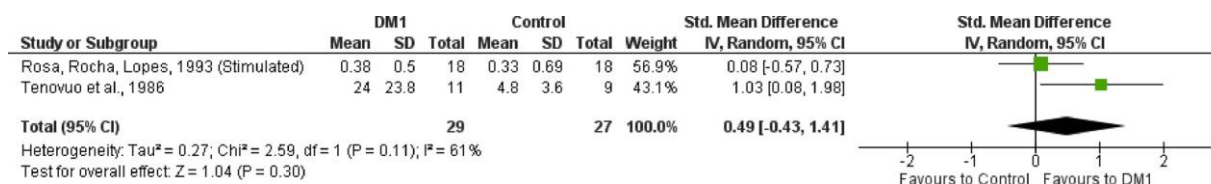


Fig. 5. Forest plot of the IgM concentration in DM1 and control divided by stimulated and unstimulated saliva.

Table 4

RoB appraisal based on NOS items.

	Ben-Aryeh et al., 1999	Tenovuo et al., 1998	Rosa et al., 1993	Ben-Aryeh et al., 1993	Yavuzylmaz et al., 1996	Belazi et al., 1998	Javed et al., 2009	Ahmadiafshar et al., 2015	Malicka et al., 2015
Selection									
Case definition adequate	★	★	–	★	★	★	★	★	★
Representativeness of cases	★	★	–	★	★	★	★	★	★
Selection of controls	–	–	–	–	★	–	★	–	–
Definition of controls	★	★	★	★	★	★	★	★	★
Age and sex									
Additional factors	★	★	★	–	–	–	–	★	★
Ascertainment of exposure									
Exposure methods (cases and Same ascertainment)	★	–	–	★	–	★	★	★	★
Same nonresponse rate (cases and controls)	–	–	–	–	–	–	★	–	–
Total of scores (cases and controls)	7	6	3	6	6	6	8	7	7
RoB	Low	Moderate	High	Moderate	Moderate	Moderate	Low	Low	Low

Table 5
GRADE evidence profile.

Certainty assessment		N ⁺ of studies		N ⁻ of DM1		Effect		Importance			
N ⁺ of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	Control		Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)	Certainty
9	observational studies	serious ^a	very serious ^b	not serious	not serious	strong association	277	-	SMD 0.58 SD higher (0.15 lower to 1.32 higher)	⊕⊕⊕⊕ VERY LOW	CRITICAL
4	observational studies	serious ^a	very serious ^c	not serious	serious ^d	strong association	77	-	SMD 0.65 SD higher (0.93 lower to 2.23 higher)	⊕⊕⊕⊕ VERY LOW	IMPORTANT
2	observational studies	serious ^a	serious ^e	not serious	serious ^d	strong association	27	-	SMD 0.49 SD higher (0.43 lower to 1.41 higher)	⊕⊕⊕⊕ VERY LOW	IMPORTANT

CI: Confidence interval; SMD: Standardised mean difference.

Explanations.

a. Moderate RoB.

b. I-square statistics showed a value of 94 % related to salivary IgA.

c. I-square statistics showed a value of 95 % related to salivary IgG.

d. Higher CI.

e. I-square statistics showed a value of 61 % related to salivary IgM.

vascular disease. [Ahmadiafshar et al. \(2015\)](#) found no significant correlation between serum and salivary IgA levels, but found a statistically significant correlation between levels of salivary IgA and HbA1c, although serum IgA levels did not show a significant correlation with glycated hemoglobin.

DM1 commonly shows an incidence peak between the age of 10 and 14 years ([Maahs et al., 2010](#)), as observed by [Javed et al. \(2009\)](#) and [Ahmadiafshar et al. \(2015\)](#). In contrast, important differences were observed in the mean age of the recruited diabetic patients and the mean duration of the disease in some included studies in this review ([Ben-Aryeh et al., 1988, 1993](#); [Tenovuo et al., 1986](#)), which may indicate a delayed diagnosis. The major consequences of delayed administration of glucose-lowering drugs in DM1 adults are serious acute metabolic decompensation, poor glycemic control, and diabetes complications ([Bao, Ma, Ganesan, & McGill, 2019](#)). Similarly, these articles did not further detail the reasons for the possible retardation of DM1 diagnosis. According to the UK Biobank, more than 40 % of DM1 individuals older than 30 years were misdiagnosed with type 2 diabetes ([Thomas et al., 2018](#)), which could be associated with a low level of suspicion, clinical challenges regarding the determination of the diabetes subtype, and slow progression to the onset of the hypoglycemic agent administration ([Merger et al., 2013](#)). In children, other reported causes are nonspecific patterns of the initial symptoms related to type 1 diabetes ([Maahs et al., 2010](#)).

The primary method of salivary collection was non-stimulated ([Ahmadiafshar et al., 2015](#); [Belazi et al., 1998](#); [Javed et al., 2009](#); [Malicka et al., 2015](#); [Yavuzylmaz et al., 1996](#)), as corroborated by other studies that analyzed salivary immunoglobulins ([Bachrach et al., 2008](#); [Branco-de-Almeida et al., 2011](#); [Damasceno et al., 2018](#); [Lehtonen, Tenovuo, Aaltonen, & Vilja, 1987](#); [Pels, 2017](#)). Two studies ([Ben-Aryeh et al., 1988, 1993](#)) analyzed rested and stimulated saliva; this method was also adopted by another study ([Siudikiene, Machiulskiene, Nyvad, Tenovuo, & Nedzelskiene, 2008](#)). The submandibular glands produce approximately two-thirds of the resting saliva. Under stimulation, 50 % of the total volume of saliva comes from the parotid glands. Submandibular glands, whether stimulated or not, play a small role in the production of saliva ([Iorgulescu, 2009](#)).

From the included studies, four analyzed the unstimulated salivary flow ([Belazi et al., 1998](#); [Ben-Aryeh et al., 1993](#); [Javed et al., 2009](#); [Malicka et al., 2015](#)) and reported a significant reduction in mean salivary flow in DM1 patients, as in other published studies ([López et al., 2003](#); [Moore, Guggenheimer, Etzel, Weyant, & Orchard, 2001](#); [Rai, Hegde, Kamath, & Shetty, 2011](#)). [Ben-Aryeh et al. \(1993\)](#); [Tenovuo et al. \(1986\)](#), and [Rosa et al. \(1993\)](#) also reported a significant reduction in the stimulated salivary flow in DM1 patients, similar to [Siudikiene et al. \(2008\)](#), who had a follow-up of DM1 patients and healthy individuals for two years. [Moore et al. \(2001\)](#) analyzed the salivary flow of 406 DM1 patients and 268 healthy controls and observed a higher prevalence of xerostomia and hyposalivation in patients with low metabolic control and those who used drugs that reduced salivary flow. These authors associated the elevated fasting blood glucose concentrations with hyposalivation, based on the theory that dehydration associated with elevated blood glucose can increase the osmotic gradients within the salivary glands, thus limiting secretion. [López et al. \(2003\)](#) considered that the salivary flow reduction in DM1 patients may be associated with an increase in viscosity and the amount of foam in this fluid.

In contrast, a study by [Moreira, Passos, Sampaio, Soares, and Oliveira \(2009\)](#) reported that DM1 patients showed a significant reduction only in the unstimulated salivary flow and that the stimulation was not significant. This difference may be due to the disease duration in the studied populations, the considerable variability of normal salivary functions, and the small sample size used in some of these studies ([Moore et al., 2001](#)). Besides, [Moreira et al. \(2009\)](#) performed the collection in the afternoon, unlike most studies. This may lead to an influence of circadian rhythm on salivary flow.

The application of radial immunodiffusion tests ([Belazi et al., 1998](#);

Ben-Aryeh et al., 1988, 1993; Malicka et al., 2015; Rosa et al., 1993; Yavuzylmaz et al., 1996) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Ahmadiashar et al., 2015; Javed et al., 2009) quantified the salivary immunoglobulins of the included studies. Although most of these studies also measured the total protein levels in the saliva (Belazi et al., 1998; Ben-Aryeh et al., 1988, 1993; Javed et al., 2009; Malicka et al., 2015; Tenovuo et al., 1986; Yavuzylmaz et al., 1996), only Javed et al. (2009) determined the concentration of these antibodies (μg) per mg of protein. It is essential to consider that changes in the salivary flow rate can have a dilutive effect on the concentration of IgA secreted by the salivary glands (Bishop & Gleeson, 2009). Therefore, the increase in salivary IgA concentration in patients with DM1 is apparent, probably due to the reduction in the salivary flow observed in these individuals. However, this finding's plausibility could be verified in the present systematic review since none of the included studies standardized the immunoglobulin concentration based on the salivary flow.

In a study on glandular production and transport of immunoglobulins in oral tissues, Brandtzaeg (1976) calculated the IgA secretion rate ($\text{mg}/\text{min}/\text{gland}$) from the concentration and the salivary flow rate, which represents a standardization of this measurement. However, information on the concentration of immunoglobulins was reported using different scales, demonstrating a gap in the standardization of salivary immunoglobulin measurements. Thus, determining the level of immunoglobulins based on the total concentration of salivary proteins could correspond more clearly with the behavior of these components in DM1 patients with DM. Since IgA showed the most relevant results, future studies are necessary to investigate the sensitivity of different methods using salivary IgA to suggest this immunoglobulin as a potential biomarker in DM1.

Although only one study demonstrated a high RoB, the present data should be evaluated with concern since the evidence quality appraisal revealed a very low certainty regarding the outcomes (concentration of IgA, IgG, and IgM in the saliva samples). The main factors that influenced this evaluation were serious RoB, serious or very serious inconsistency, serious imprecision, and small effect size. Methodologically, the significant heterogeneity among the included studies may impact the quality of evidence, and the most relevant aspects were the saliva collection process (collection time, stimulated or at rest, fasting, and prior oral hygiene), age of the sample, time of DM1 diagnosis, and laboratory methods to analyze immunoglobulins. However, caution must be exercised during the IgM meta-analysis interpretation. Only two studies reported IgM levels, which can generate a high risk of bias. Due to the lack of a secretory piece and its pentameric or hexameric conformation, IgM is poorly present in saliva. Alterations in IgM levels can hardly be found with current screening methods. Thus, it is recommended that future studies should measure the concentrations of the three immunoglobulins to minimize the methodological-related risk of bias.

About the GRADE recommendation, it is important to emphasize that during the systematic review protocol elaboration, it was assumed that the selected immunoglobulins were of clinical importance as potential biomarkers in patients with DM1. Following the process of rating the quality evidence described in the GRADE handbook (Schünemann et al., 2013), important outcomes for decision-making should be classified as critical to the decision, or only important, but not critical. Thus, it was considered the salivary levels of IgA as a more critical outcome than IgG and IgM because of its known impact on mucosal tissues of diabetic patients.

In addition, considering the eligibility criteria adopted in the present research, six included studies were published more than 20 years ago. It is noteworthy that the salivary levels of the immunoglobulins could be influenced by the laboratory method used for obtaining samples. The studies published until 2000 did not standardize the quantification of salivary immunoglobulins by the total amount of protein, which could generate non-significant results since the stimulation of saliva secretion has a known diluting effect. According to the present data, the increased

levels of IgA were dependent on total protein estimation (one-of-out analysis). Thus, we believe that the lack of new investigations could be related to the controversial findings from these studies. Besides, data from these studies were necessary to support the present systematic review, which is justified by the following key points: 1) to date, there is no published meta-analysis on the current topic that simultaneously summarizes evidence related to three salivary immunoglobulins in DM1; 2) the scarce number of recent articles highlights the importance of future well-designed investigations on salivary immunoglobulin profiles in DM1; 3) based on the present results, it could be stated that salivary immunoglobulin levels are still controversial in diabetic type 1 patients; and 4) the global incidence of DM1 has been increased, which reinforces the assessment of biomarkers (e.g., immunoglobulins) through non-invasive methods for monitoring the disease, such as saliva analysis.

DM1 patients showed a significant reduction in unstimulated salivary flow, and the salivary concentration of the evaluated immunoglobulins did not seem to be altered in these individuals when compared to healthy controls. The increase in IgA salivary levels was dependent on total protein estimation and due to a reduction in salivary flow. These findings demonstrate that salivary concentration of immunoglobulins (especially A, G, and M types) in the saliva of DM1 individuals is still controversial and needs to be further investigated. Altogether, the present results and a very low certainty of the evidence highlight the importance of well-designed studies using saliva as a potential tool for DM1 screening, based on standardized methodologies.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

CRediT authorship contribution statement

Renata Asfor Rocha Carvalho Martins: Data curation, Methodology, Writing - original draft. **Fábio Wildson Gurgel Costa:** Data curation, Methodology, Writing - original draft. **Sara Maria Silva:** Investigation, Methodology, Writing - review & editing. **Paulo Goberlanio de Barros Silva:** Formal analysis, Writing - review & editing. **Francisco Samuel Rodrigues Carvalho:** Methodology, Investigation, Writing - review & editing. **Cristiane Sá Roriz Fonteles:** Validation, Visualization, Writing - review & editing. **Thyciana Rodrigues Ribeiro:** Conceptualization, Writing - review & editing, Supervision, Validation.

Declaration of Competing Interest

None.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.105025>.

References

- Ahmadiashar, A., Mohsenifard, M. R., & Mazloomzadeh, S. (2015). Evaluation of serum & salivary IgA in patients with type 1 diabetes. *PLoS One*, 10, Article e0122757. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122757>
- American Academy of Periodontology. (2000). Position paper; diabetes and periodontal diseases. *Journal of Periodontology*, 71, 664–678. <https://doi.org/10.1902/jop.2000.71.4.664>
- American Diabetes Association. (2019). Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes – 2019. *Diabetes Care*, 42, S13–S28. <https://doi.org/10.2337/dc19-S002>
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383, 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
- Bachrach, G., Muster, Z., Raz, I., Chausu, G., Stabholz, A., Nussbaum, G., et al. (2008). Assessing the levels of immunoglobulins in the saliva of diabetic individuals with

- periodontitis using checkerboard immunodetection. *Oral Diseases*, 14, 51–59. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2006.01345.x>
- Bao, Y. K., Ma, J., Ganesan, V. C., & McGill, J. B. (2019). Mistaken identity: Missed diagnosis of type 1 diabetes in an older adult. *Medical Research Archives*, 7, 1962. <https://doi.org/10.18103/mra.v7i8.1962>
- Belazi, M. A., Galli-Tsinopoulou, A., Drakoulakos, D., Fleva, A., & Papanayiotou, P. H. (1998). Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 8, 29–33. <https://doi.org/10.1046/j.1365-263X.1998.00057.x>
- Ben-Aryeh, H., Cohen, M., Kanter, Y., Szargel, R., & Laufer, D. (1988). Salivary composition in diabetic patients. *The Journal of Diabetic Complications*, 2, 96–99. [https://doi.org/10.1016/0891-6632\(88\)90011-6](https://doi.org/10.1016/0891-6632(88)90011-6)
- Ben-Aryeh, H., Serouya, R., Kanter, Y., Szargel, R., & Laufer, D. (1993). Oral health and salivary composition in diabetic patients. *Journal of Diabetes and its Complications*, 7, 57–62. [https://doi.org/10.1016/1056-8727\(93\)90025-T](https://doi.org/10.1016/1056-8727(93)90025-T)
- Bishop, N. C., & Gleeson, M. (2009). Acute and chronic effects of exercise on markers of mucosal immunity. *Frontiers in Bioscience*, 14, 4444–4456. <https://hdl.handle.net/2134/10582>
- Bosqui, L. R., Corral, M. A., Levy, D., Bydlowski, S. P., Grysckek, R. C. B., Custodio, L. A., et al. (2020). Evaluation of the Dot-ELISA as a diagnostic test for human strongyloidiasis based on the detection of IgA in saliva. *Acta Tropica*, 203, 105305. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105305>
- Branco-de-Almeida, L. S., Alves, C. M. C., Lopes, F. F., Pereira, A. D. F. V., Guerra, R. N. M., & Pereira, A. L. A. (2011). Salivary IgA and periodontal treatment need in diabetic patients. *Brazilian Oral Research*, 25, 550–555. <https://doi.org/10.1590/S1806-83242011000600013>
- Brandão, E., Soares, S., Mateus, N., & de Freitas, V. (2014). Human saliva protein profile: Influence of food ingestion. *Food Research International*, 64, 508–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.022>
- Brandtzaeg, P. (1976). Synthesis and secretion of secretory immunoglobulins: With special reference to dental diseases. *Journal of Dental Research*, 55, 102–104. <https://doi.org/10.1177%2F002203457605500301011>
- Busato, I. M. S., de Antoni, C. C., Calcagnotto, T., Ignácio, S. A., & Azevedo-Alanis, L. R. (2016). Salivary flow rate, buffer capacity, and urea concentration in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 29, 1359–1363. <https://doi.org/10.1515/jpem-2015-0356>
- Damascano, J. X., Guedes, M. I. F., Leite, C. A. C., Monteiro, A. J., Fonteles, M. C., Jimenez, M. E. Z., et al. (2018). Salivary immunoglobulin levels in juvenile autoimmune hepatitis. *Archives of Oral Biology*, 92, 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.04.014>
- Daneman, D. (2006). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367, 847–858. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68341-68344](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68341-68344)
- Dawes, C. (1975). Circadian rhythms in the flow rate and composition of unstimulated and stimulated human submandibular saliva. *The Journal of Physiology*, 244, 535–548. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1975.sp010811>
- de Andrade, C. M., Galvão-Moreira, L. V., de Oliveira, J. F. F., Bomfim, M. R. Q., Monteiro, S. G., Figueiredo, P. D. M. S., et al. (2019). Salivary biomarkers for caries susceptibility and mental stress in individuals with facial pain. *CRANIO*, 1–7. <https://doi.org/10.1080/08869634.2019.1607445>
- Del Roio Liberatore, R., Jr, Barbosa, S. F., das Graças Alkmin, M., Bellinati-Pires, R., Florido, M. P., Isaac, L., et al. (2005). Is immunity in diabetic patients influencing the susceptibility to infections? Immunoglobulins, complement and phagocytic function in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 6, 206–212. <https://doi.org/10.1111/j.1399-543X.2005.00136.x>
- Ferguson, D. B., & Botchway, C. A. (1979). Circadian variations in the flow-rate and composition of whole saliva stimulated by mastication. *Archives of Oral Biology*, 24, 877–881. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(79\)90212-7](https://doi.org/10.1016/0003-9969(79)90212-7)
- Gaddekar, N. B., Hosmani, J. V., Bhat, K. G., Kotrashetti, V. S., Nayak, R. S., Babji, D. V., et al. (2018). Detection of antibodies against aggregatibacter actinomycetemcomitans in serum and saliva through elisa in periodontally healthy individuals and individuals with chronic periodontitis. *Microbial Pathogenesis*, 125, 438–442. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.007>
- Gandara, B. K., & Morton, T. H. (2011). Non-periodontal oral manifestations of diabetes: A framework for medical care providers. *Diabetes Spectrum*, 24, 199–205. <https://doi.org/10.2337/diaspect.24.4.199>
- Gomes, M. A. B., Rodrigues, F. H., Afonso-Cardoso, S. R., Buso, A. M., Silva, A. G., Favoretto, S. J., et al. (2006). Levels of immunoglobulin al and messenger rna for interferon y and tumor necrosis factor a in total saliva from patients with diabetes mellitus type 2 with chronic periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 41, 177–183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00851.x>
- González-Serrano, J., Serrano, J., López-Pintor, R. M., Paredes, V. M., Casañas, E., & Hernández, G. (2016). Prevalence of oral mucosal disorders in diabetes mellitus patients compared with a control group. *Journal of Diabetes Research*, 5048967. <https://doi.org/10.1155/2016/5048967>, 2016.
- Grossi, S. G., Skrepčinski, F. B., DeCaro, T., Robertson, D. C., Ho, A. W., Dunford, R. G., et al. (1997). Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *Journal of Periodontology*, 68, 713–719. <https://doi.org/10.1902/jop.1997.68.8.713>
- Hong, R., & Ammann, A. J. (1989). Disorders of the IgA system. In E. R. Stiehm (Ed.), *Immunologic disorders in infants and children* (pp. 329–342). Philadelphia: WB Saunders.
- Hucklebridge, F., Lambert, S., Clow, A., Warburton, D. M., Evans, P. D., & Sherwood, N. (2000). Modulation of secretory immunoglobulin A in saliva: response to manipulation of mood. *Biological Psychology*, 53, 25–35. [https://doi.org/10.1016/S0301-0511\(00\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0301-0511(00)00040-5)
- International Diabetes Federation. (2019). *IDF diabetes atlas* (9th ed.). Belgium: Brussels.
- Iorgulescu, G. (2009). Saliva between normal and pathological. Important factors in determining systemic and oral health. *Journal of Medicine and Life*, 2, 303–307.
- Isaza-Guzmán, D. M., Tobón-Arroyave, S. I., & Martínez-Pabón, M. C. (2016). Immunopatogénesis de la enfermedad periodontal y células th17: ¿continúa la controversia? *Avances en Periodoncia*, 28, 115–124. http://scielo.scienciaci.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852016000300002&lng=es&tlng=es
- Isola, G., Polizzi, A., Patini, R., Ferlito, S., Alibrandi, A., & Palazzo, G. (2020). Association among serum and salivary a. actinomycetemcomitans specific immunoglobulin antibodies and periodontitis. *BMC Oral Health*, 20, 283. <https://doi.org/10.1186/s12903-020-01258-5>
- Javadi, M. A., Ahmed, A. S., Durand, R., & Tran, S. D. (2016). Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 6, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.08.006>
- Javed, F., Sundin, U., Altamash, M., Klinge, B., & Engström, P. E. (2009). Self-perceived oral health and salivary proteins in children with type 1 diabetes. *Journal of Oral Rehabilitation*, 36, 39–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.2008.01895.x>
- Khayamzadeh, M., Mirzaii-Dizgah, I., Rostami, P., Izadi, F., Khayamzadeh, M., & Kharazifard, M. J. (2017). Stimulated and unstimulated saliva glucose levels in children suffer insulin-dependent diabetes mellitus. *Annals of Military and Health Sciences Research*, 15, Article e64373. <https://dx.doi.org/10.2010.5812/amh.64373>
- Kheirmand Parizi, M., Akbari, H., Malek-Mohamadi, M., Kheirmand Parizi, M., & Kakoei, S. (2019). Association of salivary levels of immunoglobulin-a and amylase with oral-dental manifestations in patients with controlled and non-controlled type 2 diabetes. *BMC Oral Health*, 19, 175. <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0868-4>
- Kilian, M., Reinholdt, J., Lomholt, T., Poulsen, K., & Frandsen, E. V. (1996). Biological significance of IgA1 proteases in bacterial colonization and pathogenesis: Critical evaluation of experimental evidence. *Apms*, 104, 321–338. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1996.tb00724.x>
- Kumar, B. V., Padshetty, N. S., Bai, K. Y., & Rao, M. S. (2005). Prevalence of candida in the oral cavity of diabetic subjects. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 53, 599–602. <https://imsear.searo.who.int/handle/123456789/93052>
- Landgraf, L. F., Rosário, N. A., Moura, J. F. D., Wells, K. A., & Figueiredo, B. C. (2008). High prevalence of immunoglobulin A deficiency in patients with type 1 diabetes mellitus detected by ELISA. *Einstein*, 6, 26–30.
- Lappin, D. F., MacLeod, C. P., Kerr, A., Mitchell, T., & Kinane, D. F. (2001). Anti-inflammatory cytokine il-10 and t cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. *Clinical and Experimental Immunology*, 123, 294–300. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2001.01448.x>
- Lee, Y. H., & Wong, D. T. (2009). Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. *American Journal of Dentistry*, 22, 241–248.
- Lehtonen, O. P., Tenovu, J., Aaltonen, A. S., & Vilja, P. (1987). Immunoglobulins and innate factors of immunity in saliva of children prone to respiratory infections. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica Section C, Immunology*, 95, 35–40. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1987.tb00006.x>
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P. A., et al. (2009). The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: Explanation and elaboration. *Journal of Clinical Epidemiology*, 62, e1–34. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2009.06.006>
- Liljestrand, J. M., Gursøy, U. K., Hyvärinen, K., Sorsa, T., Suominen, A. L., Kõnönen, E., et al. (2014). Combining salivary pathogen and serum antibody levels improves their diagnostic ability in detection of periodontitis. *Journal of Periodontology*, 85, 123–131. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130030>
- López, M. E., Colloca, M. E., Páez, R. G., Schallmach, J. N., Koss, M. A., & Chervonagura, A. (2003). Salivary characteristics of diabetic children. *Brazilian Dental Journal*, 14, 26–31. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402003000100005>
- Maahs, D. M., West, N. A., Lawrence, J. M., & Mayer-Davis, E. J. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 39, 481–497. <https://doi.org/10.1016/j.jec.2010.05.011>
- Malathi, N., Mythili, S., & Vasanthi, H. R. (2014). Salivary diagnostics: A brief review. *International Scholarly Research Notices*. <https://doi.org/10.1155/2014/158786>, 2014.
- Malicka, B., Kaczmarek, U., & Skośkiewicz-Maliniowska, K. (2015). Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. *Archives of Oral Biology*, 60, 425–431. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.07.010>
- Mata, A. D., Marques, D., Rocha, S., Francisco, H., Santos, C., Mesquita, M. F., et al. (2004). Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 261, 137–142. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000028748.40917.6f>
- Merger, S. R., Leslie, R. D., & Boehm, B. O. (2013). The broad clinical phenotype of Type 1 diabetes at presentation. *Diabetic Medicine*, 30, 170–178. <https://doi.org/10.1111/dme.12048>
- Miletic, I. D., Schiffman, S. S., Miletic, V. D., & Miller, E. A. S. (1996). Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiology & Behavior*, 60, 243–248. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02161-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02161-2)
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *PLoS Medicine*, 6, Article e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>
- Moore, P. A., Guggenheimer, J., Etzel, K. R., Weyant, R. J., & Orchard, T. (2001). Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 92, 281–291. <https://doi.org/10.1067/moe.2001.117815>
- Moreira, A. R., Passos, I. A., Sampaio, F. C., Soares, M. S. M., & Oliveira, R. J. (2009). Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42, 707–711. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2009005000006>

- Naiff, P. F., Orlandi, P. P., & Santos, M. C. (2012). Imunologia da periodontite crônica: Uma revisão de literatura. *Scientia Amazonia*, 1, 28–36.
- Nieminen, A., Kari, K., & Saxen, L. (1993). Specific antibodies against actinobacillus actinomycetemcomitans in serum and saliva of patients with advanced periodontitis. *European Journal of Oral Sciences*, 101, 196–201. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1993.tb01104.x>
- Ouzzani, M., Hammady, H., Fedorowicz, Z., & Elmagarmid, A. (2016). Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*, 5, 210. <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>
- Pappa, E., Vastardis, H., & Rahiotis, C. (2020). Chair-side saliva diagnostic tests: An evaluation tool for xerostomia and caries risk assessment in children with type 1 diabetes. *Journal of Dentistry*, 93, 103224. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2019.103224>
- Parizi, M. K., Akbari, H., Malek-Mohamadi, M., Parizi, M. K., & Kakoei, S. (2019). Association of salivary levels of immunoglobulin-A and amylase with oral-dental manifestations in patients with controlled and noncontrolled type 2 diabetes. *BMC Oral Health*, 19, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12903-019-0868-4>
- Pels, E. J. (2017). Oral mucositis and saliva IgA, IgG and IgM concentration during anti-tumor treatment in children suffering from acute lymphoblastic leukemia. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 26, 1351–1358. <https://doi.org/10.17219/acem/64940>
- Pereira, P. P. D. S., Mata, F. A. F. D., Figueiredo, A. C. M. G., Silva, R. B., & Pereira, M. G. (2019). Maternal exposure to alcohol and low birthweight: A systematic review and meta-analysis. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 41, 333–347. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1688905>
- Rai, K., Hegde, A., Kamath, A., & Shetty, S. (2011). Dental caries and salivary alterations in type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 36, 181–184. <https://doi.org/10.17796/jcpd.36.2.x436ln878221g364>
- Reiff, R. L. (1984). Serum and salivary IgG and IgA response to initial preparation therapy. *Journal of Periodontology*, 55, 299–305. <https://doi.org/10.1902/jop.1984.55.5.299>
- Rosa, O. P. D. S., Rocha, R. S. S., & Lopes, E. S. (1993). Salivary immunoglobulins and prevalence of caries in patients with insulin-dependent diabetes mellitus (DMID). *Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru*, 1, 18–21.
- Sadeghi, R., Taleghani, F., Mohammadi, S., & Zohri, Z. (2017). The effect of diabetes mellitus type 1 on periodontal and dental status. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 11, ZC14–ZC17. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/25742.10153>
- Sakowicz-Burkiewicz, M., Kocbuch, K., Grden, M., Maciejewska, I., Szutowicz, A., & Pawelczyk, T. (2013). High glucose concentration impairs ATP outflow and immunoglobulin production by human peripheral B lymphocytes: Involvement of P2X7 receptor. *Immunobiology*, 218, 591–601. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.07.010>
- Sandholm, L., Tolo, K., & Olsen, I. (1987). Salivary iga, a parameter of periodontal disease activity? High responders to Actinobacillus actinomycetemcomitans Y4 in juvenile and adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 14, 289–294. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1987.tb01535.x>
- Saremi, A., Nelson, R. G., Tulloch-Reid, M., Hanson, R. L., Sievers, M. L., Taylor, G. W., et al. (2005). Periodontal disease and mortality in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 28, 27–32.
- Schünemann, H., Brozek, J., Guyatt, G., & Oxman, A. (2013). GRADE handbook for grading quality of evidence and strength of recommendations. Updated October 2013. The GRADE working group. Available from: guidelinedevelopment.org/handbook/2013.
- Shahbaz, S., Katti, G., Ghali, S. R., Katti, C., Diwakar, D. D., & Guduba, V. (2014). Salivary alterations in type 1 diabetes mellitus patients: Salivary glucose could be noninvasive tool for monitoring diabetes mellitus. *Indian Journal of Dental Research*, 25, 420–424. <http://www.ijdr.in/text.asp?2014/25/4/420/142512>
- Shahbaz, S., Katti, C., Khan, M. M., & Pawar, K. (2017). Evaluation of salivary total protein in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients. *International Journal of Current Research and Review*, 9, 1–3. <https://doi.org/10.7324/IJCRR.2017.9231>
- Ship, J. A. (2003). Diabetes and oral health: An overview. *The Journal of the American Dental Association*, 134, 4S–10S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2003.0367>
- Siudikiene, J., Machiulskiene, V., Nyvad, B., Tenovuo, J., & Nedzelskiene, I. (2008). Dental caries increments and related factors in children with type 1 diabetes mellitus. *Caries Research*, 42, 354–362. <https://doi.org/10.1159/000151582>
- Tenovuo, J., Lehtonen, O. P., Vkari, J., Larjava, H., Vilja, P., & Tuohimaa, P. (1986). Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Dental Research*, 65, 62–66. <https://doi.org/10.1177/00220345860650011101>
- Thomas, N. J., Jones, S. E., Weedon, M. N., Shields, B. M., Oram, R. A., & Hattersley, A. T. (2018). Frequency and phenotype of type 1 diabetes in the first six decades of life: A cross-sectional, genetically stratified survival analysis from UK Biobank. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6, 122–129. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30362-5](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30362-5)
- Tiller, K. E., & Tessier, P. M. (2015). Advances in antibody design. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 17, 191–216. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071114-040733>
- Yavuzylmaz, E., Yumak, Ö., Akdoğanlı, T., Yamalik, N., Özer, N., Ersoy, F., et al. (1996). The alterations of whole saliva constituents in patients with diabetes mellitus. *Australian Dental Journal*, 41, 193–197. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.1996.tb04855.x>

CAPÍTULO 2

Avaliação de parâmetros salivares, plasmáticos, nutricionais, gengivais e de experiência de cárie em crianças com e sem diabetes mellitus tipo 1

Título curto: diabetes mellitus tipo 1 e crianças

Renata Asfor Rocha Carvalho Martins¹, Sara Maria Silva¹, Paulo Goberlânio de Barros¹ Silva, Cláudia Ferreira Santos², Ana Paula Dias Rangel Montenegro³, Adriana Costa e Forti⁴, Fábio Wildson Gurgel Costa¹, Cristiane Sá Roriz Fonteles¹, Thyciana Rodrigues Ribeiro^{1}*

¹ Departamento de Clínica Odontológica, Universidade Federal do Ceará, R. Monsenhor Furtado S/N, Rodolfo Teófilo, 60430-350, Fortaleza, Brasil

² Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Universidade Estadual do Ceará, Av. Dr. Silas Munguba 1700, Itaperi, 60714-903, Fortaleza, Brasil

³ Hospital Universitário Walter Cantídio, Ceará, R. Pastor Samuel Munguba 1290, Rodolfo Teófilo, 60430-372, Fortaleza, Brasil

⁴ Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão, R. Silva Paulet 2406, Aldeota, 60120-021, Fortaleza, Brasil

*Autor correspondente: Tel.: +55 85 33668425

Fax.: +55 85 33668425

E-mail: thyciana.ribeiro@ufc.br

Contribuições dos autores: RARCM e SMS realizaram a pesquisa. RARCM e TRR elaboraram o estudo de pesquisa. SMS, CFS, APDRM, ACF e FWGC contribuíram com ferramentas essenciais. PGBS analisou os dados. RARCM e TRR escreveram o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Resumo

Objetivou-se avaliar a associação entre parâmetros salivares: glicose (GS), fluxo, pH e concentração de proteínas; glicemias em jejum e pós-prandial; hemoglobina glicada; índices de cárie (IC), placa (IP) e sangramento gengival (IS); e dieta em crianças com (CDM1) e sem (SDM1) diabetes mellitus tipo 1. Os grupos CDM1 e SDM1 foram compostos por 36 e 49 pacientes. Para avaliação de IC, IP e IS foi realizado o exame clínico odontológico. O padrão alimentar foi obtido através do diário de dieta. Saliva total não estimulada foi coletada, sendo a concentração de proteínas salivares analisada pelo método do ácido bicinônico. Foi utilizado $p < 0,05$ e software SPSS®. Não houve diferença de fluxo salivar médio ($p = 0,649$), IC ($p = 0,868$), IP ($p = 0,618$) e concentração de proteínas ($p = 0,712$). CDM1 apresentou menores IS ($p = 0,031$) e pH ($p < 0,001$), maiores valores para número médio de refeições ($p < 0,001$) e refeições à base de carboidratos ($p < 0,001$), menor média dos intervalos ($p < 0,001$) e maior GS ($p = 0,036$). GS foi diretamente correlacionada com glicemia em jejum ($p = 0,043$) em CDM1 e mostrou colinearidade positiva com contagem de fibras ($p = 0,018$) e glicose em jejum ($p = 0,048$). Em CDM1, o sexo feminino ($p = 0,033$) foi significativamente associado ao IP, o número de refeições com sacarose mostrou colinearidade inversa com esse parâmetro ($p = 0,046$) e o pH ($p = 0,034$) mostrou colinearidade direta. O IS mostrou colinearidade direta com a idade ($p = 0,043$) e com a glicemia pós-prandial ($p = 0,023$). Em conclusão, GS não mostrou associação com as variáveis em SDM1, mas com glicemia em jejum e dieta em CDM1.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus Tipo 1; Saliva; Dieta; Cárie Dentária; Gengiva.

Introdução

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico de origem multifatorial, caracterizado por hiperglicemia crônica devido a falhas na secreção e/ou na ação da insulina, causando resistência à insulina.¹ Atualmente, a Associação Americana de Diabetes propõe uma classificação que integra quatro classes clínicas dessa condição: diabetes tipo 1 (DM1), diabetes tipo 2 (DM2), diabetes gestacional e tipos específicos de diabetes por outras causas.² Segundo dados publicados pela Sociedade Brasileira de Diabetes, o DM1 tem incidência aproximada de 7,6 casos por 100.000 indivíduos menores de 15 anos e aumento da incidência principalmente em menores de 5 anos.³

O DM1 é uma doença crônica caracterizada pela destruição parcial ou total das células beta pancreáticas nas ilhotas de Langerhans, resultando na incapacidade progressiva de produzir insulina.³ A insulina regula a homeostase da glicose em vários níveis, portanto a deficiência desse hormônio gera hiperglicemia e, conseqüentemente, altas concentrações de glicose no plasma sanguíneo, o que pode levar ao desenvolvimento de degeneração crônica associada à falência de vários órgãos.⁴ Com base em critérios de glicose plasmática (glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e hemoglobina glicada), é possível realizar o diagnóstico e o monitoramento dessa condição.⁵

Estudos sugerem que o DM1 tem um efeito direto sobre a saúde bucal.⁶⁻⁹ Segundo Ismail, McGrath e Yiu (2015), crianças com essa condição apresentaram um estado geral de saúde bucal ruim quando comparadas a crianças saudáveis. Entre as alterações orais mais estudadas, destacam-se a cárie dentária e a doença periodontal.⁶ A associação entre DM1 e cárie dentária ainda não foi totalmente elucidada.¹⁰ Para Siudikiene et al. (2006), fatores como o aumento da concentração de glicose na saliva ou a redução do fluxo salivar predispõem ao início e ao progresso da cárie dentária nesses pacientes.¹¹ Por sua vez, indivíduos com DM1 têm aumentada suscetibilidade à doença periodontal,¹² especialmente aqueles com um curso maior da doença, pobre controle metabólico e complicações do diabetes.¹³⁻¹⁵

As escolhas alimentares promovem efeito direto sobre o equilíbrio energético – e, conseqüentemente, sobre o peso corporal – e os níveis pressóricos e de lipídeos plasmáticos.¹⁶ No DM1, a dieta adequada é essencial devido a sua conjugação com a utilização da insulina exógena, que tem sua resistência diminuída mediante uma ingestão energética adequada.¹⁷ Sugere-se, portanto, que o DM1 está intimamente associado ao metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas e outros nutrientes.³ Zeevi et al. (2015), por exemplo, demonstraram que os carboidratos exercem maior influência na variabilidade glicêmica pós-prandial.¹⁸

As fibras solúveis contribuem positivamente para o controle glicêmico pós-prandial, pois retardam a absorção da glicose melhorando a sua tolerância.¹⁹⁻²¹ Schneeman²² (1999) e Silva, de Almeida e Feoli.²³ (2011) mostraram que a ingestão adequada de fibras na dieta eleva os níveis de adiponectina, que resulta na melhora da sensibilidade à insulina, na redução de inflamação e na melhora da concentração plasmática de glicose em diabéticos. Por muito tempo, acreditou-se na prescrição alimentar restritiva e com exclusão total de alguns alimentos. Entretanto, atualmente, a terapia nutricional deve objetivar não somente o equilíbrio glicêmico, mas também prevenir e retardar a taxa de desenvolvimento de complicações.¹⁷

A saliva representa a principal defesa da cavidade bucal²⁴ e há evidências de que doenças sistêmicas como o DM1 podem comprometer a função das glândulas salivares e, conseqüentemente, influenciar na quantidade e na qualidade de saliva produzida.^{25,26} A relação entre o DM1 e a composição salivar foi extensivamente investigada.^{11,27-36} Alguns estudos mostraram que o DM1 resulta em uma redução no fluxo salivar,^{27,28,31,33,34,37} que pode estar associada à glicosúria, por causar elevada perda de líquidos e desidratação, reduzindo a produção das glândulas salivares. Além disso, o diabetes pode ter efeito direto sobre as estruturas dessas glândulas,³⁸ favorecendo um fluxo salivar mais lento.³⁹

Estudos sobre a concentração de proteínas totais na saliva de pacientes diabéticos também foram realizados e não apresentam resultados conclusivos. Foi encontrada uma baixa concentração significativa de proteínas em saliva da parótida por Shetty e Pattabiraman⁴⁰ (1998) e Mata et al.²⁵ (2004). Por outro lado, Lopez, Colloca e Paez (2011) observaram um aumento da concentração de proteínas salivares e justificaram tal fato com a maior concentração de microrganismos presentes na cavidade oral desses pacientes, que também apresentaram uma higiene oral insatisfatória.⁴¹ Malicka, Kacksmarek e Skókievicks-Malinowska (2015), que reportaram concentrações elevadas de proteínas totais na saliva total não estimulada de pacientes com DM1 e DM2, justificaram os resultados com a diminuição do fluxo salivar também observada nos mesmos pacientes.⁴² Em outro estudo publicado em 2014, os mesmos autores já haviam observado uma correlação negativa entre o fluxo salivar e a concentração de proteínas totais.⁴³

Outro importante parâmetro avaliado foi o potencial hidrogeniônico (pH). Segundo Moreira et al. (2009), o baixo pH da saliva de pacientes com DM1 é forte evidência de redução da capacidade tampão e aumento do risco de cárie.³² Lopez et al. (2003) relataram que o pH ácido em crianças com a doença pode estar relacionado à atividade microbiana ou a uma diminuição da concentração de bicarbonato no fluxo salivar.⁴⁴

Sabe-se que o automonitoramento da glicose é considerado uma importante ferramenta no controle do DM1,⁴⁵ porém a frequência e a constância da realização da glicemia capilar são afetadas pelo desconforto associado à dor e pelo aparecimento de calosidades nos dedos.^{46,47} A saliva pode refletir o estado fisiológico do corpo e suas variações endócrinas, nutricionais, emocionais e metabólicas, atuando como uma importante fonte de monitoramento da saúde bucal e sistêmica.⁴⁸ Atualmente, admite-se uma correlação entre a composição do sangue e da saliva.⁴⁹ Desse modo, o emprego da saliva como matriz de análise já foi relatada como possível na comprovação de desordens hereditárias, na identificação precoce de alterações imunológicas e de processos infecciosos, bem como no controle da resposta imunológica e dos níveis hormonais.^{50,51}

Até o momento, não há estudos avaliando a relação entre níveis elevados de glicose salivar e hábitos alimentares de pacientes com DM1, especialmente na faixa etária de 2 a 12 anos. Com o objetivo de avaliar a associação entre glicose, fluxo, pH e concentração de proteínas salivares; glicemia em jejum e pós-prandial; hemoglobina glicada; índices de cárie, placa e sangramento gengival; e dieta em crianças com (CDM1) e sem (SDM1) diabetes mellitus tipo 1, foi desenhado o presente estudo.

Métodos

Desenho do estudo e considerações éticas

O presente estudo (observacional, transversal e analítico) foi aprovado, em 2015, no Comitê de Ética da Universidade Federal do Ceará (protocolo número 1.020.102). Os termos de consentimento e de assentimento foram assinados pelos responsáveis legais e pelos pacientes, respectivamente, antes da inclusão dos pacientes neste estudo.

População e amostra

A população deste estudo consistiu em todos os pacientes com diabetes mellitus tipo 1 do setor de Endocrinologia Clínica do Hospital Universitário Walter Cantúdio (HUWC) e do Centro Integrado de Diabetes e Hipertensão (CIDH), que são os maiores serviços públicos de referência no diagnóstico e acompanhamento desse grupo de pacientes, ambos localizados na cidade de Fortaleza (Ceará, Brasil). Pacientes que apresentaram hemoglobina glicada (A1c) > 10%, complicações micro/macrovasculares recentes e/ou doenças infecciosas persistentes, neoplasias, síndromes ou anomalias craniofaciais foram excluídos da pesquisa. Foram, então, selecionadas 36 crianças com DM1, de ambos os sexos, com idades entre 2 e 12 anos (CDM1). Para o grupo controle, foram recrutados 49 voluntários saudáveis (SDM1) que procuraram

atendimento na clínica de Odontopediatria da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, com idade e sexo correspondentes aos indivíduos acometido pela doença (Figura 1).

Protocolo clínico

Coleta e fluxo salivares

Os responsáveis legais foram orientados a realizar os procedimentos de higiene oral de rotina das crianças, bem como a privá-las da ingestão de quaisquer alimentos, pelo menos uma hora antes da coleta. A saliva total não estimulada foi coletada no período entre 8h e 10h, para reduzir possível influência do ritmo circadiano. A saliva foi coletada após 30 minutos de repouso por 5 minutos com pipeta plástica tipo Pasteur. A saliva coletada foi armazenada em tubos Eppendorf®. As amostras foram mantidas e transportadas sob gelo para posterior centrifugação. Após centrifugação a 4°C, 12.000G, por 10 min (Eppendorf Centrifuge 5804 R, Alemanha), os sobrenadantes foram liofilizados e armazenados a -80°C para posterior análise.⁵²

O fluxo salivar foi calculado a partir do volume obtido em mililitros, dividido por 5 minutos (tempo referente à coleta).⁵²

Avaliação dos níveis glicêmicos

Para avaliação do controle metabólico, informações foram coletadas sobre teste de glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e A1c fornecidas pelos responsáveis pelos pacientes do grupo CDM1. Para o grupo SDM1 foram solicitados exames hematológicos.

Protocolo de avaliação de índice de placa e índice gengival

Para avaliação do índice de placa, realizou-se secagem do dente e utilização de espelho bucal e sonda exploradora para acessar a placa. Foram registradas quatro possíveis áreas de cada dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular e lingual), sendo cada área classificada em: 0 – ausência de placa na área gengival; 1 – placa aderida na margem gengival livre e área adjacente ao dente; 2 – acúmulo moderado de depósitos macios dentro da bolsa gengival, ou na margem gengival e na superfície adjacente do dente; 3 – abundância de material macio dentro da bolsa gengival e/ou na margem gengival e na superfície adjacente ao dente. A soma dos índices de placa de cada dente foi dividida por quatro para obtenção do índice de placa por dente. Para obtenção do índice de placa por indivíduo, somou-se o índice de placa por dente e dividiu-se pelo número de dentes examinados.⁵³

Para obtenção do índice gengival, uma sonda OMS foi utilizada para acessar o potencial de sangramento dos tecidos gengivais em quatro áreas para cada dente: papila disto-vestibular, margem vestibular, papila méso-vestibular e margem lingual completa. Cada uma dessas áreas foi classificada em: 0 – ausência de inflamação; 1 – inflamação suave, leves mudança de cor e edema, sem sangramento à palpação; 2 – inflamação moderada, gengiva edemaciada, sangramento à palpação; 3 – inflamação severa, gengiva marcadamente edemaciada e com ulcerações, tendência a sangramento espontâneo. O escore por paciente foi alcançado através da soma dos escores por dente para, então, dividir pelo número de dentes. Os escores do índice gengival foram associados a vários graus de gengivite.⁵⁴

Exame clínico para ICDAS

A presença de lesões cariosas foi verificada através do Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Cáries (ICDAS),⁵⁵ que consistiu nas seguintes etapas: (1) profilaxia para limpeza dos dentes, (2) posicionamento de rolete de algodão no vestibulo lingual, (3) remoção do excesso de saliva com sugador, (4) inspeção visual da superfície umedecida, (5) secagem da superfície dental durante 5 segundos, (6) exame em elemento dentário seco. Os examinadores foram previamente calibrados por um examinador padrão-ouro para o ICDAS. Os dados foram registrados em fichas padrão para ICDAS de acordo com os códigos para lesão de cárie do ICDAS, que variam de 0 a 6 (Tabela 1).

Diário de dieta

A fim de avaliar os fatores dietéticos que poderiam influenciar os padrões de glicose e pH salivares, bem como o risco de cárie, foram obtidas e registradas em um diário de dieta informações sobre o padrão alimentar dos voluntários. Foram coletados dados referentes à dieta realizada no período de 24h anterior à coleta de saliva. Os responsáveis pelos voluntários forneceram informações detalhadas sobre os alimentos consumidos, as quantidades e o modo de preparo. Todas as quantidades foram convertidas para gramas. A partir dos dados fornecidos, foi possível determinar: (1) número total de refeições, (2) número total de refeições contendo carboidratos, (3) número total de refeições contendo sacarose, (4) contagem de carboidratos (em gramas), (5) contagem de proteínas (em gramas), (6) contagem de lipídeos (em gramas), (7) contagem de fibras (em gramas) e (8) intervalos médios entre as refeições (em minutos).

Para a contagem de carboidratos, foi utilizado o método de contagem de gramas, que consiste em somar os gramas desse macronutriente para cada alimento por refeição, obtendo informações nas tabelas e nos rótulos dos alimentos. Também é possível usar o manual

de contagem de carboidratos desenvolvido pela Sociedade Brasileira de Diabetes para avaliar gramas de carboidratos em uma refeição.⁵⁶

Por fim, as contagens de proteínas, lipídios e fibras foram obtidas por meio da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), que gera dados sobre a composição dos principais alimentos consumidos no Brasil, a partir de um plano de amostragem que garante valores representativos, com análises realizadas por laboratórios com capacidade analítica comprovada através de estudos interlaboratoriais, a fim de garantir a confiabilidade dos resultados.⁵⁷⁻⁶²

Protocolo analítico

Análise de glicose na saliva

O nível de glicose salivar foi determinado por meio do Liquiform Glucose Kit (Glucose Liquicolor, in vitro Diagnostica, Brasil). Foram transferidos 10µl de cada amostra para tubos de hemólise previamente numerados. Em seguida, 1ml do reagente enzimático previamente preparado de acordo com o fabricante foi adicionado a cada tubo de hemólise contendo saliva. A solução padrão foi usada para calcular o nível de glicose salivar. Uma solução branca composta por apenas 1ml da enzima reagente também foi preparada. O objetivo da solução branca era zerar o espectrofotômetro (Nanodrop 2000, Thermo Scientific, EUA). Após o preparo dos tubos, eles foram misturados por 15 segundos no misturador, com o objetivo de homogeneizar a saliva e a enzima reagente. A saliva com a solução padrão foi incubada em banho-maria a 37°C por 5 minutos. As soluções de glicose salivar foram transferidas para cubetas de 1,5ml e a absorbância foi lida em espectrofotômetro (Nanodrop 2000, Thermo Scientific, EUA) no comprimento de onda de 500nm. Após cada leitura, a amostra foi descartada e a cubeta foi lavada três vezes com água destilada e seca com um lenço de papel.⁵²

Análise de pH na saliva

Através de um pHmetro portátil digital (Marconi, Marconi, São Paulo, Brasil), foi determinado o pH salivar. O aparelho passou inicialmente por uma calibração, utilizando-se soluções tamponadas com pH 4,0 e 7,0. Em seguida, o ponteiro sensor do aparelho foi imerso em saliva por 30 segundos, sendo feita a leitura automática do pH. Cada amostra de saliva foi lida em triplicata e a média do pH mensurado foi reportada para análise estatística.⁶³

Dosagem de proteínas totais salivares pelo método do ácido bicinonínico (BCA)

Para determinação de concentração de proteínas totais das alíquotas de saliva foi-se utilizado o método BCA, sendo considerada como padrão de referência, a curva de albumina padrão (BSA). Foi empregado um kit comercial (Pierce, Thermo Scientific, EUA) e seguidas as orientações do fabricante. A solução foi homogeneizada e lida a uma absorbância de 562nm através do espectrofotômetro, sendo os resultados calculados com base na curva de BSA.⁶⁴

Análise estatística

Os dados foram tabulados no Microsoft Excel® e exportados para o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS®) versão 20,0 para Windows®, no qual as análises foram realizadas adotando uma confiança de 95%. Foram calculadas as médias de cada grupo, as quais foram submetidas ao teste de normalidade de Kolmogorv-Smirnov e analisadas pelos testes de Mann-Whitney e correlação de Spearman (dados não paramétricos). A glicose salivar e os índices de cárie, de placa e de sangramento de cada grupo foram submetidos a modelo de regressão linear múltipla.

Resultados

A presente amostra foi constituída de 85 pacientes, sendo o grupo CDM1 composto por 16 crianças do sexo masculino e 20 do sexo feminino, com idade média de 6,86 ($\pm 1,91$). O grupo SDM1 foi composto por 25 pacientes do sexo masculino e 24 do sexo feminino, com idade média de 7,24 ($\pm 2,20$).

Não houve diferença significativa na distribuição etária ($p = 0,301$) e por sexo ($p = 0,549$) entre os dois grupos de estudo. Não houve diferença entre os grupos em relação ao número de refeições à base de sacarose ($p = 0,917$) e nas contagens de carboidratos ($p = 0,689$) e de proteínas ($p = 0,406$). O grupo CDM1 apresentou menor média dos intervalos entre as refeições ($p < 0,001$), maiores contagens de lipídeos ($p = 0,023$) e glicose salivar ($p = 0,036$), contagem de fibras ($p = 0,043$), número médio de refeições ($p < 0,001$) e número médio de refeições à base de carboidratos ($p < 0,001$). Não houve diferença no fluxo salivar médio ($p = 0,649$) e nos índices de cárie ($p = 0,868$) e placa ($p = 0,618$), mas os pacientes CDM1 apresentaram menor índice de sangramento ($p = 0,031$). A concentração de proteínas não diferiu entre os grupos ($p = 0,712$), mas o pH foi significativamente menor no grupo CDM1 ($p < 0,001$) (Tabela 2). No que diz respeito ao perfil socioeconômico, os grupos não apresentaram diferença significativa ($p = 0,460$), com 68,6% da amostra com renda de até 1 salário mínimo por família.

Nos pacientes SDM1, a idade foi inversamente correlacionada com o número de refeições ($p < 0,001$) e o número de refeições à base de carboidratos ($p = 0,036$) e diretamente correlacionada com o índice de sangramento ($p = 0,004$). O número de refeições se

correlacionou diretamente com o número de refeições à base de carboidratos ($p < 0,001$) e com a contagem de lipídeos ($p = 0,026$) e inversamente com a média dos intervalos ($p < 0,001$), a glicose salivar ($p = 0,003$) e o índice de sangramento ($p = 0,033$). O número de refeições com carboidratos foi diretamente correlacionado com a contagem de lipídeos ($p = 0,026$) e inversamente correlacionado com a média dos intervalos em minutos ($p < 0,001$), a glicose salivar ($p = 0,003$) e o índice de sangramento ($p = 0,033$). O número de refeições com sacarose se correlacionou positivamente com contagem de carboidratos ($p = 0,042$) e contagem de fibras ($p = 0,007$). A contagem de carboidratos se correlacionou diretamente com a contagem de proteínas ($p = 0,003$), contagem de lipídeos ($p = 0,001$) e contagem de fibras ($p < 0,001$) e inversamente com a glicose salivar ($p = 0,042$). Já a contagem de proteínas mostrou correlação direta com a contagem de lipídeos ($p = 0,001$) e fibras ($p = 0,002$) e foi inversamente correlacionada com a glicose salivar ($p = 0,033$). A contagem de lipídeos foi inversamente correlacionada com o índice de placa ($p = 0,010$) e a glicose salivar inversamente relacionada com o fluxo salivar ($p < 0,001$) e diretamente com o índice de placa ($p = 0,042$) e com o índice de sangramento ($p = 0,009$). O fluxo salivar também mostrou correlação inversa com a concentração de proteínas ($p < 0,001$), e o índice de cárie mostrou correlação direta com o índice de placa ($p = 0,041$) e inversa com o pH ($p = 0,001$). O índice de placa também foi diretamente relacionado com o índice de sangramento ($p < 0,001$) (Tabela 3).

Nos pacientes diabéticos, a idade foi diretamente correlacionada com o índice de placa ($p = 0,032$) e de sangramento ($p = 0,001$). O número de refeições e o número de refeições com carboidratos também foram diretamente correlacionados ($p < 0,001$), e houve correlação inversa com a média de intervalos ($p = 0,001$) e a hemoglobina glicada ($p = 0,016$). O número de refeições com sacarose foi inversamente correlacionado com o índice de placa ($p = 0,010$). A contagem de carboidratos foi diretamente correlacionada com a contagem de lipídeos ($p < 0,001$), fibras ($p = 0,001$) e fluxo salivar ($p = 0,032$). A glicose salivar foi diretamente correlacionada com a glicemia em jejum ($p = 0,043$), o fluxo salivar inversamente com a concentração de proteínas ($p = 0,008$) e a glicemia em jejum inversamente com a glicemia pós-prandial ($p = 0,017$). A glicemia pós-prandial foi diretamente correlacionada com o índice de sangramento ($p = 0,013$) e a hemoglobina glicada com o pH ($p = 0,021$). Índice de placa e de sangramento também foram diretamente correlacionados ($p < 0,001$) (Tabela 4).

Em análise multivariada no grupo SDM1, a glicose salivar não mostrou estar associada a nenhuma variável, mas, nos pacientes do grupo CDM1, a glicose salivar mostrou colinearidade positiva com a contagem de fibras ($p = 0,018$) e a glicose em jejum ($p = 0,048$) (Tabela 5).

Em análise multivariada no grupo CDM1, o sexo feminino ($p = 0,033$) foi significativamente associado ao índice de placa, o número de refeições contendo sacarose mostrou colinearidade inversa com esse parâmetro ($p = 0,046$) e o pH ($p = 0,034$) mostrou colinearidade direta. O índice de sangramento mostrou colinearidade direta com a idade ($p = 0,043$) e com a glicemia pós-prandial ($p = 0,023$). Nenhuma variável foi associada ao índice de cárie (Tabela 6).

Discussão

O DM1 é uma síndrome que apresenta um metabolismo anormal de carboidrato, gordura e proteína, que provoca um processo agudo, bem como consequências crônicas, por causa da falta absoluta ou relativa de insulina.⁶⁵ Crianças com diabetes mellitus tipo 1 enfrentam muitos obstáculos, entre eles estão aqueles relacionados à saúde bucal.^{30,65-67} Ao longo dos anos, foram feitas muitas associações entre DM1 e doença periodontal, cárie, infecções orais, distúrbios de glândulas salivares, entre outros, porém muitas ainda com resultados inconclusivos. No presente estudo, avaliou-se a prevalência de cárie, condição gengival, características salivares, condição socioeconômica e a relação dessas variáveis ao controle metabólico e ao padrão alimentar de crianças diabéticas.

No que diz respeito à cárie dentária, estudos mostraram não haver diferença significativa entre pacientes com DM1 e saudáveis,^{69,70} corroborando os achados da nossa pesquisa. Com uma visão diferente, outros artigos sustentam a ideia de prevalência de cárie significativamente maior em pacientes diabéticos.⁶⁹⁻⁷¹ Autores associaram o risco aumentado de cárie dentária com a redução do fluxo salivar,⁶⁷ o baixo controle metabólico, a higiene oral deficiente e as escassas visitas ao dentista,^{65,69} consequência da falta de conscientização dos pais sobre importância da saúde bucal e de sua influência no diabetes, sendo, por vezes, pouco atenciosos com lesões de cárie em seus filhos.^{69,72,73} Essa heterogeneidade entre os achados pode estar relacionada à variação da prevalência de cárie entre os indivíduos avaliados, a diferentes tamanhos de amostra ou ao ponto de corte de hemoglobina glicada selecionada para cada estudo.⁷⁰

Xerostomia é um achado frequente em adultos, cuja causa ainda é indefinida, mas pode estar associada à angiopatia, à neuropatia, ao uso de medicações e à idade dos pacientes. Em estudo com crianças com DM1, somente 10% apresentaram hipossalivação.⁴³ Ferizi et al.⁶⁹ (2018) e Ben-Aryeh et al.⁷⁴ (1988) mostraram em suas pesquisas que pacientes diabéticos apresentaram menor fluxo salivar, podendo ser justificado por hiperglicemia e glicosúria, situações que provocam uma menor secreção de saliva, sendo mais expressivas em pacientes

de baixo controle metabólico.^{75,76} Os resultados do nosso estudo mostraram não haver diferença significativa entre o fluxo salivar médio de diabéticos e controles, possivelmente por causa da pouca idade dos pacientes avaliados.

Del Valle e Ocasio-Lopez⁷¹ (2011), Al-Khabbaz et al.⁷⁷ (2013), Babatzia et al.⁶⁸ (2019) e Elheeny⁷⁰ (2020) publicaram que crianças e adolescentes com DM1 apresentam com mais frequência sinais de inflamação gengival e sangramento à sondagem, associados a elevados níveis de hemoglobina glicada. Nosso estudo também mostrou uma significativa associação positiva entre os índices de placa e de sangramento gengival em diabéticos, porém nesse grupo o índice de sangramento gengival foi menor. Esse fato pode ser justificado pela possível desregulação das vias de sinalização das plaquetas nesses pacientes, promovendo uma hiperativação plaquetária.⁷⁸

Os resultados do presente estudo confirmam que a glicose salivar é maior no grupo com DM1 quando comparada a pacientes sem a doença, assim como foi mostrado em estudos anteriores.^{27,79-82} Possivelmente a justificativa para tal fato é o aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos nesses pacientes, que leva a um aumento de percolação de glicose do sangue para a saliva.⁸⁰ Balan et al.⁸¹ (2014) atribuíram o aumento da glicose salivar em diabéticos ao padrão alimentar da população estudada, que se mostrou rico em carboidratos. Contudo, Ben-Aryeh et al.⁷⁴ (1988) advertiram que a medição de glicose na saliva da glândula parótida é mais confiável do que da saliva total, que é uma mistura de secreções na qual a microbiota bacteriana pode utilizar glicose e, assim, diminuir a concentração.

Episódios de hipoglicemia são frequentes em pacientes diabéticos tratados com insulina, que podem se manifestar através de tremores, aumento da frequência cardíaca, palidez e náusea. Entre as causas estão prática de atividade física e excesso de insulina, bem como longos períodos em jejum e ingestão insuficiente de carboidratos.⁸³ Sendo assim, por receio da exagerada redução do nível de glicose no sangue, pais e responsáveis legais aumentam o número médio de refeições e o número médio de refeições com carboidratos, além de diminuir o intervalo entre estas, fatos observados no grupo CMD1 quando comparado aos pacientes saudáveis nesta pesquisa.

Um diário recordatório de 24 horas é um instrumento utilizado para a avaliação do consumo alimentar, também previamente utilizado em estudos com pacientes diabéticos, que fornece dados sobre alimentos e bebidas consumidos, tamanho das porções e preparo.^{84,85}

O fluxo de água está diretamente relacionado com o fluxo de glicose e sódio. O co-transportador de glicose/sódio-dependente (SGLT1) é responsável pelo transporte de água no intestino delgado, resultando em uma maior absorção de líquidos devido à presença de carboidratos. Além disso, foi mostrado que, para cada molécula de glicose transportada pelo SGLT1, 260 moléculas de água também são transportadas.⁸⁶ Esse fato pode ser a justificativa para a correlação positiva que encontramos entre a contagem de carboidratos no grupo de indivíduos diabéticos com fluxo salivar.

Como limitações do trabalho, podemos considerar o ponto de corte da hemoglobina glicada, visto que, com valores menores que 10%, os diabéticos podem apresentar características semelhantes a de indivíduos sem a doença. Outra limitação foi sobre o tempo de estudo. Um acompanhamento longitudinal dos pacientes poderia mudar os desfechos, pois, com mais tempo de diagnóstico da doença, as famílias poderiam estar mais familiarizadas com os cuidados que a doença exige.

Conclusão

A glicose salivar mostrou associação com glicemia em jejum e padrões alimentares em pacientes com DM1, mas não mostrou correlação com as demais variáveis em pacientes saudáveis. Ao comparar os dois grupos, os pacientes diabéticos apresentaram menores índices de sangramento gengival e pH salivar.

Referências

1. Sadeghi A, Hami J, Razavi S, et al. The effect of diabetes mellitus on apoptosis in hippocampus: cellular and molecular aspects. *Int J Prev Med.* 2016;7:57.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2019. *Diabetes Care.* 2019;42(Suppl 1):S13-S28.
3. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes 2017-2018/Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo: Editora Clannad, 2017.
4. Carlsson S. Insulin and glucagon secretion in patients with slowly progressing autoimmune diabetes (LADA). *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(1):76-80.
5. International Expert Committee. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:1327-1334.
6. Ismail AF, McGrath CP, Yiu CK. Oral health of children with type 1 diabetes mellitus: a systematic review. *Diabetes Res Clin Pract.* 2015;108(3):369-381.

7. Coelho ASEDC, Carneiro AS, Pereira VF, et al. Oral health of Portuguese children with type 1 diabetes: a multiparametric evaluation. *J Clin Pediatr Dent.* 2018;42(3):231-235.
8. Geetha S, Pramila M, Jain K, et al. Oral health status and knowledge among 10-15 years old type 1 diabetes mellitus children and adolescents in Bengaluru. *Indian J Dent Res.* 2019;30(1):80.
9. Babatzia A, Papaioannou W, Stavropoulou A, et al. Clinical and microbial oral health status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Int Dent J.* 2020;70(2):136-144.
10. Alves C, Menezes R, Brandão M. Salivary flow and dental caries in Brazilian youth with type 1 diabetes mellitus. *Indian J Dent Res.* 2012;23(6):758.
11. Siudikiene J, Machiulskiene V, Nyvad B, et al. Dental salivary status in children with type 1 diabetes mellitus, related to metabolic control of the disease. *Eur J Oral Sci.* 2006;114:8-14.
12. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent.* 2008;29:402-408,410,412-413.
13. Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, et al. Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *J Diabetes Complications.* 2006;20(1):59-68.
14. Orlando VA, Johnson LR, Wilson AR, et al. Oral health knowledge and behaviors among adolescents with type 1 diabetes. *Int J Dent.* 2010;942124.
15. Ajita M, Karan P, Vivek G, et al. Periodontal disease and type 1 diabetes mellitus: associations with glycemic control and complications: an Indian perspective. *Diabetes Metab Syndr.* 2013;7(2):61-63.
16. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020/Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo: Editora Clannad, 2019.
17. Lottenberg AMP. Características da dieta nas diferentes fases da evolução do diabetes melito tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008;52(2):250-259.
18. Zeevi D, Korem T, Zmora N, et al. Personalized nutrition by prediction of glycemic responses. *Cell.* 2015;163(5):1079-1094.
19. Hannan JM, Ali L, Rokeya B, Khaleque J, et al. Soluble dietary fibre fraction of trigonella foenum-graecum (fenugreek) seed improves glucose homeostasis in animal models of type 1 and type 2 diabetes by delaying carbohydrate digestion and absorption, and enhancing insulin action. *J Nutr.* 2007;97(3):514-521.
20. O'Keefe JH, Gheewala NM, O'Keefe JO. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(3):249-255.

21. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose – 2017. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(2 Supl.1):1-76.
22. Schneeman BO. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. *J Nutr.* 1999;129:1424S-1427S.
23. Silva FM, de Almeida JC, Feoli AM. Effect of diet on adiponectin levels in blood. *Nutr Rev.* 2011;69(10):599-612.
24. Ladgotra A, Verma P, Raj SS. Estimation of salivary and serum biomarkers in diabetic and non-diabetic patients-a comparative study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(6):ZC56.
25. Mata AD, Marques D, Rocha S, et al. Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Mol Cell Biochem.* 2004;261(1):137-142.
26. Tenovuo J, Lehtonen OP, Vkari J, et al. Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Dent Res.* 1986;65(1):62-66.
27. Belazi MA, Galli-Tsinopoulou A, Drakoulakos D, et al. Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Paediatr Dent.* 1998;8:29-33.
28. Iughetti L, Marino R, Bertolani MF, et al. Oral health in children and adolescents with IDDM – a review. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1999;12(5 Suppl 2):603-610.
29. Edblad E, Lundin AS, Sjödin B, et al. Caries and salivary status in young adults with type 1 diabetes. *Swed Dent J.* 2001;25:53-60.
30. Aren G, Sepet E, Ozdemir D, et al. Periodontal health, salivary status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2003;74:1789-1795.
31. Siudikiene J, Machiulskiene V, Nyvad B, et al. Dental caries increments and related factors in children with type 1 diabetes mellitus. *Caries Res.* 2008;42:354-362.
32. Moreira AR, Passos LA, Sampaio FC, et al. Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42:707-711.
33. Busato IMS, Bittencourt MS, Machado MA, et al. Association between metabolic control and oral health in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109:e51-e56.
34. Busato IM, Ignácio SA, Brancher JA, et al. Impact of clinical status and salivary conditions on xerostomia and oral health-related quality of life of adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2012;40:62-69.
35. Lakshmi PVD, Sridevi E, Sai Sankar AJ, et al. Diagnostic perspective of saliva in insulin dependent diabetes mellitus children: an in vivo study. *Contemp Clin Dent.* 2015;6:443-447.

36. IM SB, Antoni CC, Calcagnotto T, et al. Salivary flow rate, buffer capacity, and urea concentration in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2016;29(12):1359-1363.
37. Dodds MW, Johnson DA, Yeh C. Health benefits of saliva: a review. *J Dent.* 2005;33:223-233.
38. Harrison R, Bowen WH. Flow rate and organic constituents of whole saliva in insulin-dependent diabetic children and adolescents. *Pediatr Dent.* 1987;9(4):287-291.
39. Gupta VK, Malhotra S, Sharma V, et al. The influence of insulin dependent diabetes mellitus on dental caries and salivary flow. *Int J Chronic Dis.* 2014;2014:1-5.
40. Shetty PK, Pattabiraman TN. Salivary proteolytic activities in periodontitis, gingivitis and diabetes mellitus. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 1998;13(1):46-51.
41. Lopez ME, Colloca ME, Paez RG. Salivary characteristics of diabetic children. *Braz J Oral Sci.* 2011;10(2):93-97
42. Malicka B, Kaczmarek U, Skośkiewicz-Malinowska K. Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. *Arch Oral Biol.* 2015;60(3):425-431.
43. Malicka B, Kaczmarek U, Skośkiewicz-Malinowska K. Prevalence of xerostomia and the salivary flow rate in diabetic patients. *Adv Clin Exp Med.* 2014;23(2):225-233.
44. Lopez ME, Colloca ME, Paez RG, et al. Salivary characteristics of diabetic children. *Braz Dent J.* 2003;14(1):26-31.
45. Mira GS, Candido LMB, Yale JF. Performance de glicosímetro utilizado no automonitoramento glicêmico de portadores de diabetes mellitus tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006;50(3):541-549.
46. Ferraz DP, Maia FF, Araújo LR. Fingerstick capillary glycemia versus ear lobe measurement: comparative analysis of results and patient preferences. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004;48:389-393.
47. Garg SK, Schwartz S, Edelman SV. Improved glucose excursions using an implantable real-time continuous glucose sensor in adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27:734-738.
48. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis.* 2011;17(4):345-354.
49. Javaid MA, Ahmed AS, Durand R, et al. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2016;6(1):67-76.
50. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva- a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):197-212.

51. Wong DT. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *J Am Dent Assoc.* 2006;137(3):313-321.
52. Ribeiro TR, Dria KJ, De Carvalho CBM, et al. Salivary peptide profile and its association with early childhood caries. *Int J Paediatr Dent.* 2013;23(3):225-234.
53. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964;22:121-135.
54. Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963;21(6):533-551.
55. Pitts NB, Ismail AI, Martignon S, et al. ICCMS™ guide for practitioners and educators. 2014.
56. Sociedade Brasileira de Diabetes. Manual oficial de contagem de carboidratos regional 2009/Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. São Paulo: Editora Clannad, 2019.
57. Bielemann RM, Motta JVS, Minten GC, et al. Consumption of ultra-processed foods and impact on the diet of young adults. *Rev Saude Publica.* 2015;49:10.
58. de Souza RR, de Oliveira TW, da Silva Santos IHV, et al. Fiber-enriched carrot cake development. *Scientific Knowledge.* 2016;5(2):48-56.
59. Mayer D, Ponchek VL, da Silva TG, et al. Hyperlipidic diet and excess body fat in employees of a university hospital in Curitiba-PR. *RBONE.* 2018;12(74):722-729.
60. Kutz NA, de Souza Bonfim VA, Assis AL, et al. Standardization of artisanal enteral diets for home use in primary care. *Revista Family, Life Cycles and Health in the Social Context.* 2018;1:298-305.
61. do Prado BRP, de Moraes IB, de Moraes JF, et al. Bromatological and microbiological analysis of cereal bar added flour from tenebrio molitor larva. *Exhibition of Works from the Nutrition Course at Univag.* 2019;4.
62. Lima T. Comparative analysis of Brazilian food composition tables. Completion of course work. Federal University of Rio Grande do Norte 2018.
63. Damasceno JX, Guedes MIF, Leite CAC, et al. Salivary immunoglobulin levels in juvenile autoimmune hepatitis. *Arch Oral Biol.* 2018;92:51-56.
64. Smith PE, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem.* 1985;150(1):76-85.
65. Díaz Rosas CY, Cárdenas Vargas E, Castañeda-Delgado JE, et al. Dental, periodontal and salivary conditions in diabetic children associated with metabolic control variables and nutritional plan adherence. *Eur J Paediatr Dent.* 2018;19(2):119-126.

66. Ismail AF, McGrath CP, Yiu CKY. Oral health status of children with type 1 diabetes: a comparative study. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017;30(11):1155-1159.
67. Svensson K. Dental caries and diabetes in the elderly population in San Juan, Puerto Rico. Diss. University of Puerto Rico, Medical Sciences Campus, 2010.
68. Babatzia A, Papaioannou W, Stavropoulou A, et al. Clinical and microbial oral health status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Int Dent J.* 2020;70(2):136-144.
69. Ferizi L, Dragidella F, Spahiu L, et al. The influence of type 1 diabetes mellitus on dental caries and salivary composition. *Int J Dent.* 2018;2018:5780916
70. Elheeny AAH. Oral health status and impact on the oral health-related quality of life of Egyptian children and early adolescents with type-1 diabetes: a case-control study. *Clin Oral Invest.* 2020;24:4033-4042.
71. del Valle LML, Ocasio-Lopez C. Comparing the oral health status of diabetic and non-diabetic children from Puerto Rico: a case-control pilot study. *P R Health Sci J.* 2011;30(3):123-127.
72. El-Tekeya M, El Tantawi M, Fetouh H, et al. Caries risk indicators in children with type 1 diabetes mellitus in relation to metabolic control. *Pediatric Dental.* 2012;34(7):510-516.
73. Dawkins E, Michimi A, Ellis-Griffith G, et al. Dental caries among children visiting a mobile dental clinic in South Central Kentucky: a pooled cross-sectional study. *BMC Oral Health.* 2013;13(1):1-9.
74. Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, et al. Salivary composition in diabetic patients. *J Diabet Complications.* 1988;2(2):96-99.
75. Mandel ID. Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1980;12(4):321-366.
76. Hoseini A, Mirzapour A, Bijani A, et al. Salivary flow rate and xerostomia in patients with type I and II diabetes mellitus. *Electronic Physician.* 2017;9(9):5244.
77. Al-Khabbaz AK, Al-Shammari KF, Hasan A, et al. Periodontal health of children with type 1 diabetes mellitus in Kuwait: a case-control study. *Med Princ Pract.* 2013;22(2):144-149.
78. Carrizzo A, Izzo C, Oliveti M, et al. The main determinants of diabetes mellitus vascular complications: endothelial dysfunction and platelet hyperaggregation. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):2968.
79. Jurysta C, Bulur N, Oguzhan B, et al. Salivary glucose concentration and excretion in normal and diabetic subjects. *J Biomed Biotechnol.* 2009;2009:1-6.

80. Panchbhai AS, Degwekar SS, Bhowte RR. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *J Oral Sci.* 2010;52:359-368
81. Balan P, Babu SG, Sucheta KN, et al. Can saliva offer an advantage in monitoring of diabetes mellitus? – a case control study. *J Clin Exp Dent* 2014;6(4):e335.
82. Shahbaz S, Katti G, Ghali SR, et al. Salivary alterations in type 1 diabetes mellitus patients: salivary glucose could be noninvasive tool for monitoring diabetes mellitus. *Indian JDent Res.* 2014;25:420-424
83. International Diabetes Federation. Pocketbook for Management of Diabetes in Childhood and Adolescence in Under-Resourced Countries. 2017.
84. Elshaw EB, Young EA, Saunders M, et al. Utilizing a 24-hour dietary recall and culturally specific diabetes education in Mexican Americans with diabetes. *Diabetes Educ.* 1994;20(3):228-235.
85. Du Hong Yi, jiang Hong, O Karmin, et al. Association of dietary pattern during pregnancy and gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study in northern China. *Biomed Environ Sci.* 2017;30(12):887-897.
86. Loo DD, Zeuthen T, Chandy G, et al. Cotransport of water by the Na⁺/glucose cotransporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1996;93(23):13367-13370.

TabelasTabela 1. Critérios visuais de detecção de ICDAS.⁵⁵

CÓDIGOS	CRITÉRIOS
0	Superfícies dentais sem nenhuma evidência visual indicativa de cárie.
1	Mudança inicial visível no esmalte após secagem com ar prolongada, vista como mancha branca ou em superfície molhada quando pigmentada, limitada à fissura.
2	Visível descoloração do esmalte ou opacidade cariiosa, que não mostra perda da integridade superficial ou sombra em dentina subjacente.
3	Lesão cariiosa que gerou descontinuidade do esmalte, sem dentina visível.
4	Sombreamento de dentina subjacente, sem perda de integridade superficial.
5	Cavitação com exposição de dentina envolvendo menos da metade da superfície avaliada.
6	Cavitação com exposição de dentina envolvendo mais da metade da superfície avaliada.

Tabela 2. Caracterização geral dos grupos estudados.

	Grupo		p-Valor
	Controle	Caso	
Sexo (M/F)	25/24	16/20	0,549 ^a
Idade	7.24±2.20	6.86±1.91	0,301 ^b
Número refeições	5.37±0.81	6.11±0.32	<0,001^b
Número refeições carboidratos	5.37±0.81	6.11±0.32	<0,001^b
Número refeições sacarose	2.88±1.48	2.89±1.41	0,917 ^b
Contagem carboidratos	229.53±62.11	241.52±70.08	0,689 ^b
Contagem proteínas	94.47±20.12	96.23±22.58	0,406 ^b
Contagem lipídeos	46.82±12.57	55.04±18.55	0,023^b
Contagem fibras	20.33±16.34	23.33±10.29	0,043^b
Média dos intervalos minutos	183.93±18.73	170.55±13.50	<0,001^b
Glicose salivar	1.63±1.84	2.44±2.23	0,036^b
Fluxo salivar	0.25±0.16	0.23±0.15	0,649 ^b
Índice cárie	0.05±0.05	0.05±0.05	0,868 ^b
Índice placa	0.27±0.25	0.35±0.35	0,618 ^b
Índice sangramento	0.25±0.21	0.17±0.19	0,031^b
Concentração proteínas	1.13±0.64	1.10±0.67	0,712 ^b
pH	7.50±0.53	7.25±0.33	<0,001^b

*p<0,05, ^aTeste qui-quadrado de Pearson; ^bTeste Mann-Whitney (média±DP). F: feminino. M: Masculino.

Tabela 3. Grupo SDM1. (Continua)

			Número	Núm. ref.	Núm. ref.	Contagem	Contagem	Contagem	Contagem	Média dos	Glicose	Fluxo	Índice	Índice	Índice	Concentração	
		Idade	refeições	carboidratos	sacarose	carboidratos	proteínas	lipídeos	fibras	intervalos	salivar	salivar	cárie	placa	sangramento	proteínas	pH
Idade	<i>r</i>	-	-0,301*	-0,301*	-0,154	0,058	-0,051	-0,211	0,001	0,141	0,216	-0,240	0,033	0,262	0,403*	0,274	-0,087
	<i>p</i>	-	0,036	0,036	0,291	0,692	0,726	0,146	0,992	0,335	0,137	0,097	0,824	0,069	0,004	0,056	0,554
Número	<i>r</i>	-	-	1,000*	0,206	0,251	0,107	0,319*	0,161	-0,572*	-0,413*	0,224	0,029	-0,022	-0,306*	-0,039	-0,068
refeições	<i>p</i>	-	-	<0,001	0,156	0,082	0,466	0,026	0,269	<0,001	0,003	0,121	0,844	0,880	0,033	0,790	0,642
Núm. ref.	<i>r</i>	-	-	-	0,206	0,251	0,107	0,319*	0,161	-0,572*	-0,413*	0,224	0,029	-0,022	-0,306*	-0,039	-0,068
carboidratos	<i>p</i>	-	-	-	0,156	0,082	0,466	0,026	0,269	<0,001	0,003	0,121	0,844	0,880	0,033	0,790	0,642
Núm. ref.	<i>r</i>	-	-	-	-	0,291*	0,018	0,212	0,382*	-0,204	-0,136	-0,042	-0,113	-0,130	-0,237	0,149	0,053
sacarose	<i>p</i>	-	-	-	-	0,042	0,902	0,143	0,007	0,159	0,351	0,776	0,438	0,374	0,102	0,308	0,718
Contagem	<i>r</i>	-	-	-	-	-	0,422*	0,469*	0,662*	-0,046	-0,291*	0,218	-0,013	-0,078	0,094	0,033	0,007
carboidratos	<i>p</i>	-	-	-	-	-	0,003	0,001	<0,001	0,752	0,042	0,132	0,927	0,595	0,521	0,820	0,961
Contagem	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	0,452*	0,434*	-0,047	-0,304*	0,194	0,080	-0,102	-0,042	-0,088	0,103
proteínas	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	0,001	0,002	0,751	0,033	0,182	0,586	0,487	0,776	0,548	0,479
Contagem	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,146	-0,076	-0,180	0,187	-0,140	-0,337*	-0,227	-0,144	0,153
lipídeos	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,316	0,602	0,215	0,199	0,338	0,018	0,116	0,323	0,294
Contagem	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,052	-0,229	0,030	0,103	0,077	0,190	0,203	-0,044
fibras	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,723	0,113	0,838	0,479	0,601	0,190	0,163	0,763
Média dos	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,166	-0,131	0,049	-0,226	0,137	<0,001	0,180
intervalos	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,256	0,371	0,736	0,119	0,346	0,999	0,216
Glicose	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,589*	0,205	0,292*	0,369*	0,251	-0,153
salivar	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,001	0,157	0,042	0,009	0,082	0,295
Fluxo	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,135	-0,159	-0,116	-0,570*	0,081
salivar	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,355	0,275	0,428	<0,001	0,579
Índice	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,293*	0,266	0,176	-0,473*

Tabela 3. Grupo SDM1. (Conclusão)

		Número	Núm. ref.	Núm. ref.	Contagem	Contagem	Contagem	Contagem	Média dos	Glicose	Fluxo	Índice	Índice	Índice	Concentração		
		Idade	refeições	carboidratos	sacarose	carboidratos	proteínas	lipídeos	fibras	intervalos	salivar	salivar	cárie	placa	sangramento	proteínas	pH
Cárie	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,041	0,065	0,228	0,001	
Índice	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,669*	0,133	-0,086	
placa	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,001	0,362	0,557	
Índice	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,129	-0,040	
sangramento	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,379	0,783	
Concentração	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,169
proteínas	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,246
pH	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* $p < 0,05$, correlação de Spearman.

Tabela 4. Grupo CDM1. (Continua)

		Núm.										Glicemia								
		Idade	Número refeições	Núm. ref. carboidratos	Núm. ref. sacarose	Contagem carboidratos	Contagem proteínas	Contagem lipídeos	Contagem fibras	Média intervalos	Glicose salivar	Fluxo salivar	Glicemia jejum	pós prandial	Hemog. glicada	Índice cárie	Índice placa	Índice sang.	Conc. proteínas	pH
Idade	<i>r</i>	-	-0,035	-0,035	-0,149	0,070	-0,187	0,022	-0,115	-0,035	-0,005	0,080	-0,086	0,220	-0,200	0,054	0,358*	0,528*	0,036	0,065
	<i>p</i>	-	0,842	0,842	0,386	0,683	0,274	0,900	0,504	0,837	0,978	0,644	0,625	0,212	0,250	0,754	0,032	0,001	0,835	0,707
Número refeições	<i>r</i>	-	-	1,000*	0,030	-0,026	0,077	0,060	0,043	-0,513*	-0,153	0,009	-0,019	0,103	-0,405*	0,164	-0,038	0,047	-0,213	-0,260
	<i>p</i>	-	-	<0,001	0,860	0,883	0,657	0,730	0,805	0,001	0,372	0,961	0,915	0,561	0,016	0,340	0,824	0,786	0,213	0,126
Núm. ref. carboidratos	<i>R</i>	-	-	-	0,030	-0,026	0,077	0,060	0,043	-0,513*	-0,153	0,009	-0,019	0,103	-0,405*	0,164	-0,038	0,047	-0,213	-0,260
	<i>p</i>	-	-	-	0,860	0,883	0,657	0,730	0,805	0,001	0,372	0,961	0,915	0,561	0,016	0,340	0,824	0,786	0,213	0,126
Núm. ref. sacarose	<i>R</i>	-	-	-	-	0,213	0,200	0,245	0,420*	0,186	-0,081	-0,092	-0,229	-0,074	0,064	0,013	-0,425*	-0,022	0,079	0,149
	<i>p</i>	-	-	-	-	0,213	0,243	0,150	0,011	0,279	0,640	0,595	0,185	0,676	0,716	0,940	0,010	0,900	0,645	0,384
Contagem carboidratos	<i>r</i>	-	-	-	-	-	0,199	0,657*	0,550*	0,005	0,157	0,358*	-0,243	0,130	0,188	0,101	0,218	0,177	-0,114	-0,023
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	0,243	<0,001	0,001	0,976	0,360	0,032	0,160	0,464	0,280	0,557	0,202	0,303	0,510	0,894
Contagem proteínas	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	0,339*	0,479*	0,168	0,016	0,111	-0,228	-0,126	-0,147	0,149	-0,006	0,032	-0,122	-0,011
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	0,043	0,003	0,326	0,925	0,518	0,187	0,476	0,400	0,385	0,974	0,854	0,477	0,949
Contagem lipídeos	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,156	0,157	0,037	0,263	-0,218	0,031	-0,010	0,094	0,107	0,155	-0,116	0,104
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	0,362	0,359	0,829	0,122	0,209	0,863	0,953	0,587	0,533	0,366	0,500	0,547
Contagem fibras	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,102	0,252	0,033	-0,149	-0,086	0,177	0,080	0,112	0,137	0,018	0,058
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,555	0,138	0,846	0,394	0,630	0,309	0,644	0,514	0,425	0,918	0,737
Média dos intervalos	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,197	-0,030	-0,052	-0,062	0,141	-0,202	0,059	0,040	0,173	0,315
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,250	0,861	0,765	0,729	0,418	0,238	0,732	0,817	0,313	0,061
Glicose salivar	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,020	0,344*	-0,023	0,232	-0,025	0,130	0,192	0,124	-0,148
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,909	0,043	0,898	0,179	0,883	0,449	0,262	0,470	0,391
Fluxo salivar	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,156	-0,108	0,138	0,029	0,198	0,089	-0,434*	0,286
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,371	0,543	0,430	0,868	0,248	0,607	0,008	0,091

Tabela 4. Grupo CDM1. (Conclusão)

		Idade	Núm.				Glicemia														
			Número refeições	Núm. ref. carboidratos	Núm. ref. sacarose	Contagem carboidratos	Contagem proteínas	Contagem lipídeos	Contagem fibras	Média intervalos	Glicose salivar	Fluxo salivar	Glicemia jejum	pós prandial	Hemog. glicada	Índice cárie	Índice placa	Índice sang.	Conc. proteínas	pH	
Glicemia jejum	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,407*	-0,050	-0,110	0,004	-0,258	-0,215	-0,109	
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,017	0,774	0,528	0,981	0,134	0,215	0,531	
Glicemia pós prandial	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,206	0,149	0,198	0,423*	0,243	-0,297	
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,243	0,400	0,262	0,013	0,165	0,088	
Hemog. glicada	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,033	-0,114	-0,217	-0,149	0,379*	
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,852	0,514	0,211	0,394	0,025	
Índice cárie	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,060	0,044	-0,032	-0,053	
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,727	0,798	0,851	0,760	
Índice placa	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,555*	0,048	0,061
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,001	0,783	0,722
Índice sang.	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,324	0,045
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,054	0,796
Conc. proteínas	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,191
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,265
pH	<i>r</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>p</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*p<0,05, correlação de Spearman.

Tabela 5. Glicose salivar

	p-Valor	β ajustado	IC95%	
Caso				
Idade	0,895	0,033	-0,484	0,549
Número refeições carboidratos	0,631	-0,988	-5,265	3,288
Número refeições sacarose	0,316	-0,370	-1,129	0,388
Contagem carboidratos	0,281	-0,016	-0,045	0,014
Contagem proteínas	0,751	-0,009	-0,066	0,048
Contagem lipídeos	0,148	0,080	-0,031	0,191
Contagem fibras	*0,018	0,195	0,039	0,352
Média dos intervalos minutos	0,760	-0,017	-0,134	0,099
Fluxo salivar	0,469	2,323	-4,318	8,964
Glicemia jejum	*0,048	0,012	0,000	0,024
Glicemia pós prandial	0,224	0,012	-0,008	0,032
Hemoglobina glicada	0,418	0,403	-0,624	1,429
Índice cárie	0,440	-6,556	-24,105	10,994
Índice placa	0,321	-1,816	-5,574	1,942
Índice sangramento	0,892	-0,441	-7,208	6,326
Concentração proteínas	0,151	1,320	-0,538	3,178
pH	0,919	-0,192	-4,127	3,742
Controle				
Idade	0,955	0,008	-0,288	0,305
Número refeições carboidratos	0,128	-0,723	-1,666	0,219
Número refeições sacarose	0,870	-0,036	-0,481	0,409
Contagem carboidratos	0,798	-0,002	-0,016	0,012
Contagem proteínas	0,719	-0,006	-0,038	0,026
Contagem lipídeos	0,879	0,004	-0,052	0,060
Contagem fibras	0,807	-0,006	-0,058	0,046
Média dos intervalos minutos	0,667	0,007	-0,028	0,043
Fluxo salivar	0,110	-3,460	-7,744	0,825
Índice cárie	0,508	4,160	-8,491	16,811
Índice placa	0,561	1,104	-2,717	4,925
Índice sangramento	0,495	-1,608	-6,349	3,134
Concentração proteínas	0,650	0,230	-0,791	1,251
pH	0,790	0,164	-1,075	1,403

*p<0,05, regressão linear múltipla.

Tabela 6: Índices de cárie, de placa e de sangramento.

	Índice de cárie		Índice de placa		Índice de sangramento	
	p-Valor	β ajustado (IC95%)	p-Valor	β ajustado (IC95%)	p-Valor	β ajustado (IC95%)
Grupo caso						
Sexo	0.701	-0.094 (-0.063 to 0.044)	*0.033	-0.350 (-0.467 to -0.022)	0.369	-0.166 (-0.211 to 0.082)
Idade	0.965	-0.010 (-0.014 to 0.013)	0.414	0.122 (-0.034 to 0.079)	*0.043	0.382 (0.001 to 0.076)
Número refeições carboidratos	0.677	-0.150 (-0.147 to 0.098)	0.151	-0.336 (-0.873 to 0.146)	0.799	-0.069 (-0.377 to 0.295)
Número refeições sacarose	0.655	0.121 (-0.016 to 0.025)	*0.046	-0.360 (-0.174 to -0.002)	0.847	0.039 (-0.051 to 0.062)
Contagem carboidratos	0.586	-0.312 (-0.001 to 0.001)	0.221	-0.450 (-0.006 to 0.001)	0.236	-0.519 (-0.004 to 0.001)
Contagem proteínas	0.900	0.044 (-0.002 to 0.002)	0.504	0.148 (-0.005 to 0.009)	0.852	0.049 (-0.004 to 0.005)
Contagem lipídeos	0.332	0.552 (-0.002 to 0.005)	0.347	0.337 (-0.008 to 0.020)	0.172	0.592 (-0.003 to 0.015)
Contagem fibras	0.420	0.407 (-0.003 to 0.007)	0.080	0.578 (-0.003 to 0.041)	0.305	0.391 (-0.007 to 0.022)
Média dos intervalos minutos	0.239	-0.452 (-0.005 to 0.001)	0.083	-0.430 (-0.024 to 0.002)	0.194	-0.375 (-0.014 to 0.003)
Glicose salivar	0.571	-0.176 (-0.019 to 0.011)	0.270	-0.219 (-0.097 to 0.029)	0.748	-0.075 (-0.048 to 0.035)
Fluxo salivar	0.769	0.083 (-0.181 to 0.240)	0.169	0.251 (-0.279 to 1470)	0.742	0.070 (-0.484 to 0.667)
Glicemia jejum	0.404	0.229 (0.000 to 0.001)	0.178	0.236 (-0.001 to 0.003)	0.689	0.082 (-0.001 to 0.001)
Glicemia pós prandial	0.396	0.236 (0.000 to 0.001)	0.004	0.572 (0.001 to 0.005)	*0.023	0.508 (0.000 to 0.003)
Hemoglobina glicada	0.347	0.256 (-0.017 to 0.045)	0.709	-0.063 (-0.150 to 0.104)	0.863	0.035 (-0.077 to 0.091)
Concentração proteínas	0.222	0.381 (-0.020 to 0.081)	0.166	0.274 (-0.066 to 0.355)	0.091	0.404 (-0.021 to 0.256)
pH	0.669	0.127 (-0.079 to 0.120)	*0.034	0.424 (0.037 to 0.861)	0.053	0.458 (-0.003 to 0.539)

*p<0,05, regressão linear múltipla.

Legendas de figuras

Figura 1. Fluxograma do desenho metodológico utilizado no presente estudo.

Conflito de interesses

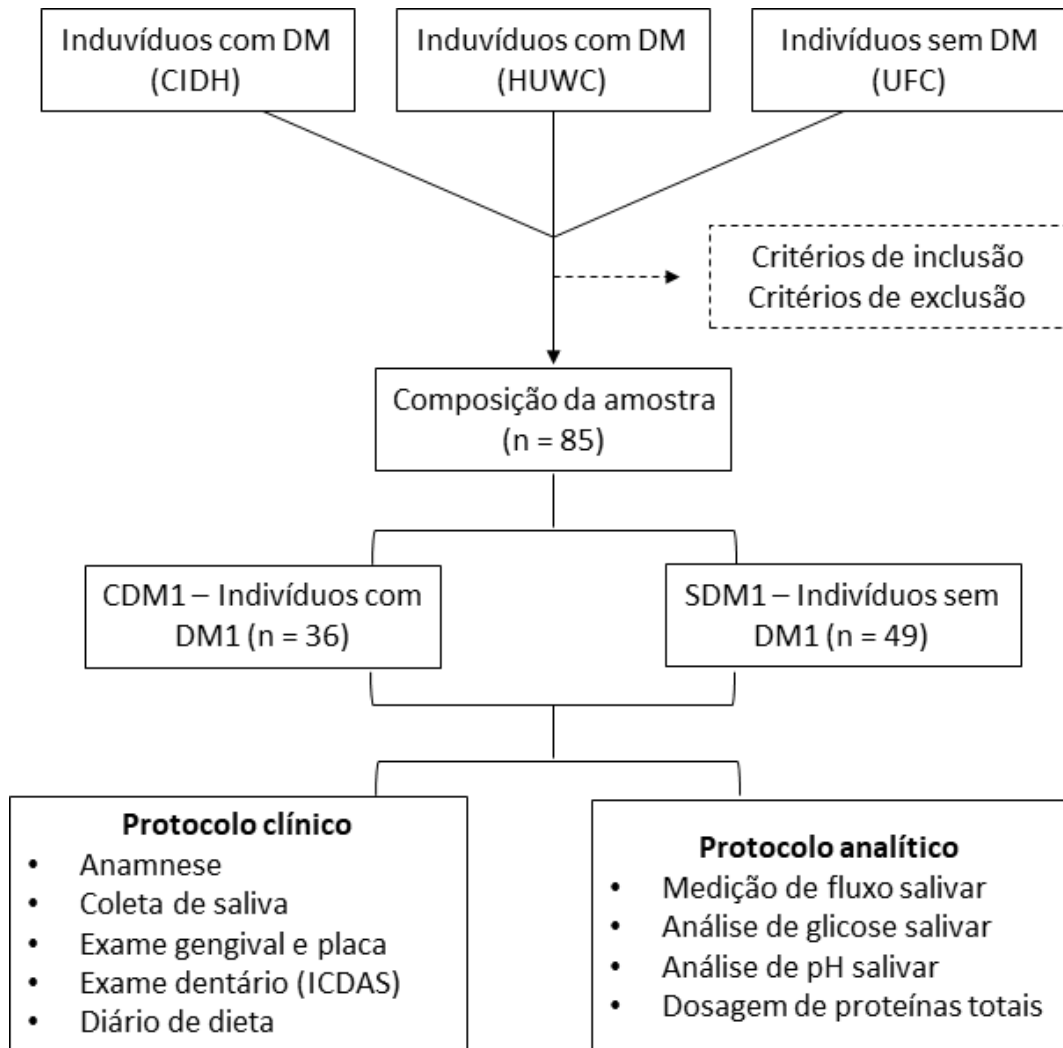
Nenhum.

Financiamento

Trabalho apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [445591 / 2014-5].

Figuras

Figura 1. Fluxograma do desenho metodológico utilizado no presente estudo.



IV CONCLUSÃO GERAL

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que:

- Com base na revisão sistemática, as imunoglobulinas A, G e M em pacientes com DM1 não apresentaram alterações quando comparadas a pacientes saudáveis. No entanto, estudos padronizados se fazem necessários para que amostras de saliva e métodos de coleta semelhantes sejam comparados.

- Glicose salivar mostrou associação com glicemia em jejum e padrões alimentares em pacientes com DM1.

- Após os desfechos deste estudo, ainda se faz necessária uma avaliação de diferentes métodos de análise de saliva, visto que algumas disparidades foram encontradas porque a quantidade de glicose na saliva pode variar de acordo com a amostra de saliva estudada (saliva de glândulas salivares específicas ou saliva total).

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2021. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 44, p. S15-S33, jan. 2021. Suppl. 1 Disponível em: https://care.diabetesjournals.org/content/44/Supplement_1/S15. Acesso em: 07 de mar. 2021.

AYDIN, S. A comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. **BMB Reports**, London, v. 40, n. 1, p. 29-35, jan. 2007. Disponível em: <https://www.koreascience.or.kr/article/JAKO200710103425901.page>. Acesso em: 08 jun. 2021.

BELAZI, M. A. *et al.* Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. **International Journal of Paediatric Dentistry**, Newcastle upon Tyne, v. 8, n. 1, p. 29-33, mar. 1998. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-263X.1998.00057.x>. Acesso em: 06 jun. 2021.

BEN-ARYEH, H. *et al.* Oral health and salivary composition in diabetic patients. **Journal of Diabetes and its Complications**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 57-62, jan./mar. 1993. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/105687279390025T>. Acesso em: 10 mai. 2021.

CABRAS, T. *et al.* Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. **Molecular & Cellular Proteomics**, Amsterdam, v. 9, n. 10, p. 2099-2108, oct. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535947620345151>. Acesso em: 10 mai. 2021.

DAMASCENO, J. X. *et al.* Salivary immunoglobulin levels in juvenile autoimmune hepatitis. **Archives of oral biology**, Amsterdam, v. 92, p. 51-56, aug. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003996918301353?via%3Dihub>. Acesso em: 20 abr. 2021.

DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 329, n. 14, p. 977-986, sep. 1993. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199309303291401>. Acesso em: 10 mar. 2021.

DOICHINOVA, L.; BAKARDJIEV, P.; PENEVA, M. Assessment of food habits in children aged 6–12 years and the risk of caries. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 200-204, jan. 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2014.989180>. Acesso em: 10 jun. 2021.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **Pocketbook for management of diabetes in childhood and adolescence in under-resourced countries**. 2nd ed. Brussels, Belgium: IDF; 2017. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/guidelines/89-pocketbook-for->

management-of-diabetes-in-childhood-and-adolescence-in-under-resourced-countries-2nd-edition.html. Acesso em: 07 de mar. 2021.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Atlas**. 9th ed. Brussels, Belgium: IDF; 2019. Disponível em https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.pdf. Acesso em: 07 de mar. 2021.

ISHO, B. *et al.* Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. **Science Immunology**, Washington, v. 5, n. 52, oct. 2020. Disponível em: https://immunology.sciencemag.org/content/5/52/eabe5511?utm_source=mp-fotoscapes. Acesso em: 10 jun. 2021.

JAVED, F. *et al.* Self-perceived oral health and salivary proteins in children with type 1 diabetes. **Journal of Oral Rehabilitation**, Aarhus, v. 36, n. 1, p. 39-44, jan. 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2842.2008.01895.x>. Acesso em: 10 jun. 2021.

KIESS, W. *et al.* Practical aspects of managing preschool children with type 1 diabetes. **Acta Paediatrica**, Karolinska, v. 87, p. 67-71, oct. 1998. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1651-2227.1998.tb01256.x>. Acesso em: 10 jun. 2021.

LARGAY, J. Case study: new-onset diabetes: how to tell the difference between type 1 and type 2 diabetes. **Clinical Diabetes**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 25-26, jan. 2012. Disponível em: <https://clinical.diabetesjournals.org/content/30/1/25>. Acesso em: 10 jun. 2021.

LI, L. *et al.* Analysis of viral load in different specimen types and serum antibody levels of COVID-19 patients. **Journal of Translational Medicine**, London, v. 19, n. 1, p. 1-8, jan. 2021. Disponível em: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-020-02693-2>. Acesso em: 10 jun. 2021.

LIMA-ARAGÃO, M. V. V. *et al.* Salivary profile in diabetic patients: biochemical and immunological evaluation. **BMC Research Notes**, London, v. 9, n. 1, p. 1-7, feb. 2016. Disponível em: <https://bmcresearchnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-016-1881-1>. Acesso em: 10 jun. 2021.

LÓPEZ, M. E. *et al.* Salivary characteristics of diabetic children. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 26-31, jun. 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bdj/a/5mbWJVCvPczzPVBsvhMFTdH/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MA, D.; SERBIN, L. A.; STACK, D. M. Children's anxiety symptoms and salivary immunoglobulin A: a mutual regulatory system? **Developmental Psychobiology**, [s. l.], v. 60, n. 2, p. 202-215, mar. 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/dev.21590>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MACMULLAN, M. A. *et al.* Detection of SARS-CoV-2 antibodies in oral fluid obtained using a rapid collection device. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 59, n. 2, e02510-20,

jan. 2021. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.02510-20>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MALICKA, B.; KACZMAREK, U.; SKOŚKIEWICZ-MALINOWSKA K. Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. **Archives of Oral Biology**, Amsterdam, v. 60, n. 3, p. 425-431, mar. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003996914001903?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MARTINS, R. A. R. C. *et al.* Salivary immunoglobulins (A, G, and M) in type 1 diabetes mellitus patients: A PROSPERO-registered systematic review and meta-analysis. **Archives of Oral Biology**, v. 122, fev. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003996920304039?via%3Dihub>

MOORE, P. A. *et al.* Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, Amsterdam, v. 92, n. 3, p. 281-291, sep. 2001. Disponível em: [https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104\(01\)55937-5/fulltext](https://www.oooojournal.net/article/S1079-2104(01)55937-5/fulltext). Acesso em: 10 jun. 2021.

MOREIRA, A. R. *et al.* Hipossalivação e aumento da glicose salivar em diabéticos. **Odonto**, São Paulo, v. 15, n. 30, p. 78-82, jul./dez. 2007. Disponível em: <https://www.metodista.br/revistas/revistas-metodista/index.php/Odonto/article/view/593>. Acesso em: 8 abr. 2021.

MOREIRA, A. R. *et al.* Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 42, n. 8, p. 707-711, aug. 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/4nzCDmwHtRj3FJYWtr5PJXq/?lang=en>. Acesso em: 8 abr. 2021.

MOURA, S. A. B. *et al.* Valor diagnóstico da saliva em doenças orais e sistêmicas: uma revisão de literatura. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, Paraíba, v. 7, n. 2, p. 187-194, mai./ago. 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/637/63770214.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2021.

NEGRATO, C. A.; TARZIA, O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, London, v. 2, n. 1, p. 1-11, jan. 2010. Disponível em: <https://dmsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1758-5996-2-3>. Acesso em: 20 mar. 2021.

PALLOS, D. *et al.* Salivary markers in patients with chronic renal failure. **Archives of Oral Biology**, Amsterdam, v. 60, n. 12, p. 1784-1788, dec. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003996915300406?via%3Dihub>. Acesso em: 19 mai. 2021.

PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 106, n. 2, p. 165-169, jan. 2000. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/10582>. Acesso em: 19 mai. 2021.

PROC, P. *et al.* Salivary immunoglobulin A level during steroids and chemotherapy treatment administered in remission induction phase among pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. **Medicine**, Alphen aan den Rijn, v. 99, n. 42, e22802, oct. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7571880/>. Acesso em: 28 mar. 2021.

ROSA, O. P. D. S.; ROCHA, R. S. S.; LOPES, E. S. Salivary immunoglobulins and prevalence of caries in patients with insulin-dependent diabetes mellitus (DMID). **Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru**, v. 1, n. 1/4, p. 18–21, jan./dez.1993. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-179785>. Acesso em: 10 jun. 2021.

SINGH, M. P. *et al.* Investigation of suspected viral hepatitis outbreaks in North West India. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, Amsterdam, v. 84, n. 4, p. 309-314, apr. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0732889315004393?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jun. 2021.

SIUDI KIENE, J. *et al.* Dental caries increments and related factors in children with type 1 diabetes mellitus. **Caries Research**, Basel, v. 42, n. 5, p. 354-362, sep. 2008. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/151582>. Acesso em: 04 mar. 2021.

SMART, C.; ASLANDER-VAN VLIET, E.; WALDRON, S. Nutritional management in children and adolescents with diabetes. **Pediatric Diabetes**, Berlin, v. 10, p. 100-117, sep. 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1399-5448.2009.00572.x>. Acesso em: 22 mar. 2021.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020**. São Paulo: Clannad, 2019. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZES-COMPLETA-2019-2020.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2021.

TENOVUO, J. *et al.* Immunoglobulins and innate antimicrobial factors in whole saliva of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of Dental Research**, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 62-66, jan. 1986. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00220345860650011101>. Acesso em: 22 mar. 2021.

YOU, W. P.; HENNEBERG, M. Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. **BMJ Open Diabetes Research and Care**, London, v. 4, n. 1, e000161, jan. 2016. Disponível em: <https://drc.bmj.com/content/4/1/e000161.abstract>. Acesso em: 15 mar. 2021.

ANEXO A – REGIMENTO INTERNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

CAPÍTULO VI

DOS EXAMES E DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO E TESE

Art. 45 - O Exame Geral de Qualificação de que trata o *Artigo 50 das Normas para os Cursos de Pós-Graduação da UFC* deverá ser realizado perante uma comissão julgadora composta de no mínimo 03 (três) membros efetivos e um suplente, tendo o orientador como seu presidente.

§1º - O Exame Geral de Qualificação deverá ser realizado antes da matrícula na atividade acadêmica dissertação ou tese e será composto por duas fases. A primeira constará da defesa do projeto de pesquisa, a qual deverá ser realizada até seis meses após o ingresso no curso (nível Mestrado) ou até 12 meses (nível Doutorado). A segunda fase constará da defesa da pesquisa (uma pré-defesa) e deverá ser realizada até 45 dias antes da defesa da dissertação ou da tese.

§2º - As duas fases do Exame Geral de Qualificação constarão de sessão pública com: (1) aula expositiva com duração de 30 a 40 minutos; (2) arguição pelos membros da banca avaliadora com duração de 20 minutos para cada componente desta, bem como 20 minutos destinados às respostas do aluno para cada avaliador.

§3º - As bancas das duas fases do Exame Geral de Qualificação serão compostas por 2 (dois) avaliadores e pelo orientador.

§4º - No caso de não cumprimento do prazo estipulado no §1º, o orientador deverá encaminhar à coordenação do PPGO, antes de seu vencimento e ouvido o aluno, solicitação de ampliação do prazo, mediante justificativa e descrição da etapa de desenvolvimento do projeto.

§5º - O aluno que não obtiver aprovação no Exame Geral de Qualificação terá direito à nova oportunidade, com data a ser definida pela Coordenação do PPGO.

§6º - O aluno só poderá defender a dissertação ou tese após aprovação no Exame Geral de Qualificação de que trata este artigo.

Art. 46 – As dissertações e as teses apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará poderão ser produzidas em formato alternativo ou tradicional. O formato

alternativo estabelece: a critério do orientador e com a aprovação da Coordenação do Programa, que os capítulos poderão conter cópias de artigos e/ou relatórios de patentes de autoria ou coautoria do candidato, publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§1º - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

§2º - A dissertação e a tese em formatos tradicionais ou formatos alternativos deverão seguir as normas preconizadas pelo Guia para Normalização de Trabalhos Acadêmicos da Biblioteca Universitária disponível no sítio <http://www.biblioteca.ufc.br>. As partes específicas do formato alternativo deverão ser feitas em concordância com o *Manual de Normalização para Defesa de dissertação de Mestrado e tese de Doutorado no formato Alternativo do PPGO*, disponível no sítio <http://www.pppo.ufc.br>.

§3º - As dissertações defendidas no formato alternativo deverão constar de, no mínimo, 01 (um) capítulo, enquanto que as teses no mesmo formato deverão constar de, no mínimo, 02 (dois) capítulos.

§4º - Admite-se que a dissertação ou a tese sejam escritas e/ou defendidas em língua estrangeira seguindo as diretrizes definidas no regimento interno do Programa;

ANEXO B – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
CEARÁ/ PROPESQ



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE IMUNOGLOBULINAS SALIVARES, CONTROLE METABÓLICO E SAÚDE ORAL EM CRIANÇAS COM E SEM DIABETES MELLITUS TIPO 1: UM ESTUDO CASO-CONTROLE, PROSPECTIVO E MULTICÊNTRICO

Pesquisador: Thyciana Rodrigues Ribeiro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 40467714.4.0000.5054

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.020.102

Data da Relatoria: 19/04/2015

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa da Profa. Thyciana Rodrigues Ribeiro tipo caso-controle longitudinal prospectivo e analítico com o objetivo de avaliar o perfil de imunoglobulinas salivares, controle metabólico e saúde oral em crianças com e sem Diabetes Mellitus 1. Serão selecionados 320 voluntários de ambos os sexos, com idades de 2 a 5 anos em dois centros de referência para o tratamento de diabetes e no curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, sendo divididos em 2 grupos (CDM1: pacientes com Diabetes Mellitus tipo 1 e SDM1: pacientes sem Diabetes Mellitus tipo 1). A saúde oral será avaliada através de dados sobre experiência de carie e saúde gengival. A coleta de dados ocorrerá em 4 períodos predeterminados: consulta inicial (T0) e após 6, 12, e 18 meses da consulta inicial, nos quais os dados sobre imunoglobulinas, controle metabólico, carie e saúde gengival serão obtidos para cada voluntário. O fluxo e o pH salivares também serão medidos. As imunoglobulinas A, G e M serão analisadas quantitativamente por ELISA. O controle metabólico será avaliado por meio dos testes de glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar. Após obtenção dos resultados, a análise estatística será realizada por meio dos testes t de student e ANOVA para dados que se encaixarem em uma curva de normalidade e através dos testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para dados que não obedecerem a uma distribuição normal. Serão considerados significantes valores de p menor que

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127

Bairro: Rodolfo Teófilo

CEP: 60.430-270

UF: CE

Município: FORTALEZA

Telefone: (85)3366-8344

Fax: (85)3223-2903

E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 1.029.102

0,05.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primario: Avaliar longitudinalmente o perfil de imunoglobulinas salivares, controle metabolico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e saude oral (experiencia de carie dentaria e saude gengival) em criancas com e sem DM1.

Objetivo Secundario:

1. Avaliar a associacao entre controle metabolico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e perfil de imunoglobulinas salivares de criancas com e sem DM1.
2. Avaliar a associacao entre controle metabolico (glicemia em jejum, hemoglobina glicada e glicose salivar) e saude oral (experiencia de carie de saude gengival) de criancas com e sem DM1.
3. Comparar o perfil de imunoglobulinas salivares e o perfil proteico salivar entre criancas com e sem DM1.
4. Comparar a saude oral (experiencia de carie e saude gengival) entre criancas com e sem DM1.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa e de baixo risco visto que o paciente sera submetido a exame oral e coleta de saliva nao invasivos. No entanto o indice gengival, o qual sera realizado com auxilio de sonda periodontal tipo OMS, e as coletas de sangue para realizacao de exames para o controle metabolico representarao um incomodo adicional a estas criancas. Quanto aos beneficios destacam-se: contribuicao para o esclarecimento do papel das imunoglobulinas em pacientes com DM1 em idades abaixo dos 5 anos, o controle da carie dentaria e doenca gengival na populacao estudada. Alem disso, o diagnostico por saliva, um campo dinamico e emergente, constitui-se uma forma nao invasiva e de facil acesso, somada a possibilidade de identificacao de grande numero de moleculas na mesma.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa esta bem delineada sob o ponto de vista metodológico e apresenta mérito científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora apresentou ao comitê de ética: projeto, folha de rosto devidamente preenchida e assinada pela chefe do DCO, orçamento, cronograma, declaração de concordância dos pesquisadores envolvidos, carta de encaminhamento, autorizações de todos os locais de execucao da pesquisa, curriculo do pesquisador principal. Refez metodologia.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270
UF: CE Município: FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comepe@ufc.br

Continuação do Parecer: 1.020.102

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não se aplica.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FORTALEZA, 13 de Abril de 2015

Assinado por:
FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127
Bairro: Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-270
UF: CE **Município:** FORTALEZA
Telefone: (85)3366-8344 **Fax:** (85)3223-2903 **E-mail:** comepe@ufc.br