

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Odontologia

**SAÚDE BUCAL, PERFIL SALIVAR E ACESSO AO
TRATAMENTO ODONTOLÓGICO DE CRIANÇAS COM
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

Lívia Roberta Piedade de Oliveira
CD

Rio de Janeiro
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Odontologia

**SAÚDE BUCAL, PERFIL SALIVAR E ACESSO AO
TRATAMENTO ODONTOLÓGICO DE CRIANÇAS COM
DIABETES MELLITUS TIPO 1**

Lívia Roberta Piedade de Oliveira
CD

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria) da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia (Área de Concentração: Odontopediatria)

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Prof^a. Titular do Dep. de Odontopediatria e Ortodontia – FO/UFRJ

Prof^a. Dr^a. Ana Paula Canedo Valente

Prof^a. Associada da Disciplina de Bioquímica Instituto de Bioquímica Médica/UFRJ

Rio de Janeiro
2015

Ficha catalográfica

OLIVEIRA, Livia Roberta Piedade de.

Saúde Bucal, Perfil Salivar e Acesso ao Tratamento Odontológico de Crianças com Diabetes Mellitus Tipo 1. / Livia Roberta Piedade de Oliveira.– Rio de Janeiro : Faculdade de Odontologia, 2015.

xix, 105 f.: il.; 31 cm.

Orientadores: Ivete Pomarico Ribeiro de Souza e Ana Paula Canedo Valente. Dissertação (mestrado) em Odontologia (Odontopediatria) -- Universidade Federal do Rio de Janeiro / Faculdade de Odontologia, 2015.

Referências bibliográficas: f. 89-101.

Saliva 2. Criança 3. Diabetes Mellitus tipo 1 4. Metaboloma 5. Saúde Bucal – Tese. I. Souza, Ivete Pomarico Ribeiro. II. Valente, Ana Paula Canedo. III. Universidade Federal, FO, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Odontopediatria. IV. Saúde Bucal, Composição Salivar e Acesso ao Tratamento Odontológico de Crianças com Diabetes Mellitus Tipo 1.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Luiz e Lindaura
e ao meu irmão, Júnior.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A todas as “minhas” crianças do IPPMG e do departamento de Odontopediatria pelo convívio, entendimento e disponibilidade. E aos seus responsáveis por toda a colaboração. Obrigado pela lição de vida e força de vontade que vocês me deram. O contato com essas famílias foi um dos trunfos dessa minha jornada!

AGRADECIMENTOS

É com muita satisfação que expresso aqui o mais profundo agradecimento a todos aqueles que tornaram a realização deste trabalho possível:

“Tudo posso naquele que me fortalece!” Filipenses 4:13

Agradeço a **Deus**, meu guia e protetor! Ele sempre me abençoou e proporcionou muitas vitórias. Com Ele aprendi que o amor é o melhor caminho, pois o amor é o dom supremo.

“Ainda que eu tenha o dom de profetizar e conheça todos os mistérios e toda a ciência; ainda que eu tenha tamanha fé, a ponto de transportar montes, se não tivesse amor, nada serei.” 1Coríntio 13:2.

Aos meus pais, **Lindaura e Luiz**: muitíssimo obrigada por todos esses anos de dedicação e esforço para que eu alcançasse meus objetivos, muito obrigada por sempre me estimularam a crescer profissionalmente, me apoiaram em todas as minhas decisões e são a minha base e maior referência de vida..Vocês me ofereceram a melhor educação e eu sou muito grata por ser fruto de uma união tão sólida, por ter sido criada no meio dessa família cheia de amor, carinho e princípios! Amo vocês incondicionalmente!

Muito Obrigada pelo amor incondicional e por não medirem esforços para eu chegar até aqui...

“Pedi, e dar-se-vos-à; buscai, e encontrareis; batei, e abrir-se-vos-á” Mateus 7:7.

Ao meu irmão, **Luiz Júnior**, meu melhor amigo e companheiro, que dividiu livros, brinquedos e muitas risadas em toda a nossa jornada, que conviveu muitos momentos importantes para nossa formação, vibrou e participou de todas as minhas conquistas e me fez acreditar que tudo seria possível!

Ao meu primo-irmão **Marcinho**, que apesar da imaturidade me alegra a todo instante com sua inocência e esperteza! Muito obrigada pela torcida, o apoio, o incentivo, e o carinho!

“Porque, onde estiver o vosso tesouro, ali estará também o vosso coração.”

Lucas 12:34

À minha vovó, **Raimunda**, obrigada pelo imenso carinho, apoio e torcida. E a minha tia **Maria**, pela paciência, amor e dedicação todos esses anos.

A todos os **meus familiares e amigos de Belém-PA** pela incansável torcida e por entenderem (às vezes nem tanto) a minha ausência em muitas (quase todas) datas especiais. Peço desculpas... Vocês também são responsáveis por esta conquista!

Às minhas queridas **Cláudia e Diana** amigas de infância, mais de vinte anos de amizade, e que mesmo longe, sempre estão comigo e me apoiam em tudo! MUITÍSSIMO obrigada pela companhia e conselhos! Amo vocês!

Aos Meus colegas de profissão de Belém, que sempre me acompanham e estão vibrando comigo por este momento: **Marcelo, Meire e Suellen**, mais que colegas de profissão, amigos para toda a vida! Sempre torceram por mim e acompanharam minha caminhada!

Às minhas queridas **Tia Alice e Tatiane**, tia e prima muito queridas, que participaram da minha formação desde o jardim de infância, que me acompanharam todos esses anos, só tenho a agradecer todo o amor! Obrigada pelo carinho, pelo suporte, pela força e pelos ensinamentos. Vocês são muito especiais e responsáveis pela concretização desse sonho!

Aos meus amigos Elbinha e Maurício, que me acolheram, obrigada pelos almoços de domingos, obrigada por me escutar, partilhar momentos importantes e por toda a companhia! Vocês são amigos maravilhosos! Amo vocês! E principalmente por ter me ensinado a arte com balões, com a qual pude encantar os meus pacientes! Assim como pela doação de tantos balões durante esses dois anos!

Aos queridos **Luciene, Layla, Uli e Queila** amigos maravilhosos e mais que especiais. Não tenho palavras para descrever o que vocês representaram

pra mim durante toda essa jornada. Só tenho a agradecer o apoio, as conversas, o carinho e as diversões. Vocês foram o melhor presente que o Rio de Janeiro me deu, essa amizade será eterna! Muito obrigada por tudo!

Aos amigos **Bruno Wanderley e Kadja**, muito obrigada por tudo! Vocês são um pedaço de Belém aqui no Rio! Muito bom ter vocês por perto!

Ao amigo **Leonardo Balthazar**, que foi meu companheiro e me ajudou muito nessa jornada. Muito obrigada!

Aos amigos mercantes “cariocas”, que mesmo não estando sempre em “terra”, sempre estiveram presentes e torceram por mim: **Humberto, Jamison e Fernanda!** Adoro vocês!!!

Aos meus amigos, **Eleni, Gilson e Renata**: muitíssimo obrigada pela companhia, carinho e principalmente paciência! Vocês são mais que especiais!

Um agradecimento especial à família alemã **Gann: Dr. Raimond, Daniela, Emma, Paula e Arthur**, que me acompanha e me apóia e que mesmo de muito longe, me influencia muito com seus ensinamentos, cultura e carinho. **Nicole Kirsch**, grande amiga que foi uma das melhores professoras que eu tive na vida, muito obrigada também!

À querida colega **Dra. Elisa Rebelo**, endocrinologista, que desde a confecção do projeto de pesquisa me auxiliou de várias formas, melhorando meu entendimento em relação ao diabetes mellitus e também no sucesso da pesquisa! Muito obrigada pelo carinho!

A todos os professores, desde minha formação básica até a pós-graduação, que participaram da minha formação e que contribuíram para que eu chegasse até aqui! Em especial às professoras **Dóris Kós Miranda, Suelly Ribeiro e Alúcio Celestino**, que acreditaram em mim desde a graduação e sempre me apoiaram!

“Amai-vos cordialmente uns aos outros com amor fraternal, preferindo-vos em honra uns aos outros.” Romanos 12:10.

A todos da equipe médica do Ambulatório de Diabetes do IPPMG/UFRJ, em especial ao **Dr. Jorge Luescher e Dra. Ludmilla**, que tiveram toda paciência do mundo em me ensinar e me orientar durante muitas etapas desse estudo. Obrigada pela amizade de todos, ensinamentos transmitidos e apoio! Vocês nos ofereceram uma oportunidade única e foi realmente uma experiência incrível poder compartilhar a rotina de vocês e a convivência com essas crianças definitivamente me influenciou grandiosamente!

À minha orientadora, **Profa. Dra. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza**, por acreditar que eu era capaz e pela orientação. Muito obrigada pela paciência e carinho! Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos, orientações, palavras de incentivo, paciência e dedicação. Você é uma pessoa ímpar, onde busco inspirações para me tornar melhor em tudo que faço e irei fazer daqui para frente. Tenho orgulho em dizer que um dia fui sua orientanda!

À minha orientadora, **Profa. Dra. Ana Paula Valente**, muito obrigada pela orientação, pela paciência e pela oportunidade de trabalhar com algo tão inovador!

À colaboradora da dissertação, que me orientou brilhantemente nessa caminhada, **Profa. Dra. Carla Martins**, que foi a pessoa que mais me influenciou na minha vida acadêmica nestes dois anos, a qual eu tive o prazer imenso de conviver e conhecer, maior motivadora e incentivadora desta pesquisa! Só tenho a agradecer a Deus por ter colocado uma pessoa tão especial na minha vida! Carla, saiba que você é uma das pessoas que eu mais admiro na vida e seu profissionalismo, sua garra e ideais nos contagia! Espero que você continue brilhando cada vez mais! Muito sucesso!

À colaboradora **Profa. Dra. Liana Fernandes**, por ser essa pessoa tão doce, carismática e principalmente por estar sempre disponível quando eu precisei! Muito obrigada por tudo! Você é uma das minhas inspirações! Tenho muita admiração por você, uma profissional que consegue equilibrar o ensino e o aprendizado como ninguém!

À colaboradora **Dra. Tatiana Kelly**, que desde o início me ajudou muito, me cedendo vários artigos e que na fase final abrilhantou este trabalho com seus conhecimentos de RMN! Muito obrigada!

Às Alunas de Iniciação Científica **Caroline e Rafaela**, vocês foram fundamentais para o sucesso deste trabalho! Agradeço imensamente todo o apoio e todo o trabalho que vocês tiveram! Além de que tornaram os meus dias muito mais alegres e divertidos! Vocês são demais! Desejo todo o sucesso na caminhada de vocês!

À querida colega de pesquisa, **Aline Laignier**, que então era aluna de especialização, também foi fundamental para o sucesso deste trabalho! Muito obrigada pelo empenho, pela dedicação e principalmente pela troca de experiências!

A todos os professores do departamento de Odontopediatria que de forma personalizada propiciaram o meu crescimento pessoal e profissional:

Às **Profa. Dra. Laura Primo e Profa. Dra. Glória Castro**, pelo incentivo, disponibilidade e amizade. Vocês são exemplo de profissionais, admiro vocês demais e me sinto muito honrada de vocês poderem participar da minha banca. Tenho certeza que irão enriquecer ainda mais este trabalho, assim como abrilhantar com suas opiniões e conselhos. Agradeço muito a experiência que eu tive sendo aluna de vocês. Foi realmente um privilégio! Obrigada!

Ao **Prof. Dr. Rogério**, obrigada pelo carinho, incentivo, apoio, confiança, disponibilidade, trocas de experiências e valiosos ensinamentos constantes. Sentirei falta dos seminários de sextas! Aprendi muito com o senhor! Com certeza, você é um daqueles professores que influencia para sempre seus alunos! Foi uma honra ter sido sua aluna!

Aos **Prof^{as}. Aline Neves, Luciana Pomarico, Andréa Antonio, Marcelo Costa e João Farinhas**, pela contribuição no meu aprimoramento, me dando sempre cobertura principalmente nas atividades práticas. Obrigada pelo

carinho, amizade, alegria e leveza de lidar com as situações mais controversas, vocês são nota 1000! Adoro vocês! **Profa. Dra. Lucianne Cople Maia**, um exemplo de profissional e competência. Muito obrigada por todos os ensinamentos e experiências transmitidas.

Às **professoras Bárbara, Nena e Marta**, muito obrigada pela convivência e pelos ensinamentos!

Aos professores **Ronnir Raggio e Thomaz Chianca**, muito obrigada pela experiência! Cresci muito com os ensinamentos de vocês!

Aos pesquisadores e funcionários dos laboratórios do CCS, pelo acolhimento de forma gentil e solícita nos seus laboratórios, pela confiança e incentivo, tornando possível a realização deste trabalho.

A todos os funcionários e pesquisadores do Centro Nacional de Ressonância Magnética Jiri Jonas, em especial a **Karen e Gileno**, que me ajudaram e com muita paciência me ajudaram a usar os equipamentos do laboratório e sempre estavam disponíveis para auxiliar no que eu precisava.

Às minhas amigas veteranas do mestrado, **Elaine, Helena, Nashalie e minha dupla querida Tacíria**, muitíssimo obrigada por todos os ensinamentos e experiências! Saibam que aprendi muito com vocês e o ano que convivemos juntas foi essencial para o meu crescimento profissional! Nunca esquecerei de vocês!

Aos meus queridos e grandes amigos de turma, **Adriele, Clarissa, Marina e Thiago**, cada uma com seu jeitinho doce, me conquistou e juntos chegamos até aqui! Agradeço a amizade, o companheirismo, as trocas de experiências, os momentos inesquecíveis, o apoio e o incentivo nas horas mais difíceis. Muito Obrigada pela cumplicidade, pelos bons momentos vividos juntos... Estes dois anos de amizade ficarão sempre na memória. Sem vocês está jornada teria sido muito mais difícil! Sentirei falta deste convívio diário.

Às amigas do primeiro ano, **Aline, Paula, Àndrea e Fernanda** e meu amigo e dupla **Káiron**, muito obrigada pela amizade, confiança, apoio e incentivo nesta reta final. Foi muito bom conhecê-los e dividir momentos tão especiais com vocês. Força e Fé, que no final tudo dá certo!!!

Para as alunas do mestrado M1-2015 **Raquel, Roberta, Paula e Daniele**, desejo a vocês uma caminhada brilhante! Tenho certeza que será uma experiência incrível!

Aos doutorandos, **Marcelo Roter, Marlus, Adilis, Michele Lenzi, Michelle Ammari, Andréa Pintor, Cristiane e em especial, à amiga Thais Soares**, pelos ensinamentos, carinho, companhia e incentivo. A Dra. **Valéria**, com quem tive o prazer de conviver no laboratório e participar um pouquinho de sua tese! E as mestras **Luciana Pereira e Priscila Almeida**, que trabalharam nesta mesma linha de pesquisa e que proporcionaram produtos finais de excelentíssima qualidade, nos quais eu pude me guiar!

A todas as alunas da especialização, **Mariana, Bruna, Aline Neves, Isadora, Monique, Allana, Maria Fernanda, Juliana e Ana Lúcia** muito obrigada pela confiança, amizade, companhia, diversão e incentivo. Torço muito por vocês.

Às minhas queridas, **Andréa, Kátia e Mere**, pela amizade, profissionalismo, disponibilidade, alegria, ensinamentos e maravilhosos momentos vividos juntos. Adoro vocês!

Às recepcionistas, **Bebel e Rose**, pela ajuda, carinho e calma nos momentos de loucura na recepção. Vocês são ótimas! Muito obrigada por tudo!

Ao **João Carlos**, pela contribuição imprescindível nos momentos de maior desespero e para a conclusão desse trabalho.

Aos demais funcionários do Departamento de Odontopediatria da FO/UFRJ **Robson, Zezé, Luíza, Patrícia e Edinaldo**, pelo convívio harmonioso, pela disposição e alegria. Muito obrigada pelo carinho e paciência!

À **CAPES** e **FAPERJ** pelo apoio financeiro durante o curso de Mestrado.

A todos que participaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

**“Se chorei ou se sorri, o importante
é que emoções eu vivi...”**

Roberto Carlos

RESUMO

OLIVEIRA, Livia Roberta Piedade de. **Saúde Bucal, Perfil Salivar e Acesso ao Tratamento Odontológico de Crianças com Diabetes Mellitus Tipo 1.** Rio de Janeiro, 2015. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar saúde bucal, composição salivar e acesso a tratamento odontológico de crianças de 6 a 72 meses de idade com diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Participaram 34 crianças com DM1 (GD) e 34 crianças saudáveis, pareadas por gênero e idade (GS), na dentição decídua. Coletou-se dados de higiene bucal, alimentação, experiência de tratamento odontológico e percepção de saúde bucal através de entrevista com os responsáveis. O exame intra-bucal foi realizado para avaliar presença de cárie (ceo-d), placa, cálculo e manifestações bucais. O controle do DM1 foi determinado através dos valores de Hb1Ac e glicemia capilar no GD. Coleta salivar foi realizada para análise bioquímica da concentração de glicose, cálcio e proteína total. O perfil de metabólitos salivares foi determinado pela ressonância magnética nuclear (RMN). Além disso, foram entrevistados 440 dentistas e estudantes de odontologia para avaliar conhecimento e condutas no tratamento de diabéticos. Os dados foram tabulados e analisados no software SPSS 20.0; foram aplicados os testes X^2 , t de Student e para os dados de RMN foi utilizado o PLS-DA (Partial Least Square Discriminant). As crianças do GD diferiram em relação à ingestão de açúcar entre as refeições, frequência de visitas ao dentista e experiência de tratamento odontológico, assim como em relação ao relato de halito cetônico e xerostomia, presença de cárie e manifestações bucais, comparadas com as crianças do GS ($p < 0,05$). A manifestação bucal em tecido mole mais prevalente entre os diabéticos foi a língua geográfica. Em relação aos parâmetros salivares, as crianças descontroladas do GD ($Hb1Ac > 8,5\%$) diferiram das crianças do GS no que se refere às concentrações de glicose e cálcio, mas não em relação à proteína total. Houve correlação positiva entre os valores de glicemia capilar no momento da coleta salivar e as taxas de Hb1Ac com as concentrações de glicose salivar ($p < 0,05$). Os dados de RMN mostraram que os metabólitos lactato, acetato, n-acetil-açúcar e outros açúcares estavam com níveis mais elevados no GD do que no GS. O PLS-DA mostrou maior distinção entre GS e GD com níveis de glicemia capilar maior que 200mg/dl. Dentistas e estudantes demonstraram conhecimento e condutas adequados para atender pacientes diabéticos, contrastando com os relatos dos responsáveis das crianças diabéticas em relação ao acesso a tratamento odontológico. Em conclusão, a saúde bucal e o perfil salivar de crianças diabéticas são diferentes das saudáveis, sendo o controle glicêmico um fator importante na composição salivar de crianças pequenas com diabetes mellitus tipo 1.

DESCRITORES: Diabetes Mellitus tipo 1, Criança, Saúde bucal, Saliva, Metaboloma.

SUMMARY

OLIVEIRA, Livia Roberta Piedade de. **Saúde Bucal, Perfil Salivar e Acesso ao Tratamento Odontológico de Crianças com Diabetes Mellitus Tipo 1.** Rio de Janeiro, 2015. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração: Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

The aim of this study was to assess oral health condition, salivary composition and dental care access of type 1 diabetic children aged 6 to 72 months old. A total of 34 diabetic children (DG) in primary dentition and 34 age-gender matched healthy children (HG) were included. Data about eating and oral hygiene habits, dental care experience and oral health perception was collected. Oral examination was performed in order to assess caries (dmft), plaque, dental calculus and oral manifestations. Diabetes status was determined through values of HbA1C and capillary glucose. Saliva was collected in order to determine concentrations of glucose, calcium and total protein using colorimetric assays and salivary profile using ¹H-NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Besides that, 440 dental students and professionals were requested to answer a survey to assess diabetes knowledge and practices in dental treatment to diabetic patients. Data were analysed in SPSS 20.0 software, X² and Student's t test were applied. For the NMR data, PLS-DA (Partial Least Square Discriminant) was performed. Children from DG differed in relation to sugar consumption between meals, frequency of dental visits and dental care experience, as well as, report of breath acetone and xerostomia, presence of dental caries and oral manifestation compared to children of HG (p<0,05). The most prevalent oral manifestation was geographic tongue. Regarding salivary parameters, uncontrolled children from DG (Hb1Ac>8,5%) differed from HG related to glucose and calcium concentration, but not in relation to total protein. Positive correlation was observed between salivary glucose and HbA1C and also capillary glucose values (p<0,05). NMR data showed increased levels of lactate, acetate, n-acetyl-sugar and other metabolites from sugar region among children from GD than HG. PLS-DA showed greater distinction between HG and GD children with higher levels of capillary glucose (>200mg/dl). Dental students and professionals showed to have enough knowledge and adequate practices to treat diabetic patients, contrasting with reports of DG guardians in relation to dental care. In conclusion, oral health and salivary profile of diabetic children are different from healthy ones and diabetes status plays a role in salivary composition of young type 1 diabetic children.

KEY WORDS: Diabetes Mellitus type 1, Children, Oral Health, Saliva, Metabolomics.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 2

Figure 1- A- Correlation between salivary glucose and capillary glycemia values. B –Correlation between salivary glucose and Hb1Ac values.....69

Figure 2 - A – Number of children and their salivary glucose concentration distribution, comparing DG (blue) and HG (red). B- Number of children and their salivary calcium concentration distribution comparing DG (blue) and HG (red). C- Number of children and their salivary total protein concentration distribution comparing DG (blue) and HG (red).69

Figure 3- A- Number of diabetic children and their salivary glucose concentration distribution, comparing controlled (purple) and uncontrolled (green). B- Number of diabetic children and their salivary calcium concentration distribution comparing controlled (purple) and uncontrolled (green). C- Number of diabetic children and their salivary total protein concentration distribution comparing controlled (purple) and uncontrolled (green).70

Figure 4: $^1\text{H-NMR}$ Representative spectra of total saliva from uncontrolled diabetic children (A), controlled (B) and healthy children (C).71

Figure 5: A- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green), controlled diabetic (blue) and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac (black). B- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green) and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac (black).71

Figure 6: A- Loading factor comparing healthy, controlled and uncontrolled diabetic children; B- Loading factor comparing healthy and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac.72

Figure 7: A- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green) and diabetic children with high capillary glycemic levels (>200mg/dl) (red). B- Loading factor comparing healthy and diabetic children with low capillary glycemic levels (>200mg/dl).73

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table 1: Sample characteristics of both diabetic (DG) and healthy (HG) children regarding to oral examination, oral health perception, dietary and hygiene habits and the differences between the groups.....51

Table 2: Sample characteristics of DG regarding to metabolic control and the main variables which differed between controlled (HbA1C<8.5%) and uncontrolled (HbA1C>8.5%) diabetics.....52

ARTIGO 2

Table 1. Characterization of study participants..... 67

ARTIGO 3

Table 1. Sociodemographic characteristics..... 90

Table 2. Affirmative answers to oral complications associated with diabetes mellitus..... 90

Table 3. Affirmative answers regarding practices of dental students and dentists when assisting a diabetic patient..... 91

LISTA DE ABREVIATURAS

- μL – Microlitro
- C – Celsius
- CCS – Centro de Ciências da Saúde
- CD - Cirurgiã-dentista
- EPI - Equipamento de proteção individual
- Hb1Ac – hemoglobina glicada
- GS - Grupo Saudável
- GD – Grupo Diabetes
- DM - Diabetes mellitus
- DM1 – Diabetes Mellitus tipo 1
- DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2
- IPPMG - Instituto de Pediatria e Puericultura Prof. Martagão Gesteira
- RMN- Ressonância Magnética Nuclear
- CNRMN- Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear
- M – Molar
- mg – Miligramas
- mL – Mililitro
- mM – Milimolar
- ng – Nanogramas
- NS - Não significativo
- K - Kelvin
- μl - Microlitro
- mHz - mega-Hertz
- m^2 - Metro quadrado
- n° -Número
- TE – Tampão de tris-HCl e EDTA
- U – Unidade
- UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro
- X^2 - Chi-squared/Quiquadrado

- ADA – American Diabetes Association
- IDF – International Diabetes Federation
- ISPAD – International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
- SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- CEP- Comitê de Ética em Pesquisa
- TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
- HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
- ACP Análise de Componentes Principais
- C -- Celsius
- ceod -- Cariado, perdido, obturado – dente decíduo
- D2O - Deuterium oxide
- DSS - Sodium 2,2-Dimethyl-2-Silspentane-5-Sulfonate
- FO - Faculdade de Odontologia
- NA - Not assigned
- 1D 1H-NMR - One dimensional spectrum of Nuclear Magnetic Resonance
- PCA - Principal analysis componentes
- PLS-DA - Partial Least Squares Analysis
- SPSS - Statistical Package for Social Sciences
- TOCSY - 1H- 1H total correlation
- ZGPR - Water-Suppression using pre-saturation pulses
- USA – United States of America

LISTA DE SÍMBOLOS

μl	Microlitro
$\mu\text{l/ml}$	Microlito por mililitro
=	Igual
+	Positivo
-	Negativo
\pm	Mais ou menos
>	Maior que
<	Menor que
\geq	Maior igual que
\leq	Menor igual que
%	Porcentagem
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
®	Marca registrada
H_2O	Água
X ou x	Veze
α	Alfa
β	Beta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2.	PROPOSIÇÃO	32
3	DELINEAMENTO DA PESQUISA.....	33
4	DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA	45
5	DISCUSSÃO	45
6	CONCLUSÕES	106
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107
8	ANEXOS	107

1 INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da ausência de insulina parcial ou total e/ou da incapacidade desta de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, com distúrbio do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. É classificado em dois tipos principais, denominados tipo 1 (DM1), associado a absoluta deficiência de insulina pancreática, e o tipo 2 (DM2), onde há deficiência parcial de insulina, afetando principalmente indivíduos obesos; uma vez que a obesidade confere resistência à ação periférica da insulina (BJELLAND *et al.*, 2002; WHO, 2003; SBD, 2012).

A insulina atua fundamentalmente na regulação do metabolismo dos carboidratos e a sua escassez ocasiona diminuição da entrada de glicose nos tecidos e consequente aumento do seu nível no sangue, caracterizando assim o quadro de DM1 (COSTA *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2009). O DM1 é uma doença metabólica autoimune, caracterizada pelos níveis alterados de glicose no sangue, devido a alterações no metabolismo normal dos carboidratos, proteínas e lipídeos. Pode evoluir com complicações macro e microvasculares, oculares, renais e neurológicas, dentre outras, quando não manejada de forma adequada (SBD, 2012). A etiologia está relacionada a uma complexa interação entre genética, meio ambiente e estilo de vida, mediada por um processo autoimune que leva a destruição das células beta produtoras de insulina no pâncreas. Os países desenvolvidos são os mais prevalentes em relação ao DM1, em especial os países escandinavos (SÖDERSTRÖM *et al.*, 2012). A incidência, porém vem aumentando no mundo todo a cada ano, especialmente na faixa etária de 0 a 5 anos (GALE, 2002; ADA, 2014; ISPAD, 2014).

O quadro do DM1 na criança vem acompanhado de sinais clássicos como a poliúria, a polidipsia e o emagrecimento. Considerando o aumento significativo da incidência em crianças menores de cinco anos, merece especial atenção esta faixa etária devido à dificuldade de evidenciar a sintomatologia, pois muitas vezes essas crianças ainda usam fraldas e são amamentadas, o

que dificulta a percepção da poliúria e polidipsia (GALE, 2002; ADA, 2014; ISPAD, 2014). A perda de peso, a irritabilidade, a desidratação e o hálito cetônico são também alguns dos sinais e sintomas que estão presentes antes do diagnóstico e tratamento do DM1 (SBD, 2012).

A cetoacidose diabética é uma complicação aguda do DM1. Esta condição na maioria das vezes precede o diagnóstico definitivo da doença (GALE, 2002; ISPAD, 2014). A cetoacidose se caracteriza pelo metabolismo de gorduras, já que a glicose não consegue ser metabolizada pela falta de insulina. Desta forma, com a falência de insulina no organismo, este tende a buscar fontes de energia alternativas, e o metabolismo de gorduras leva a subprodutos do metabolismo que são chamados de corpos cetônicos, devido ao excesso de cetona no organismo. Como consequência, há o aparecimento do hálito cetônico (ADA, 2014). Sendo assim, estudos têm sido desenvolvidos propondo diagnóstico dessa condição com a utilização de técnicas que identifiquem o hálito desses pacientes. Tal proposta representa uma ferramenta eficaz para identificação dessa doença em larga escala, pois poderia ser utilizada para escaneamento em toda a população (AL-ZHRANI *et al.*, 2011; QIAO *et al.*, 2014). Isso permitiria reconhecer precocemente pacientes ainda não diagnosticados, uma vez que grande parte da população busca tratamento somente no momento que aparecem as complicações. O tratamento precoce evitaria o aparecimento das complicações sistêmicas, que variam de cegueira, cicatrização deficiente das extremidades e até mesmo a morte (CONSENSUS COMMITTEE, 2007).

O tratamento do diabetes tipo 1 consiste de alcançar níveis ideais de controle glicêmico. O método padrão-ouro para este fim é o exame de hemoglobina glicada (HbA1c), que é baseado na variação glicêmica dos últimos três meses (SARTORE *et al.*, 2012; ADA, 2014; ISPAD, 2014). A glicose sanguínea liga-se à molécula de hemoglobina equanto maior for o nível de glicose na circulação, maior será a ligação da glicose com a hemoglobina. Como esta reação é irreversível, a hemoglobina glicada permite identificar a concentração média de glicose no sangue pelos últimos três meses, ignorando alterações de concentração episódicas. Em crianças abaixo de seis anos, a

taxa ideal é de 8,5%, segundo a ADA (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). Em adolescentes e adultos é preconizado que a HbA1c esteja entre 7% a 8%. Baixas taxas de HbA1C podem significar que houveram episódios frequentes de hipoglicemias, o que deve ser evitado. Na população não-diabética, uma taxa de 5,5% pode significar que episódios de hipoglicemias foram frequentes. Já que em crianças pequenas, abaixo de seis anos de idade, devido à imaturidade do desenvolvimento cognitivo, sintomas de hipoglicemia são muitas vezes despercebidos. Com isso, hipoglicemias frequentes podem desencadear isquemia cerebral e convulsões, o que acarretaria em problemas neurológicos à criança (CONSESUS COMMITTEE, 2007).

A prática de esportes juntamente com uma dieta adequada faz parte do tratamento para toda a vida desses pacientes. O regime de insulina varia dependendo do metabolismo de cada um. Entre as de efeito rápido e basal (lento), tem que se aferir a glicose desse paciente periodicamente para evitar oscilações muito grandes entre os valores de glicose (ADA, 2014; ISPAD, 2014).

Manifestações bucais associadas ao DM1 têm sido observadas, sendo a cavidade bucal alvo de discussão há muito tempo e inúmeras vezes alterações foram consideradas como sendo relacionadas ao DM (WYSOCKI *et al.*, 1987; MOORE *et al.*, 2001; LÓPEZ *et al.*, 2003; LALLA *et al.*, 2007; NEGRATO *et al.*, 2010). As manifestações mais comuns em pacientes com DM1 incluem doença periodontal e disfunção salivar, a qual leva a redução do fluxo salivar, além de mudanças na composição salivar e no paladar (KARJAILANEN *et al.*, 1996; LALLA *et al.*, 2007). Quanto a associação entre controle glicêmico e doença periodontal, esta já é bem estabelecida (VERGNES, 2010; LALLA *et al.*, 2011; PRESHAW *et al.*, 2012). Algumas revisões sistemáticas mostraram que há forte evidência científica de uma relação bidirecional, acaterrando em pacientes com doença periodontal não tratados, um controle glicêmico inadequado do diabetes e vice-versa (TAYLOR *et al.*, 2001; MEALEY *et al.*, 2006; VERGNES, 2010). Além destas condições bucais específicas, ocorre também cicatrização deficiente na mucosa bucal, desordens neurosensoriais

como sensação de queimação na mucosa, cáries dentárias e perdas ósseas (COSTA *et al.*, 2004; SIUDIKIENE *et al.*, 2006; CABRAS *et al.*, 2010; AL-MASKARI *et al.*, 2011; BASTOS *et al.*, 2011; BUSATO *et al.*, 2010).

Além disso, pacientes com DM estão mais suscetíveis a desenvolver infecções bucais bacterianas ou fúngicas, pelo fato de que há uma concentração elevada de proteínas salivares nestes pacientes, o que é um fator predisponente para o surgimento de tais infecções (CABRAS *et al.*, 2010). Outras doenças da mucosa bucal, como líquen plano, estomatite aftosa recorrente e língua geográfica também têm sido descritas como comuns em pacientes com DM e associadas também a uma contagem maior de microorganismos nestes indivíduos, como a *Candida albicans* (SAINI *et al.*, 2010; NEGRATO *et al.*, 2010; AL-MASKARI *et al.*, 2011; DUDKO *et al.*, 2013).

A literatura científica apresenta resultados contraditórios em relação à cárie dentária e ao fluxo salivar em crianças diabéticas, enquanto que entre os adultos e idosos está bem estabelecido que fluxo salivar é reduzido (AMARAL *et al.*, 2006; RAI *et al.*, 2011; TAGELSIR *et al.*, 2011; JAWED, 2012). Com a introdução de insulinas mais modernas no tratamento de crianças com DM1, o consumo de açúcar não é mais contraindicado, porém continua restrito. Como a sacarose é o mais cariogênico dos açúcares, seria razoável supor que indivíduos com seu uso restrito tivessem menor ocorrência de cárie dentária. No entanto, não há evidência de que uma dieta pobre em açúcares reverta em significativa redução na ocorrência de cárie nestes indivíduos. Em contrapartida, alterações quantitativas e qualitativas da saliva, como aumento da glicose salivar e alterações da flora bacteriana da boca relacionadas ao DM poderiam predispor a ocorrência de cárie (MATA *et al.*, 2004; GAMZE AREN *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2009). Os estudos que compararam os índices de cáries em indivíduos diabéticos e saudáveis tiveram achados discrepantes, não havendo consenso se os primeiros apresentariam ou não maior susceptibilidade (AMARAL *et al.*, 2006; RAI *et al.*, 2011; TAGELSIR *et al.*, 2011; JAWED, 2012).

Uma especificidade em relação à condição bucal de crianças pequenas é o período que ocorre a erupção de todos os elementos da dentição decídua, apresentando geralmente sintomas como irritabilidade, sialorréia, sono agitado, diarreia, erupções cutâneas, febre, entre outros (HULLAND *et al.*, 2000). Quanto ao aspecto salivar, deve-se destacar que esses primeiros anos de vida marcados por mudanças que afetam a cavidade bucal, como a erupção dos dentes e a transição da dieta, afeta diretamente a composição proteica salivar. A erupção dentária está associada com a microbiota bucal, que teoricamente resulta na regulação de proteínas salivares antibacterianas. Deste modo, a ingestão de alimentos sólidos estimula uma variedade de antígenos para a cavidade bucal, mudando também a composição salivar através do sistema imunológico (MORZEL *et al.*, 2011). Com isso o sistema de tamponamento salivar amadurece e há diferenças nos níveis iônicos e composição na saliva (BERTRAM *et al.*, 2009).

Além do amadurecimento que ocorre na composição e no sistema de tamponamento salivar, crianças com DM1 apresentam níveis mais elevados de glicose e insulina salivar, de acordo com alguns estudos que investigaram as concentrações destes componentes (SWANLJUNG *et al.*, 1992; KARJAILANEN *et al.*, 1996; LOPEZ *et al.*, 2003; SIUDIENE *et al.*, 2006; SIUDIENE *et al.*, 2008). Os achados de alguns destes autores sugeriram que a glicose salivar em níveis elevados na saliva propicia maior colonização de *Candida albicans*, levando a manifestações bucais mais características de pacientes com controle glicêmico inadequado. Além destes componentes, concentrações de íons como cálcio, sódio, potássio e fósforo também foram objetos de estudo em pesquisas com pacientes diabéticos (MATA *et al.*, 2004; GAMZE AREN *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2009; MALICKA *et al.*, 2015). Apesar de vários estudos já terem descrito que a composição salivar é alterada em pacientes diabéticos, ainda permanece incerto como ocorre essa alteração.

Contudo, é crescente o número de estudos que utilizam a saliva como o biofluido de escolha para a investigação. A coleta salivar é um procedimento fácil, de baixo custo e não invasivo, reduzindo assim, o desconforto associado à coleta sanguínea e à ausência de privacidade associada ao exame de urina

(NAVAZESH, 1993; LINDON *et al.*, 2004; WONG, 2006; SOGA *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2012). Especialmente em crianças, o medo e a ansiedade provocam alteração do estado emocional e podem provocar alterações na amostra sanguínea, por ser um método invasivo e doloroso, interferindo assim na confiabilidade e reprodutibilidade deste método (LIU e DUAN, 2012). Deve-se destacar que o aspecto não invasivo da coleta de biofluido é ainda mais relevante na população infantil, especialmente da primeira infância, período em que a comunicação ainda é difícil.

É importante ressaltar que a detecção precoce de uma doença, especialmente nos estágios iniciais, tem um papel crucial no sucesso de terapias e tratamentos clínicos (STRECKFUS e DUBINKSY, 2007; LEE e WONG, 2009). Assim torna-se possível o controle e progressão da doença, prevenção de complicações clínicas com redução da recorrência e monitoramento terapêutico pós-tratamento, levando a um aumento da qualidade e expectativa de vida do indivíduo (ITO *et al.*, 2009; LIU e DUAN, 2012). Entretanto, dentre as limitações do diagnóstico clínico, destaca-se a detecção tardia da doença. A fim de contornar essa limitação, faz-se necessária a utilização de métodos de fácil aplicabilidade, acessíveis, precisos e de plataforma portátil (MANDELL, 1993; CHU *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2009). Os métodos de diagnóstico molecular atendem esses requisitos e apresentam a vantagem de traduzir as condições fisiológicas, progressão e controle da doença por meio de indicadores que refletem o estado biológico. Além disso, predizem uma ameaça oculta e fatal antes da doença tornar-se complicada (GROOTVELD e SILWOOD, 2005; STRECKFUS *et al.*, 2006; LEE e WONG, 2009; TAKAHASHI *et al.*, 2010; FIDALGO *et al.*, 2013).

A literatura científica tem apontado estudos envolvendo novas tecnologias de identificação e mensuração de biomoléculas como o DNA, RNA e proteínas de sistemas biológicos como métodos promissores para fim de diagnóstico (SUNG *et al.*, 2012). Dentre essas ciências, denominadas “ômicas” (do inglês “omics”), destacam-se a proteômica, que quantifica a abundância de proteínas (BANDHAKAVI *et al.*, 2009; MATTA *et al.*, 2010), a transcriptômica, que mede os níveis de mRNA transcrito (GARCIA *et al.*, 2008; PARK *et al.*,

2009), e a metabolômica, que determina o perfil de metabólitos celulares (BERTRAM *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2010; SUNG *et al.*, 2012).

Metabólitos são produtos finais de processos de regulação celular que, quando em conjunto, são denominados metabolomas (NICHOLSON *et al.*, 2008). Dessa forma, níveis de metabólitos podem ser considerados como resposta final dos sistemas biológicos de alterações genéticas ou ambientais, estabelecendo uma “impressão digital” do perfil metabólico intrínseco do indivíduo ou influenciadas por fatores extrínsecos (ZHANG *et al.*, 2012). Muitas doenças resultam em alterações específicas e características do produto químico e do perfil bioquímico de biofluidos e tecidos (ISSAQ *et al.*, 2009). A análise do estado fisiológico e patológico dessas estruturas permite identificar marcadores químicos capazes de estabelecer o diagnóstico e prognóstico, que segundo alguns autores estão associados ao fenótipo de determinadas doenças (FIEHN, 2002; BERNINI *et al.*, 2009; HUST *et al.*, 2011; NICHOLSON *et al.*, 2012).

Sendo assim, métodos como a técnica analítica espectroscópica de ressonância magnética nuclear (RMN) têm sido empregados para identificar e quantificar, simultaneamente, uma ampla gama de compostos orgânicos de baixo peso molecular presentes em diversos biofluidos, inclusive na saliva de adultos. A literatura sobre RMN relacionada a estudos com biofluidos de crianças ainda é escassa, principalmente na faixa etária que será investigada neste estudo. Mais ainda quando se trata de estudos relacionados à composição salivar de indivíduos diabéticos. Corpos cetônicos salivares (α -hidroxibutirato) e metabólitos relacionados à glicose (1,5-anhydroglucitol) têm sido associados ao diabetes em adultos (LANZA *et al.*, 2010; SUHRE *et al.*, 2010; BARNES *et al.*, 2014). Perfil de metabólitos de baixo peso molecular no plasma sanguíneo e na urina de crianças com DM1 já foram descritos e se encontravam alterados quando comparados com amostras destes biofluidos de crianças saudáveis (ZUPPI *et al.*, 2002; ORESIC *et al.*, 2008; CULLEDU *et al.*, 2012; STANISLAW DEJA *et al.*, 2013). Outros biofluidos já foram utilizados para investigar o DM1 através da técnica RMN, como no estudo de Culleredu *et al.* (2012), que utilizou a urina como biofluido de estudo em pacientes

diabéticos e através da técnica de RMN, sendo possível perceber alterações no perfil dos metabólitos de crianças diabéticas comparadas com pacientes saudáveis.

Moon-Kanamori *et al.*, (2013) relataram que um metabólito da região do açúcar (1,5-Anhydroglucitol) seria um ótimo biomarcador, encontrado na saliva de pacientes com DM1, que poderia monitorar níveis elevados de glicose, já que a concentração do primeiro é inversamente proporcional ao segundo. Especialmente em crianças, no qual os pais precisam aferir múltiplas vezes a glicemia capilar de seus filhos e ainda fazer aplicações injetáveis de insulina diariamente, um método não-invasivo e de fácil aplicabilidade promoveria melhor qualidade de vida para o núcleo familiar (RANKIN *et al.*, 2014).

Desta forma, estudos mostraram que a saliva apresenta níveis mais elevados de glicose (JURYSTA *et al.*, 2009; MASCARENHAS *et al.*, 2014) e outros componentes (KARJAILANEN *et al.*, 1996), favorecendo o aparecimento de manifestações bucais em pacientes diabéticos através de lesões nos tecidos moles (DARWAZEH *et al.*, 1991; SASHIKUMAR *et al.*, 2009), cicatrização deficiente e doença periodontal (GAMZEN AREN *et al.*, 2009), por exemplo. Tal fato reforça a necessidade de profissionais de saúde estar atentos a sinais clínicos mesmo em pacientes não diagnosticados com DM (MOHAMED *et al.*, 2014).

Outro aspecto que merece atenção é em relação às condutas frente ao tratamento odontológico de pacientes diabéticos. Muitos profissionais da odontologia se sentem inseguros para atender pacientes com necessidades especiais e, muitas vezes, não têm em sua formação o treinamento adequado e até mesmo o conhecimento de sinais clínicos e sintomas pertinentes ao quadro sistêmico (KUNZEL *et al.*, 2007; BOYD *et al.*, 2008). Além disso, para o tratamento do DM, inúmeros profissionais de diversas áreas da saúde são responsáveis pelo manejo da doença, para evitar sua progressão. Dessa forma, estes pacientes são acompanhados por endocrinologistas, oftalmologistas, fisioterapeutas e nutricionistas, por exemplo. Muitas vezes, a informação de que a manutenção da saúde bucal é de extrema importância

para o controle glicêmico não é transmitida (AL-KHABBAZ *et al.*, 2011), levando a negligência da saúde bucal por parte dos pacientes e/ou responsáveis (DALE *et al.*, 2014).

Sendo assim, avaliar o nível de conhecimento dentre os profissionais de odontologia sobre o DM é de grande valia. O atendimento de pacientes com esta doença no cotidiano clínico odontológico é muito comum e, muitas vezes, por desconhecer o protocolo de atendimento, esses pacientes são encaminhados ou até mesmo não atendidos pelos dentistas clínicos gerais. Assim como o manejo destes pacientes, o reconhecimento dos sinais e sintomas é muito importante, já que podem promover dor e desconforto ao paciente. Este fato pode dificultar a nutrição e levar a depressão da resposta imunológica oral, que já se encontra comprometida, aumentando a susceptibilidade às infecções fúngicas e bacterianas. Além de que alguns pacientes podem apresentar sinais e sintomas, mas não terem sido diagnosticados ainda com DM. O que torna o papel do cirurgião-dentista de extrema importância, auxiliando no diagnóstico de condições sistêmicas, através do exame bucal (LAMSTER *et al.*, 2008; RAJESH *et al.*, 2001).

Contudo, o conhecimento da relação bilateral entre DM e a doença periodontal muitas vezes é deficiente entre os cirurgiões-dentistas, principalmente quando não atendem pacientes com problemas periodontais (AL-KHABBAZ *et al.*, 2011a; AL-KHABBAZ *et al.*, 2011b). Esta relação bilateral, na qual uma condição afeta a outra, levando a um controle glicêmico inadequado do DM quando a doença periodontal não é tratada, leva o paciente a necessitar de acompanhamento odontológico (VERGNES, 2010; LALLA *et al.*, 2011; PRESHAW *et al.*, 2012). Inclusive, a Associação Americana de Diabetes (ADA) recomenda como um dos primeiros passos para o tratamento do DM, uma visita ao dentista (IDF, 2007; ADA, 2014).

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a saúde bucal e perfil salivar e acesso a tratamento odontológico de crianças com diabetes mellitus tipo 1.

2.2 Objetivos Específicos

- Comparar a condição de saúde bucal de crianças com diabetes mellitus tipo 1 com crianças clinicamente saudáveis;
- Avaliar a composição salivar através de concentrações de cálcio, glicose, proteína total e perfil de metabólitos salivares de crianças com diabetes mellitus tipo 1 comparando com crianças clinicamente saudáveis;
- Relacionar a condição de saúde bucal e salivar com controle glicêmico de crianças com diabetes mellitus tipo 1
- Avaliar o acesso e experiência odontológica de crianças com diabetes mellitus tipo 1 comparando com as crianças clinicamente saudáveis;
- Avaliar o conhecimento e condutas de profissionais e estudantes de odontologia sobre atendimento de pacientes com diabetes mellitus.

3 DELINEAMENTO DA PESQUISA

3.1 DESENHO DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

A presente pesquisa classifica-se como observacional do tipo transversal descritiva e comparativa realizada em três etapas. A 1ª etapa (clínica) foi constituída por entrevista com os responsáveis de crianças com DM1 e crianças saudáveis, além de exame clínico intrabucal e coleta salivar. A 2ª etapa (laboratorial) consistiu na análise do perfil salivar através de diferentes técnicas bioquímicas, enquanto a 3ª etapa implicou no emprego de questionário para avaliar o conhecimento de cirurgiões-dentistas e estudantes de odontologia sobre diabetes mellitus.

Esta pesquisa obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho CEP-HU, sob o nº 482.780/2013 (Anexo 1, página 120). O Estudo 1, constituído pela primeira e segunda etapa, deu origem ao Artigo 1 e ao Artigo 2. O Estudo 2, realizado na terceira etapa desta pesquisa, originou o Artigo 3.

3.2 ESTUDO 1

3.2.1 População do Estudo 1

O Estudo 1 foi realizado com uma amostra de conveniência de pacientes com diagnóstico de DM1 que estavam em tratamento no Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IPPMG/UFRJ) entre o período de junho de 2013 até junho de 2014, os quais formaram o Grupo Diabético (GD). O Grupo Saudável (GS) foi composto por crianças clinicamente saudáveis, em tratamento na Clínica de Odontopediatria do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia (FO/UFRJ), pareadas em relação ao gênero e idade do GD.

Os critérios de inclusão para seleção da amostra foi a faixa etária de 06 a 72 meses (ou seja, 6 anos completos), somente na fase de dentição decídua.

Sendo no GD crianças com diagnóstico estabelecido de diabetes mellitus tipo 1 e no GS crianças clinicamente saudáveis. Nos dois grupos foi considerado como critério de inclusão a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo responsável e anuência da criança (Anexo 2, página 121).

Os critérios de exclusão consistiram em crianças a partir de 6 anos de idade e crianças em fase de dentição mista. Para o GS, foram excluídas crianças portadoras de qualquer doença crônica, inclusive diabetes mellitus. Enquanto que, para o GD, foram excluídas crianças portadoras de outra doença crônica, além do diabetes mellitus tipo 1, como hipertensão arterial ou insuficiência renal crônica ou algum outro tipo de doença que possa interferir no resultado do estudo. Além disso, foi considerado como critério de exclusão a ausência de assinatura do TCLE.

3.2.2 COLETA DE DADOS

Inicialmente, a pesquisadora e uma colaboradora da pesquisa realizaram aproximação com o serviço de saúde e com os profissionais ali inseridos no Ambulatório de Diabetes do IPPMG/UFRJ, buscando compreender a dinâmica de trabalho e receber suporte da equipe multiprofissional envolvida na atenção aos pacientes com diabetes mellitus. Após a inserção da pesquisadora no campo de estudo, deu-se início a coleta de dados. A pesquisadora dirigia-se aos pacientes com idade inferior a 06 anos e seus respectivos responsáveis que se encontravam na sala de espera do Ambulatório de Diabetes aguardando consulta médica e os convidava a participar da pesquisa, esclarecendo a natureza do estudo e seus objetivos. Após a concordância dos sujeitos era então solicitada a assinatura do TCLE (Anexo 2, páginas 121 e 122), garantindo assim a autorização para aplicação dos instrumentos de coleta de dados.

A coleta de dados foi realizada no espaço de tempo em que os usuários aguardavam a consulta, em uma sala arejada e com iluminação adequada, dentro do Ambulatório de Diabetes. Quando não havia crianças dentro dos

critérios de inclusão agendadas, a pesquisadora não estava presente, assim como se houvesse mais de uma criança e não houvesse tempo hábil de realizar todos os procedimentos da coleta de dados, um agendamento era feito para que a criança fosse então avaliada na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFRJ, localizada em prédio próximo ao do Ambulatório de Diabetes do IPPMG/UFRJ.

Os dados foram coletados por meio de anamnese, prontuário médico, exame clínico intrabucal e coleta de saliva. A coleta de dados foi realizada por um único examinador (L.R.P.O.) seguindo critérios internacionais reconhecidos conforme descritos a seguir.

3.2.2.1 - Anamnese

Um prontuário individual (Anexo 3, páginas 123, 124 e 125) foi idealizado para cada participante no intuito de registrar todas as informações necessárias. O tempo médio de cada entrevista com os responsáveis foi de 30 minutos. As respostas às questões fechadas e abertas do prontuário referentes aos dados sociodemográficos e clínicos foram registradas no próprio instrumento, concomitantemente à entrevista, pela pesquisadora ou a aluna de iniciação científica, que atuava como assistente. A entrevista com os responsáveis foi feita a fim de coletar dados pessoais da criança, história médica (idade de estabelecimento da doença, administração de insulina e ocorrência de complicações relacionadas à doença, como a hipoglicemia, poliúria e a cetoacidose diabética, bem como sinais e sintomas relacionados à hipoglicemia e hiperglicemia e ocorrência de diabetes mellitus na família), história odontológica pregressa, presença de hábitos deletérios, hábitos alimentares rotineiros passados ou presentes (idade do desmame, frequência de consumo de açúcar e tipo de alimentação entre as refeições principais) e hábitos de higiene bucal (frequência, tipo de dentífrico, se fazia uso de fio dental ou bochecho).

Também foi questionado sobre frequência de higiene bucal, origem do conhecimento sobre higiene bucal, relato de encaminhamento médico prévio para visitar um dentista e experiência de tratamento odontológico prévio

oferecido à criança (restaurações dentárias, tratamento de canal, exodontias etc). Percepção da saúde bucal da criança também foi questionada aos pais em relação ao hálito cetônico e xerostomia, através de perguntas como: “Você já percebeu um hálito diferente, como se fosse de vinagre ou ‘maçã podre’ na boca do seu filho?” ou então “Você já percebeu que seu filho fica com a boca ressecada?” (FOX, 1987; AL-ZHARANI *et al.*, 2011).

Finalizada a anamnese, os prontuários médicos das crianças do GD foram consultados a fim de se obter informações detalhadas sobre a condição sistêmica da criança. Dados relacionados ao controle glicêmico, como a hemoglobina glicada foram também coletados. Baseando-se nas diretrizes da ADA (American Diabetes Association, 2014) para o controle do DM1 de crianças diabéticas com até 6 anos de idade, foram consideradas descontroladas aquelas crianças cuja taxa de hemoglobina glicada foi superior a 8,5%. Por outro lado, aquelas com valores até 8,5% foram consideradas como sendo controladas. A glicemia capilar foi aferida no momento da consulta odontológica e os valores foram registrados no prontuário da criança, através do glicosímetro que cada responsável utiliza para medições diárias de glicose de suas respectivas crianças. Valores acima de 200mg/dl foram considerados altos e valores baixos foram aqueles abaixo de 200mg/dl.

3.2.2.2 - Coleta Salivar

Antes de se iniciar o exame intra-bucal, foi realizada a coleta salivar e, para isso, a criança permaneceu sem comer nem beber pelo período de 1 hora. A criança foi então confortavelmente acomodada na cadeira odontológica ou, quando não houve interesse de ir à Clínica do Departamento de Odontopediatria, a criança foi acomodada no colo da mãe em uma sala arejada e iluminada no Ambulatório de Diabetes do IPPMG/UFRJ, sendo a coleta salivar feita com o auxílio de Salivette[®] (Salimetrics, Alemanha). Tal dispositivo, semelhante a um pequeno rolete de algodão foi posicionado no assoalho da boca da criança ficando parte dele para o lado de fora da boca, para que fosse segurado pelo pesquisador. A cada 30 segundos, o Salivette[®] foi removido da cavidade bucal da criança e pressionado com a ajuda de uma seringa sem

agulha para extrair do Salivette® a saliva por ele absorvida. Tal procedimento foi repetido até que se conseguiu coletar o volume de 1 mL de saliva. A amostra salivar coletada foi colocada em um tubo do tipo *ependorf* com a identificação do sujeito da amostra e acondicionado em isopor com gelo por, no máximo de 2 horas, até que foi feito o seu processamento e armazenamento.

3.2.2.3 - Exame Intra-Bucal

Feita a coleta salivar, a criança continuou da mesma forma acomodada como preferiu, sentada no colo da mãe (quando no IPPMG) ou sentada na cadeira odontológica (quando na clínica do Departamento de Odontopediatria da UFRJ) e, utilizando espelho bucal, e refletor de luz/luz natural, a pesquisadora conduziu o exame intra-bucal. Em formulário próprio foi realizado o registro de alterações em tecidos moles (anormalidades na língua como fissuras, coloração avermelhada, língua geográfica, papilas proeminentes e endentações laterais; líquen plano e outras alterações) e de quaisquer alterações nos tecidos duros, como hipoplasias ou descoloração coronária, assim como o índice de placa O'Leary, índice de cálculo dental e índice de cárie ceo-d (Anexo 3, página 125).

Concluído o exame intra bucal, foi entregue aos responsáveis pelos sujeitos do estudo um *kit* para as crianças contendo escova dental e dentífrico fluoretado, além de instrução para higiene bucal adequada das crianças. Também foi entregue uma caderneta contendo as instruções de higiene bucal. As crianças que necessitavam de tratamento odontológico foram agendadas para que o tratamento fosse realizado na própria Clínica de Odontopediatria do Departamento – FO/UFRJ.

3.2.2.4 - Processamento e Armazenamento das Amostras Salivares

As amostras salivares foram processadas através da centrifugação a 4°C a 10.000 g por 60 minutos (Cientec, CT – 15 000R, Brasil) no Laboratório Multidisciplinar do Departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFRJ. Logo após, o sobrenadante das amostras salivares foi

transferido em alíquotas de 500 µL para tubos plásticos do tipo eppendorf[®], os quais foram identificados com os dados do sujeito. As amostras foram, então, armazenadas a -80°C até o momento das análises.

3.2.2.5 - Análise por Ressonância Magnética Nuclear

Para a análise por RMN, foram adicionados 50 µL de água deuterada (D₂O; Cambridge Isotope Laboratories inc., USA) e 10 µL de dodecil sulfato de sódio 4,4-dimetil-4-silapentane-1-sulfônico a 20 mM (DSS; Sigma-Aldrich, Milwaukee, USA) a 450 µL de amostra salivar no Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear Jiri Jonas (CNRMN), localizado no Centro de Ciências da Saúde (CCS- UFRJ). Neste preparo, o D₂O serviu de referência para o alinhamento do campo magnético com a amostra (lock) e o DSS para o deslocamento químico de hidrogênio, $\delta = 0.00$ ppm.

Os espectros foram obtidos através de um espectrômetro de RMN 500 MHz (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany) a 25°C (PIOTTO *et al.*, 1992; SILWOOD *et al.*, 2002; BERTRAM *et al.*, 2009). Foi usado a sequência de pulso ZGESGP para aquisição do espectro de uma dimensão (1D) tendo supressão de água com filtro CPMG (HAWANG e SKADA, 1995). Para experimento 2D a técnica ¹H-¹H-TOCSY foi realizada para confirmação do assinalamento e avaliação de ambiguidades.

3.2.2.6 - Dosagem da Concentração de Proteína Total

A concentração de proteína total das amostras salivares através do método de Bradford, utilizando albumina de soro bovino como proteína padrão. A mensuração foi realizada em duplicata através de espectrofotômetro (Beckman Coulter Inc., Brea CA, USA) determinando o O.D. em comprimento de onda de 595 nm (MARTINS *et al.*, 2012).

3.2.2.7 - Dosagem de Concentração de Cálcio Salivar

Para determinar o cálcio salivar foi utilizado um kit de dosagem de concentração de Cálcio (QuantiChrom[™] Calcium Assay Kit – DICA500,

BioAssay Systems, Medibena Life Science and diagnostic solutions, Áustria) composto por padrão e reagente enzimático, através de método colorimétrico. As amostras em repouso foram descongeladas e centrifugadas por três minutos em força gravitacional de 7000 *g*. Foram adicionados 5µL de cada amostra salivar com 5 µL de padrão diluído em cada poço da placa e então acrescentado 200 µL de reagente e levemente misturados com a pipeta multicanal. O tempo de incubação foi de 3 minutos para se efetuar a leitura óptica através de espectrofotômetro UV-VIS BECKHAM DU 640, em comprimento de onda 612 nm. Procedeu-se primeiramente a calibração do espectrofotômetro e em seguida a leitura do padrão e das amostras em duplicatas (MARTINS *et al.*, 2012).

3.2.2.8 – Dosagem de Concentração de Glicose Salivar

A concentração de glicose salivar foi determinada através do emprego de um *kit* de Glicose Líquido Estável (BIOCLIN[®] kits, Belo Horizonte-MG/Brasil) composto por: padrão, tampão e reagente enzimático. A solução de trabalho (solução branca) usada para calibrar o espectrofotômetro UV-VIS BECKMAN DU 640, em comprimento de onda 500 nm, foi preparada misturando-se num Becker 24 mL de solução tampão com 1 mL de reagente enzimático líquido estável. Posteriormente preparou-se a solução padrão colocando-se em um tubo de ensaio de padrão e 1 mL de solução de trabalho. As amostras em repouso foram descongeladas e centrifugadas por três minutos em força gravitacional de 7000 *g*. Em seguida, as amostras foram preparadas colocando, em tubos de ensaio etiquetados e enumerados, 10 µL de saliva em repouso e 1 µL de solução de trabalho, homogeneizou-se a mistura e colocaram-se todos os tubos em *banho-maria* à 37° C, por 10 minutos. Procedeu-se a calibração do espectrofotômetro e em seguida a leitura do padrão e das amostras em duplicatas (VASCONCELOS *et al.*, 2009).

3.2.2.9 - Análise Estatística

Os dados obtidos através da entrevista e exame intra-bucal, tais como idade, manifestações bucais, resultados do índice ceo-d foram incluídos e

processados no programa estatístico SPSS 20.0 (SPSS Inc, MN, USA). Os testes Exato de Fisher e Qui-Quadrado foram empregados com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e foram determinadas a frequência absoluta e relativa, bem como a média e o desvio padrão.

Para os dados obtidos das concentrações de cálcio, proteína total e glicose salivar também foram realizadas análises descritivas, nas quais foram determinadas a frequência absoluta e relativa, bem como a média e o desvio padrão. Gráficos foram utilizados para melhor visualização da distribuição das concentrações das amostras salivares das crianças de ambos os grupos, e também entre os controlados e descontrolados do GD.

Para a análise estatística dos dados de RMN, os espectros foram submetidos previamente ao ajuste de linha de base usando o software Topspin[®] (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Alemanha). Em seguida, foi feito a extração dos dados e análise estatística por meio do programa estatístico AMIX (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Alemanha). A região de 4,5-5,5 ppm, foi removida da análise devido a interferência da água localizada em 4,7 ppm. Os dados foram normalizados pela escala de PARETO (RAMADAN e JACOBS *et al.*, 2006) e a análise dos componentes principais (ACP), ferramenta utilizada para visualização de possíveis diferenças entre os grupos estudados (JOLLIFFE, 2002), foi aplicada por covariância.

Para análise dos metabólitos foram aplicados os testes ANOVA e Tukey com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os assinalamentos dos metabólitos foram realizados com base no protocolo recomendado por (SILWOOD *et al.*, 2002) e o banco de dados Human Metabolome Database.

3.2.2.10 - Aspectos Éticos

No que tange a questões éticas, tanto os objetivos quanto a metodologia foram esclarecidos aos responsáveis dos pacientes através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o qual utilizou uma linguagem adequada evitando quaisquer dúvidas. A pesquisadora também esteve permanentemente

à disposição destes para possíveis esclarecimentos. Desta forma, só participaram da pesquisa aqueles pacientes com autorização de seus responsáveis, a qual foi expressa através da assinatura do TCLE e anuência da criança.

Tais responsáveis das crianças também ficaram a vontade para desistir de contribuir para a pesquisa, caso fosse seu desejo. A pesquisa foi realizada cercada de todos os cuidados necessários para evitar qualquer tipo de dano ou prejuízo aos pacientes. Também foi oferecido aos pacientes e responsáveis orientações quanto a higiene bucal, além de escova de dentes e dentifrício com fluoreto. Aqueles pacientes que durante o exame da cavidade bucal apresentaram necessidade de tratamento odontológico foram agendados na Clínica de Odontopediatria do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da FO/UFRJ. Além disso, a pesquisadora se colocou a disposição da equipe de saúde do Ambulatório de Diabetes do IPPMG/UFRJ para orientações em relação a saúde bucal. A pesquisa seguiu as normas do CEP 196/96 e, conforme já citado, recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HUCFF/UFRJ, sob o protocolo número: 482.780/2013 (Anexo 1, página 120).

3.3 ESTUDO 2

Para responder aos questionamentos quanto ao nível de conhecimento e práticas de profissionais e estudantes de Odontologia no atendimento de pacientes com DM no consultório odontológico, o Estudo 2 foi realizado. É caracterizado como sendo um estudo observacional do tipo transversal analítico.

3.3.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Estudantes de odontologia a partir do terceiro período acadêmico e cirurgiões-dentistas, entre eles clínicos - gerais e especialistas de diversas áreas, estavam elegíveis para serem incluídos na pesquisa. Como critérios de exclusão foram considerados cirurgiões-dentistas e estudantes que não aceitaram participar, assim como aqueles que apesar de terem concordado em participar, não responderam o questionário para avaliar seus conhecimentos e condutas no atendimento de pacientes com DM. Estudantes e profissionais de outras áreas da saúde também não estavam elegíveis para a participação nesta pesquisa.

3.3.2 COLETA DOS DADOS

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O instrumento de análise foi um questionário auto-administrado (Anexo 4, páginas 126 e 127), estruturado com 12 perguntas fechadas e 04 abertas sobre o conhecimento e práticas de manejo de pacientes diabéticos. Tal questionário foi previamente validado por dois docentes do Departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia, sendo um deles especialista em avaliação. Estes docentes avaliaram o questionário e verificaram a pertinência e relevância de cada pergunta e resposta, assim como sugeriram modificações nas mesmas. Posteriormente a validação, o questionário foi submetido a um estudo piloto com dez pós-graduandos em odontologia. Estes questionários não fizeram parte da amostra final selecionada para a pesquisa.

Em seguida, o questionário foi aplicado a cirurgiões-dentistas e estudantes de odontologia, os quais foram previamente informados sobre os propósitos da pesquisa e, quando de acordo, de livre e espontânea vontade, responderam ao questionário. Os participantes foram solicitados a responder de forma privada, para que não houvesse influência nas respostas. Os dados foram coletados durante o período de setembro a dezembro de 2014, sendo aplicado durante a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, realizada na cidade de Águas de Lindóia (SP), e na Faculdade de Odontologia da UFRJ, no Rio de Janeiro (RJ). Uma versão *online* do questionário foi disponibilizada na Internet para que houvesse um maior número de participantes. As informações necessárias para a realização da pesquisa foram elucidadas aos participantes no cabeçalho do questionário, o qual foi respondido de forma anônima.

A primeira parte do questionário abordava informações demográficas, tais como: idade, gênero, formação (acadêmico ou graduado), especialidade, local de trabalho. A segunda parte era composta por questões mais específicas, por exemplo, se o respondente sabia reconhecer as manifestações bucais do diabetes mellitus, seus sinais e sintomas, e sabia diferenciar hiperglicemia de hipoglicemia, além dos cuidados necessários para o manejo odontológico de pacientes com DM.

Para a análise dos resultados, foram agrupadas as respostas certas. Nas questões em que havia mais de uma alternativa correta, foi considerado como “correto” quando o participante assinalou uma ou mais alternativas, desde que nenhuma estivesse incorreta. Após a análise das respostas, estas foram tabuladas e submetidas à análise estatística descritiva.

3.3.3 Análise Estatística

Os dados obtidos foram computados em um banco de dados do software SPSS 20.0 (IBM, Chicago, Illinois, USA). Quanto à apresentação dos resultados, foi utilizada estatística descritiva através de frequências, médias e desvio-padrão e aplicados os testes Exato de Fischer, que mede a associação

entre duas variáveis qualitativas, e teste Qui-quadrado, levando em consideração o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

4.1- Artigo 1 – *Relação da Saúde Bucal e Cuidados Odontológicos com o Controle do Diabetes em Crianças Jovens*

Oral Health and Dental Care Related to Diabetes Status in Young Children

Livia Roberta Piedade de **OLIVEIRA**¹

Carla **MARTINS**²

Liana Bastos **FREITAS-FERNANDES**³

Ivete Pomarico Ribeiro de **SOUZA**⁴

¹DDS, Master Student, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

²DDS, MSc, PhD, Adjunct Professor, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

³DDS, MSc, PhD, Visiting Professor, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

⁴DDS, MSc, PhD, Full Professor - Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Corresponding Author –Dr. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Caixa Postal: 68066 – Cidade Universitária – CCS

CEP: 21941-971 - Rio de Janeiro – RJ –Brazil

E-mail: pomarico@gmail.com Fax/phone: +5521 39382101

ABSTRACT

This study aimed to compare the oral health, dietary and hygiene habits and dental care experience of young type 1 diabetic children (DG) to healthy ones (HG). Besides that, to investigate the role that diabetes status control plays regarding oral health of these children. Children's guardians were asked about the oral hygiene, eating habits and dental care experience. Diabetes status from DG was determined using HbA1C levels, whereby HbA1c<8.5% was considered controlled and >8.5% uncontrolled. Oral examination was performed in order to assess dental caries (dmft), plaque and calculus indexes, besides oral manifestations in soft tissues. Data were described and analyzed by SPSS 20.0 software through Chi-square and *T*-tests. A total 34 children from DG and 34 from HG, matched by gender and age, were enrolled in this study. Diabetic children differed from healthy ones in relation to geographic tongue, breath acetone and xerostomia ($p<0.05$). Only 23% ($n=7$) of DG were uncontrolled. Differences between controlled and uncontrolled diabetic children were also observed, such as gender, age at diagnosis, disease duration, sugar consumption, dental visits, type of experience during dental appointment, presence of geographic tongue, dental caries, reported breath acetone and xerostomia ($p<0.05$). Toothache was the main reason that children of DG had been to a dentist before. In conclusion, the oral health and the dental care offered to DG differed from HG, as well as the diabetes status showed to influence the oral condition of the diabetic children.

KEYWORDS: diabetes type 1, children, oral hygiene, dental caries, oral manifestation, Hb1Ac, diabetes status.

INTRODUCTION

Diabetes Mellitus Type 1 (DM1) is considered a worldwide public health problem and is one of the most common endocrine-metabolic disorders of childhood¹⁻³. Its incidence is increasing in many countries, especially in children under five years old¹⁻³. Good glycemic control is essential to avoid the progression of the disease, which can lead to many complications including blindness, renal insufficiency and death⁴. Measurement of glycosylated hemoglobin (Hb1Ac) is considered gold standard to assess the long-term glycemic control. The lower the Hb1Ac value is, the better is the metabolic control^{1,2}. The Hb1Ac value for children under six years old is 8.5%, although it is usually around 6.5% for other age groups. The goal standard value is higher than in other age group because lower Hb1Ac means the patient had more hypoglycemia, which in small children is difficult to recognize and can lead to cognitive impairment and neurological damage^{1,2,4}.

Regarding to oral manifestation of DM1, the association between periodontal disease and diabetes is already well established in adults⁷⁻⁹, as well as, the incidence of xerostomia¹⁰ and breath acetone^{11,12}. Diabetes related parameters have been associated to periodontal problems in children^{5,6} and also accelerated tooth eruption¹⁹. On the other hand, it is still controversial regarding to dental caries¹³⁻¹⁶ and oral manifestations as geographic and coated tongue²⁰⁻²³. Several studies have investigated the oral status of diabetic children related to metabolic control compared to healthy children^{5,6,13-16}. However, little is known about oral health of diabetic children aged under six years old. Thus, it is not clear if the metabolic control influences the oral health of these children.

Good oral health condition depends on many factors, including dietary and hygiene habits and also the access to dental care. Although dental care offered to these children plays an important role in the oral health, since the diabetic children visit so many different health professionals in order to manage diabetes, oral health is sometimes neglected and they tend to have poor oral hygiene practices²⁴⁻²⁶.

The aim of this study was to compare oral health, dietary and hygiene habits and dental care experience of young type 1 diabetic children to healthy ones. Besides that, to investigate the role that diabetes status control plays regarding oral health of these children.

MATERIALS AND METHODS

Study population

A case-control epidemiologic study was performed after being approved by local Ethics in Human Research Committee. It was conducted in full accordance with ethical principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (2002). We obtained written informed consent from all parents/legal guardians. A total of 68 children with primary dentition were divided in two groups matched by age and gender. Diabetic group (DG) was composed by children with type 1 diabetes in treatment at the Diabetes Ambulatory of the Pediatric Hospital from Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ) recruited from June, 2013 until June, 2014 while healthy group (HG) from the Pediatric Dentistry Clinic at the Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics – UFRJ, which was composed by children with no history of systemic disease.

Parental reports

The parents/legal guardians were requested to provide information about *dietary habits* (sugar consumption frequency), *oral hygiene habits*, *oral health perception* (dry mouth sensation and breath acetone) and *dental care experience*.

Diabetes – related variables

Medical data related to DG was obtained from the medical records, such as: capillary glucose values; duration of disease (years since diagnosis); the child age at the moment of diagnosis of type 1 diabetes; history of complications associated to diabetes; insulin regimen (multiple daily insulin injections or continuous subcutaneous insulin infusion) and glycosylated hemoglobin values

– Hb1AC, whereby Hb1Ac<8.5% was considered controlled and >8.5% uncontrolled.

Clinical examination

Oral health assessment was performed in the all 68 children by a single pediatric dentist (Oliveira, LRP) following international criteria in order to assess the different conditions:

Oral Manifestation: A complete intraoral soft-tissue examination was performed with a dental mirror and gauze square. The diagnosis of any oral soft tissue condition was established based on onset, duration, oral habits, clinical appearance, history of dental trauma and previous episodes. The locations and descriptions of the lesions were also recorded and photographed.

Dental caries experience: The condition of each surface was recorded using the decayed, missing, filled index (dmf-t). The diagnosis criteria followed those proposed by WHO (1997).

Oral Hygiene: O'Leary Plaque index was used to assess presence of dental biofilm in four surfaces for each tooth. The presence or absence of plaque was evaluated, regardless of its amount, and the corresponding index was obtained as a percentage on summing the results and dividing by the total number of points explored (O'Leary, 1972). As a result, below 25% is considered as a satisfactory hygiene score.

Presence of calculus: The calculus index scores were recorded on the four tooth surfaces (mesial, distal, buccal, and lingual), and the quantity of calculus was assessed at the cervical area of every tooth. The numerical scores of the plaque index were calculated according to the formula: Per person = sum of individual scores/number of teeth present for each person and expressed in percentage.

At the end of the examination, each patient received oral hygiene instruction and a kit with toothpaste and toothbrush. A dental prophylaxis was offered. Every child was registered as a patient at the Pediatric Dental Clinic –

UFRJ. Urgent dental care was immediately performed for those who needed it, while the others were scheduled to regular visits.

Data and statistical analysis

Data were described and analyzed through SPSS 20.0 software (IBM, Chigago, USA). First, we directly compared cases and controls using unadjusted Student's t- or Chi-square tests. Then we compared diabetic children with good and poor metabolic control using Student's t or Chi-square tests.

RESULTS

In this study, the age of the enrolled children ranged from 1 to 6 years, the mean age was 4 ± 1.25 years old. In each group, 50% of the children were female (n=17). Table 1 shows the results in relation to the oral condition of diabetic children, which differed significantly from healthy children regarding dental caries and oral manifestations ($p < 0.05$). Diabetic children showed to have lower scores of dental caries compared to the healthy children since the mean dmft index was 1.38 ± 4.61 (0-12) for DG while, for HG, the mean dmft was 5.30 ± 0.945 (0-17). Besides, among the variables of the caries index, there were significant statically differences between the groups regarding decayed and filled teeth ($p < 0.05$). Plaque and calculus indexes also varied between the groups, but with no significant statically difference ($p > 0.05$). In soft tissues, oral manifestations were observed with a prevalence of 35.3% for DG, while only 9% among children from HG. Geographic tongue was the only oral manifestation of DG (35.3%), while HG presented 2.9% for geographic tongue and 6.1% for stomatitis.

Information reported by the DG guardians related to oral hygiene and dietary habits, oral health perception and dental care experience patterns showed differences compared to HG. Xerostomia showed a prevalence of 52.9% (n=18) and breath acetone 47.1% (n=16) ($p < 0.001$). Regular sugar consumption and habits of eating snacks and candies also showed difference

between the groups, whereas 20.6% of diabetic children (n=7) consumed less sugar than children from HG (n=1; 3%) ($p<0.05$).

Table 1: Sample characteristics of both diabetic (DG) and healthy (HG) children regarding to oral examination, oral health perception, dietary and hygiene habits and the differences between the groups.

Parameters	Group DG (n=34)	HG (n=34)
dmft index (mean)*	1.38±0.46	5.30±0.94
Decayed teeth (mean)*	0.94±2.13	3.55±4.26
Missing teeth (mean)*	0.97±0.16	2.24±0.39
Filled teeth (mean)*	0.40±0.07	1.34±0.23
Caries-free children (%)*	64.7	31.3
Plaque (O'Leary Index) (%)	9.41±7.68	9.82±8.51
Dental hygiene	satisfactory	satisfactory
Calculus Index (%)	1.59±2.19	1.19±5.72
Presence of oral tissue anomalies (%)*	35.3	9
Reported xerostomia (%)*	52.9	0
Reported breath acetone (%)*	47.1	0
Regular sugar consumption (%)*	79.4	97
Eating snacks and candies between meals (%)*	73.5	97
Perform oral hygiene (%)	84.8	93.9
Children referred to Dental Care by medical staff (%)*	61.5%	40
Dental Visits (%)*	27.3	81.8
Pain as the main reason of the visits (%)*	38.5	63
Restorative treatment performed (%)	12	35.7
Extraction or endodontic treatment performed (%)	24	32.1

Note: * means $p<0.05$

Regarding to diabetes status, three children had recently been diagnosed with DM1 and had no enough data about their Hb1AC levels to allow establishing their diabetes control. These children were then removed from the analysis about association between metabolic control and the other parameters investigated in this study. From those diabetic children with established diabetes status, 23% (n=7) children were considered uncontrolled. The mean

duration of disease was 1.29 ± 1.1 and 1.77 ± 1.01 years for those controlled and uncontrolled, respectively. Age at diagnosis was 2.55 ± 1.12 years old for those controlled and 1.78 ± 1.06 years old for the uncontrolled ones. The vast majority had insulin regimen ranging from 3-5 shots a day. Furthermore, diabetes status control showed some influence on the oral status of these children, as seen in Table 2, which shows the diabetes-related variables between the diabetic children.

Table 2: Sample characteristics of DG regarding to metabolic control and the main variables which differed between controlled (HbA1C<8.5%) and uncontrolled (HbA1C>8.5%) diabetics.

	Controlled - DG (n=24)	Uncontrolled - DG (n=7)
Metabolic control*	67%	25%
Cappillary blood Glucose*	186±84.02mg/dl	280±115.45mg/dl
Hb1Ac* (%)	7.27±0.94%	9.48±0.64%
Duration of disease (years)	1.29±1.1	1.77±1.01
Age at diagnosis (years old)*	2.55±1.12	1,78±1,06
Geographic tongue (%)*	29.2	57.1
Breath acetone (%)*	41.7	71.4
Xerostomia (%)*	45.8	71.4
Regular sugar consumption (%)*	79.2	100
Caries-free children (%)*	62.5	85.7
Dental visits (%)*	33.3	0%
Perform oral hygiene (%)*	91.7	57.1
Note: * means $p<0.05$		

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this is the first study to assess dietary and hygiene habits, dental care experience and oral health perception related to oral status and diabetes status control in diabetic children under six years old. Our data showed low dental caries prevalence among diabetic children in comparison to healthy children, which in literature we observed controversial findings. High caries levels in diabetic children were associated with age, plaque scores and decreased salivary flow rate, but were not associated with

the level of metabolic control of diabetes^{14,15}. On the other hand, Tagelsir *et al.* (2011) compared a group of 52 diabetic children aged 3- to 16-year-old to a group of matched healthy controls and reported that there were no significant differences among caries level. A epidemiologic study (SB-BRASIL, 2010) with children aged 5 years in 2010 from Rio de Janeiro showed similar levels³³ (dmft: 1.14/ 77% caries-free) to the diabetic ones of our study (dmft: 1.38/64% caries-free), demonstrating that the diabetic children are not more susceptible to caries at this age. Reported xerostomia and breath acetone differed between the groups, as well as dietary and hygiene habits and dental care access differed.

In this study, uncontrolled children aged under 6 years old were 23% of the total number of diabetics enrolled, which is in accordance with previous studies^{5,6,33}. A total of 54% poor controlled diabetic children aged of 6 to 12 years old was observed by El-Tekeya *et al.* (2012), which is confirmatory to studies with older children and adolescents¹³⁻¹⁵. Thus, age plays a role on glycemic control of children with DM1, because the youngest children receive full time mother's care in comparison with the older ones. Moreover adolescents are the ones who experience poor metabolic control more frequently²⁸.

Association of increased level of HbA1c with presence of halitosis has been described¹¹. Some authors have suggested breath acetone as a biomarker of poor metabolic control in DM1^{11,12}, since ketonic bodies are increased in uncontrolled patients. Our study corroborates with the literature, as breath acetone and xerostomia were significant increased in uncontrolled children.

Our data showed that geographic tongue, also known as benign migratory glossitis, was the most prevalent oral manifestation among diabetic and this condition has previously been associated with DM1 patients²⁰. Prevalence of geographic tongue was higher among diabetic patients, but etiopathogenesis remains unknown. Greater prevalence of fungi has been described in patients with geographic tongue, especially those who do not brush the surface of the tongue^{21,22}. As in our study we did not perform fungi count, we suggest that more studies should be performed to understand better the oral

condition of diabetic children, in order to prevent the complications related to the disease, such as burning sensation, xerostomia and mainly periodontal disease in later age.

Regarding diabetes control, there was no difference among caries level but there were significant differences when related low dental attendance among the diabetics and associated with high level of untreated decayed teeth which corroborated with previous studies^{13, 24-26}, showing that oral health is still a neglected area in diabetes care. We also observed that uncontrolled children had more geographic tongue, xerostomia and breath acetone than those with controlled, showing that deficient diabetes control is linked to deficient oral health.

In our study, low attendance to dental care was observed. Although, most of DG guardians affirmed that they used to perform the oral hygiene of the children and many of them had been already instructed of oral hygiene, information about oral hygiene comes from the medical staff and not from dental professionals. So, referral to dental care should be emphasized between physicians, as well as, ask their patients about their oral health problems. The present findings corroborate to Dale *et al.* (2014), who also reported that the medical doctors are the first health professionals to warn the diabetic population about the importance of oral health. Thus, it is crucial that physicians have knowledge about the importance of oral health and its relationship with general health. On the other hand, dental professionals should be able to recognize signs and symptoms and feel comfortable to treat diabetic patients, since there is a global burden of diabetes and, nowadays, it is more common to receive patients with such systemic conditions in the dental office.

About referral to a dentist, some guardians answered they were already requested to do it by their medical doctors. From those who were referred, most of guardians took their children to visit a dentist, showing how influent the physicians are related to behavior of the parents/guardians. However, even with the recommendations and referrals performed to the diabetic patients and their families, and these patients being inserted into a reference center, the most

children have never been to a dentist. Consequently, the level of untreated dental decay among the diabetic children was higher between those children who never have been to the dentist, reflecting the lower dental treatment, corroborating with Tagelsir *et al.* (2011). It must be highlighted that, from those diabetic children who had already been submitted to dental treatment, toothache was the main reason.

A limitation of this study was that there were few uncontrolled diabetic children. Anyway, a good metabolic control at DG reflects how important is the medical care offered to these children and how good is the diabetes care since their recruitment was from a specialized medical ambulatory, a reference Center for pediatric diabetes management in the city of Rio de Janeiro, Brazil and also due to their age and full time parental care. Another limitation would be the recruitment of healthy children from a dental clinic, since the most of them were in need of and searching for dental treatment. The high level of dental caries among healthy children showed to be significant different from the diabetic ones. Blind longitudinal studies should be performed in the future in order to elucidate the presence of oral manifestation in children with DM1.

In terms of dental care, oral examination is one of the steps of the initial diabetes visit for children and adolescents that is recommended by the American Diabetes Association¹. Taken together, our data suggest that prevention, early treatment of oral manifestations and healthy dietary and hygiene habits in young patients with diabetes should be considered as a standard in routine of these children, as well as continuing dental care visits, in order to promote health and avoid future complications related to diabetes. Moreover, scientific evidence suggests that treatment of periodontal infections has a good effect on glycemic control in adults with diabetes⁷⁻⁹. This may be important to create healthy habits since childhood, because adolescents are known as a difficult population to manage the metabolic control related to diabetes²⁸.

In conclusion, the oral health of diabetic children differed from healthy ones regarding breath acetone and geographic tongue, dental caries, dietary

habits and dental care experience but not regarding to hygiene habits, plaque and calculus. Diabetes status may influence the oral condition of the diabetic children, since all assessed parameters also differed between these children.

ACKNOWLEDGMENTS The authors acknowledge the children and their guardians enrolled in this study, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, Brazil) for the financial support.

REFERENCES

- 1 ADA - American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2014. **Diabetes Care** Volume 37, Supplement 1, January 2014.
- 2 ISPAD - International Society For Pediatric And Adolescent Diabetes. Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. **Pediatric Diabetes** 2014: 15(Suppl. 20).
- 3 Gale, E. The rise of childhood type 1 diabetes in 20th century. **Diabetes**, vol. 24- 51, December 2002.
- 4 Consensus Committee: Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement: the American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. **Diabetes Care** 30:2399–2400, 2007.
- 5 Lalla E, Cheng B, Lal S, *et al.* Diabetes mellitus promotes periodontal destruction in children. **J Clin Periodontol** 2007;34(4):294-298.
- 6 Lalla E, Cheng B, Lal S, *et al.* Diabetes-related parameters and periodontal conditions in children. **J Periodontal Res** 2007;42(4):345-349
- 7 Vergnes JN. Treating periodontal disease may improve metabolic control in diabetics. **Evid Based Dent.** 2010;11(3):73-4.
- 8 Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, *et al.* Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. **Diabetologia** (2012) 55:21–31.
- 9 Lalla E, Papapanou PN Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. **Nat Rev Endocrinol** (2011) 7:738–748.

- 10 Moore PA *et al.* Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2001 Sep;92(3):281-91.
- 11 Al-Zahrani MS *et al.* Self reported halitosis in relation to glycated hemoglobin level in diabetic patients. **Open Dent J.** 2011;5:154-7.
- 12 Qiao Y *et al.* Breath ketone testing: a new biomarker for diagnosis and therapeutic monitoring of diabetic ketosis. **Biomed Res Int.** 2014:869186.
- 13 Tagelsir A *et al.* Dental caries and dental care level (restorative index) in children with diabetes mellitus type 1. **Int J Paediatr Dent.** 2011 Jan;21(1):13-22.
- 14 Siudikiene *et al.* Dietary and oral hygiene habits in children with type I diabetes mellitus related to dental caries. **Stomatologia.** 2005;7(2):58-62.
- 15 Karjalainen KM *et al.* Relationship between caries and level of metabolic balance in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. **Caries Res.** 1997;31(1):13-18.
- 16 El-Tekeya M *et al.* Caries risk indicators in children with type 1 diabetes mellitus in relation to metabolic control. **Pediatr Dent.** 2012 Nov-Dec;34(7):510-6.
- 17 Twetman S *et al.* Caries incidence in young type 1 diabetes mellitus patients in relation to metabolic control and caries-associated risk factors. **Caries Res.** 2002 Jan-Feb;36(1):31-529.
- 18 Bassir L *et al.* Relationship between dietary patterns and dental health in type I diabetic children compared with healthy controls. **Iran Red Crescent Med J.** 2014 Jan;16(1):e9684
- 19 Lalla,Evanthia and Ira B. Lamster Shantanu Lal Accelerated Tooth Eruption in Children With Diabetes Mellitus. **Pediatrics** 2008;121:e1139.
- 20 Wysocki GP, Daley TD. Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** 1987 Jan;63(1):68-70.
- 21 Saini R, Al-Maweri SA, Saini D, Ismail NM, Ismail AR. Oral mucosal lesions in non oral habit diabetic patients and association of diabetes mellitus with oral precancerous lesions. **Diabetes Res Clin Pract.** 2010 Sep;89(3):320-6
- 22 Dudko A, Kurnatowska AJ, Kurnatowski P. Prevalence of fungi in cases of geographical and fissured tongue. **Ann Parasitol.** 2013;59(3):113-7.

- 23 Negrato CA, Tarzia O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetol Metab Syndr.** 2010 Jan 15;2:3.
- 24 Merchant AT, Oranbandid S, Jethwani M, Choi YH, Morrato EH, Pitiphat W, Mayer-Davis EJ. Oral care practices and A1c among youth with type 1 and type 2 diabetes. **J Periodontol.** 2012 Jul;83(7):856-63.
- 25 Lindenmeyer A, Bowyer V, Roscoe J, *et al.* Oral health awareness and care preferences in patients with diabetes: a qualitative study. **Fam Pract** (2013) 30:113–118.
- 26 Dale J, Lindenmeyer A, Lynch E, Sutcliffe P. Oral health: a neglected area of routine diabetes care? **British Journal of General Practices.** 2014 Feb;64(619):103-4.
- 27 Busato IM *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 Mar;109(3):e51-6.
- 28 The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. **J Pediatr** 1994; 125:177-188.
- 29 World Medical Association. **WMA Declaration of Helsinki** – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.
- 30 World Health Organization. 4th ed. Geneva: WHO; 1997. **Oral Health Surveys Basic Methods**; pp. 760–871.
- 31 O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. **J Periodontol.** 1972 Jan;43(1):38.
- 32 Gamzen Aren *ET AL.* Periodontal Health, Salivary Status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. **J periodontol.** December 2003.
- 33 BRASIL. Pesquisa Nacional sobre Saúde Bucal – **SB-BRASIL 2010.** Ministério da Saúde, Brasil.

4.2 Artigo 2- *Relação do Perfil Salivar com a Condição de Saúde Bucal e Diabetes em Crianças Jovens*

Salivary Profile Related to Diabetes and Oral Health Status in Young Children

Livia Roberta Piedade de **OLIVEIRA**^a

Carla **MARTINS**^a

Rafaela de Oliveira **TORRES**^a

Aline Laignier **SOARES**^a

Liana Bastos **FREITAS –FERNANDES**^a

Tatiana Kelly da Silva **FIDALGO**^a

Fábio **ALMEIDA**^b

Ana Paula **VALENTE**^b

Ivete Pomarico Ribeiro de **SOUZA**^a

^aDepartment of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

^b National Center for Nuclear Magnetic Resonance – Jiri Jonas, Medical Biochemistry Institute, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.

Corresponding Author – Dr Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Caixa Postal: 68066 – Cidade Universitária – CCS

CEP: 21941-971 - Rio de Janeiro – RJ –Brazil

E-mail: pomarico@gmail.com Fax/phone: +552139382101

ABSTRACT

This study aimed to compare the salivary profile and oral health status of young children with type 1 diabetes related to diabetes status to healthy ones. A total of 34 diabetic (DG) and 34 healthy (HG) children were included. Diabetes status data were obtained from medical records and the parents were requested to answer about oral health perception. Oral examination was performed to assess dental caries (dmft) and oral manifestations. Unstimulated whole saliva was collected in order to determine concentrations of glucose, calcium and total protein using colorimetric assays. Salivary profile using $^1\text{H-NMR}$ (Nuclear Magnetic Resonance) through ZGESGP-CPMG pulse sequence was performed. Data were analyzed using SPSS 20.0 software through Chi-square test and Student's T test ($p < 0.5$). Partial Least Squared discriminant analysis (PLSDA) was applied on NMR data using AMIX software. Oral findings showed that DG presented more geographic tongue than HG, as well as lower dmft. Besides that, reported breath acetone and xerostomia were significantly different between them and also between controlled and uncontrolled DG ($p < 0.05$). The PLS-DA comparison between uncontrolled DG and HG demonstrated a separation between the groups. NMR data showed higher salivary concentrations of lactate, n-acetyl-sugar, acetate and sugar regions among diabetics. Salivary concentrations of glucose ($p = 0.01$), calcium and total protein were increased within DG. Salivary glucose was higher ($p < 0.05$) in uncontrolled DG than in healthy ones. Our study showed that salivary profile of DG differed from the HG and diabetes status control plays an important role in the salivary composition.

Keywords: Type 1 Diabetes Mellitus, saliva, children, metabolomics, NMR.

INTRODUCTION

Diabetes Mellitus Type 1 (DM1) is considered one of the most common endocrine-metabolic disorders of childhood and its incidence is increasing in children under five years old¹. Oral complications in diabetic patients have been attributed to diminished flow of saliva resulting from systemic dehydration, abnormalities in salivary glands and an increase in the salivary glucose level²⁻⁴. However, there is no consensus if diabetic subjects are more susceptible to dental caries due to the increased salivary glucose⁵⁻⁸. Besides that, mineral ions content of plaque and saliva in relation to diabetes and also to dental caries have been investigated. Higher concentrations of calcium⁹⁻¹¹, higher content of total protein⁴ and lower of potassium, zinc and magnesium have been observed in diabetic patients, as well as, lower pH and buffer capacity⁹⁻¹¹, but the role of salivary composition has not been fully studied.

Blood glucose levels under control are important to monitor the disease and HbA1c is gold standard to determine diabetes status of diabetic patients. Salivary glucose is increased in diabetics, as well as most compounds found in blood are also present in saliva^{3,12-14}. Since this biofluid presents many advantages, such as, easy-to-use, accurate and painless; saliva facilitates early diagnostics using portable platforms methods as biochemical assays to monitor disorders and body conditions^{12,15,16}.

The advances of the “omic” sciences in biological systems, such as proteomics and genomics, makes metabolomics a potential diagnostic tool for metabolic classification of human conditions, healthy or diseased¹⁷⁻²⁰. Considering that metabolomics is a comprehensive assessment of endogenous metabolites and attempts to systematically identify and quantify metabolites from a biological sample, the association of Nuclear Magnetic Resonance and salivary samples consist on a valuable methodology for the identification of possible diseases biomarkers^{17,21}. Salivary ketonic bodies (α -hydroxybutyrate) and glucose metabolites (1,5-anhydroglucitol) have been associated to diabetes in adults^{22,23}. Salivary low molecular weight metabolites profile may play an important role in the systemic condition and requires to be understood in

children with diabetes, since other biofluids such as urine and plasma have shown altered metabolites in diabetic children²⁴⁻²⁷.

Furthermore, little is known concerning the relationship between diabetes and salivary biochemical parameters and the effect of these changes on oral health, especially in children. Thus, the aim of this study was to determine the salivary profile of young children with DM1 related to their oral health status and their diabetes status control.

MATERIALS AND METHODS

Study population

This cross-sectional clinical study enrolled pediatric male and female subjects from the metropolitan Rio de Janeiro area and was conducted in accordance with the Helsinki Declaration⁶². The Institutional Review Board Ethical Committee at the Federal University of Rio de Janeiro approved the protocol, including the clinical examination and collection of saliva samples. All subjects' parents/legal guardians read and signed a written informed consent before their children enrollment into the study. The inclusion criteria were: age between 06 months and 6 years only with primary dentition, subjects diagnosed with type 1 diabetes mellitus (DM1) and gender-aged matched children with good general health. Exclusion criteria included: inability or unwillingness to sign the informed consent form, diagnosis of a medical condition which required medication and a history of uncharacterized systemic disease, immune compromised individuals, bleeding oral lesions and antibiotic intake 3 months prior to saliva collection.

Children were divided in diabetic group (DG), which was constituted by type 1 diabetic children in treatment at the Diabetes Ambulatory of the Pediatric Hospital from Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil) and healthy group (HG), which consisted of children from the Dental Clinic of Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics at UFRJ. Recruitment occurred from June, 2013 to June, 2014. Regarding diabetes

control, children were divided between controlled (Hb1Ac<8.5%) and uncontrolled (Hb1Ac>8.5%).

DATA COLLECTION

Clinical examination

Oral Mucosa Lesions: A complete intraoral soft-tissue examination was performed by a single pediatric dentist (Oliveira, LRP) with a dental mirror and gauze square. An assistant recorded all the information. The diagnosis of any oral soft tissue condition was established based on onset, duration, oral habits, clinical appearance, history of trauma and previous episodes. The locations and descriptions of the lesions were also recorded and photographed.

Dental caries experience: The condition of each surface was recorded using the decayed, missing, filled index (dmf-t). The diagnosis criteria followed those proposed by WHO (1997).

Oral Health Perception

The parents/legal guardians were requested to provide information about oral health perception (dry mouth sensation and breath acetone). The subjective experience of xerostomia was related by the question: "Has your child ever had dry mouth before?/ Have you ever noticed dry mouth in your child?/ Has your child ever claimed of dry mouth before?"²⁹. The experience of breath acetone was measured through the following questions: "Have you ever noticed a sweet, fruity smelling breath in your child?" and "how often does your child have bad breath?"³⁰.

Diabetes – related variables

In order to assess the diabetic status of the patient, medical data related to DM1 was obtained from the medical records, such as: 1. duration of disease (years since diagnosis); 2. the child age at the moment of diagnosis of DM1; 3. history of complications associated to diabetes; 4. insulin regimen (multiple daily insulin injections or continuous subcutaneous insulin infusion) and 5. the most

recent value of glycosylated hemoglobin (HbA1c), not exceeding 3 months, whereby Hb1Ac<8.5% was considered controlled and >8.5% uncontrolled. The capillary glucose value was recorded before saliva collection and it was measured by each parent/legal guardian, at the moment of examination, with their respective usual glucometer, whereby <200mg/dl was considered to be low glycemic level and >200mg/dl high glycemic level.

Saliva collection

Subjects were requested to refrain from eating or drinking 1 hour before the dental appointment (excluding water), as well as not to brush their teeth and entire mouth for the same time before the saliva donation. The saliva sampling instrument was Salivette® (Sarstaedt, Germany). Each 30 seconds, Salivette® was placed and then removed from child's oral cavity and pressed inside a needleless syringe to extract saliva directly to the *eppendorf* sterile polypropylene tubes, until the volume of 1mL unstimulated saliva was reached³¹. Each sample was identified with a code of the respective patient. Immediately after that, the sample was stored in ice and thermal box and then at -80 °C until analysis. Prior to the analysis, saliva samples were thawed and centrifuged at 12,000 g for 1 hour at 4°C (Cientec, CT – 15 000R, Brazil). No preservatives were added to the saliva samples.

BIOCHEMICAL PARAMETERS

Glucose Concentration

Salivary glucose level, expressed as mg/dl, was determined by using glucose oxidase-peroxidase (GOD-POD) method through a salivary glucose assay (BIOCLIN® kits, Belo Horizonte-MG/Brazil) in spectrophotometer (UV-VIS BECKHAM DU 640) at 500 nm, following manufacture's recommendations³².

Calcium Concentration

In order to determine salivary calcium concentration, expressed as mM, a calcium assay kit was used (QuantiChrom™ Calcium Assay Kit – DICA500, BioAssay Systems, Medibena Life Science and Diagnostic Solutions, Austria) in

spectrophotometer (UV-VIS BECKHAM DU 640) at 612 nm following manufacture's recommendations³³.

Total Protein

Total protein concentration expressed as mg/ml was determined using established colorimetric methods with the use of Helios spectrophotometer by reading double samples at 595 nm at spectrophotometer (Beckman Coulter Inc., Brea CA, USA). Bovine serum albumin was used for calibration purposes following Bradford method³³.

METABOLITE PROFILING THROUGH NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (NMR)

For NMR analysis, 300 μ L of salivary sample were mixed with 300 μ L of sodium fosfate buffer (pH = 7.0) and added to 60 μ L of deuterated water (D_2O ; Cambridge Isotope Laboratories inc., USA) and 10 μ L of dodecil sulfate sodium 4,4-dimetil-4-silapentane-1-sulfonic a 20 mM (DSS; Sigma-Aldrich, Milwaukee, USA). In this experiment, D_2O was used to serve as reference to the magnetic Field alignment with the sample (lock) and the DSS to the H chemical, $\delta = 0.00$ ppm.

The spectra were obtained through spectrometer NMR 500 MHz (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany) at 25° C. We used pulse sequence ZGESGP for aquisition 1D spectrum with water supression using excitation sculpting with gradients and CPMG filter following recommendations by Hwang & Shaka (1995) with 1024 scans. For 2D experiment, the 1H - 1H -TOCSY technique with acquisition parameters of 256 X 2048 points was performed in order to confirm signatures and assessment of ambiguities.

Data and statistical analysis

Children's data, such as demographic data, diabetes related variables and oral clinical findings were described and analyzed through SPSS 20.0 software (IBM, Chigago, USA). First, cases and controls were compared and then, controlled and uncontrolled diabetic children were compared regarding to

their diabetes status using unadjusted Fischer's exact test and two independent samples T test. The absolute and relative frequencies, besides mean and standard deviation were described. A p value of <0.05 was considered statistically significant. Salivary assay biochemical parameters (concentrations of glucose, calcium and total protein) were also tabulated to SPSS 20.0 software (IBM, Chigago, USA) and frequencies, besides mean and standard deviation were described, as well as, the samples distribution were shown in graphics. Values from Hb1Ac and Capillary glycemia were correlated with Salivary Glucose concentrations using Paired T Student test and $p<0.05$ was considered statistically significant.

The NMR data were analyzed on the statistical software AMIX (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany). After spectra acquisition, edge effects were evaluated by overlaying all spectra using Topspin® (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany). The spectra that could not be corrected for phase and baseline were excluded from the analysis. Resonance assignments were made based on the Human Metabolome database (<http://www.hmdb.ca/>), confirmed using TOCSY experiments. Each NMR spectrum was analyzed by integrating bucket size regions of 0.04 ppm without the water region (5.00 – 4.50 ppm). The regions 6.54-5.66, 3.78-3.34 and 1.26-0.86 were also excluded due to edge effect. The datasets was stored in a matrix E, with the rows representing the saliva samples from subjects and the columns the chemical shifts (157 buckets). The PLS-DA was performed using the initial input variables of each group that was stored in the y-table with 2 columns (0 and 1).

RESULTS

Oral findings assessment

A total of 68 children participated of this study, including 34 children with DM1 (DG) and 34 healthy ones (HG) aged 4 ± 1.25 years old. Half of each group was female ($n=17$). Table 1 shows the characterization of the study subjects, comparing DG and HG and also the controlled and uncontrolled diabetic children related to the HbA1C levels. Mean age of controlled children was

4.04±1.14 years old and 15% were female, while among uncontrolled mean age was 3.25±1.38 years old and 85% were female.

The most significant oral findings were geographic tongue (35.3%), reported breath acetone (47.1%) and xerostomia (52.9%) among children from DG. The mean duration of disease was 1.29±1.1 and 1.77±1.01 years for the controlled and uncontrolled diabetic patient, respectively. Age at diagnosis was 2.55±1.12 years old for those who were controlled and 1.78±1.06 years old for those uncontrolled. The vast majority had insulin regimen ranging from 3-5 shots a day. Only one patient had an insulin pump. Three children were recently diagnosed with type 1 diabetes and since they had no Hb1Ac data, they were not included in the analysis between controlled and uncontrolled.

Table 1. Characterization of study participants.

	DG n= 34	HG n=34	<i>P</i> value	Controlled - DG n=24	Uncontrolled - DG n=7	<i>p</i> value
Caries-free children (%)	64.7	31.3%	0.001	62.5	85.7	0.05
dmf-t index	1.38±0.461	5.30±0.945	0.05	1.61±2.99	0.38±1.06	0.19
Presence of oral manifestation (%)	35.3	9%	0.001	29.2	57.1	0.001
Reported breathe acetone (%)	47.1	0%	0.001	41.7	71.4	0.001
Reported xerostomia (%)	52.9	0%	0.001	45.8	71.4	0.001
Hb1AC	7.78±1.29	--	--	7.23±0.95	9.37±0.67	0.05
Capillary glucose level (mg/dl)	203.16±98.73	--	--	178±75.995	293±110.45	0.05

Salivary Biochemical Parameters

Figures 1A and 1B show the positive correlation between salivary glucose values to capillary glucose and Hb1Ac values, respectively ($p < 0.05$). The mean concentrations of salivary glucose was 3,92 ± 2,74 mg/dl and 2,36 ± 1,47 mg/dl for DG and HG, respectively; salivary calcium was 5,22 ± 2,17 mM and 4,53 ± 2,08 mM for DG and HG, respectively ; salivary total protein was

3,44± 2,17mg/ml and 3,63 ± 3,61 mg/ml for DG and HG, respectively. Samples distribution of salivary parameters from both diabetic and healthy children are presented in figures 2A (glucose), 2B (calcium) and 2C (total protein). Great discrepancies were observed among diabetic children compared to healthy ones in relation to glucose concentration, since only the diabetic presented values higher than 6mg/dl. Calcium concentration showed a regular distribution in both groups but there were more diabetic children with high level of this mineral and the healthy children who presented high level were the ones aged less than 3 years old. Regarding to protein concentration, healthy children with $\text{ceo} > 1$ presented the higher levels, but the general distribution of both groups was similar. Figures 3A, 3B and 3C show the same parameters between controlled and uncontrolled diabetic children. Greater discrepancies were observed among the uncontrolled children in relation to salivary glucose and calcium concentrations, but not total protein. Regarding to glucose concentration, there was a separation between the subgroups, so only the uncontrolled presented higher levels of glucose comparing to the controlled, who were similar with the HG. The majority of the uncontrolled had higher levels of salivary calcium concentration and both uncontrolled and controlled presented the same pattern in relation to total protein concentration. Associations between oral findings of DG (geographic tongue, breath acetone, xerostomia and dental caries) and salivary parameters (concentrations of salivary glucose, calcium and total protein) showed strong association between xerostomia and salivary glucose, since children with no xerostomia showed to have lower glucose concentration levels. Association between xerostomia and total protein content and also between salivary glucose and dental caries were observed, according to the samples distribution analysis among diabetic children who presented or not these oral findings.

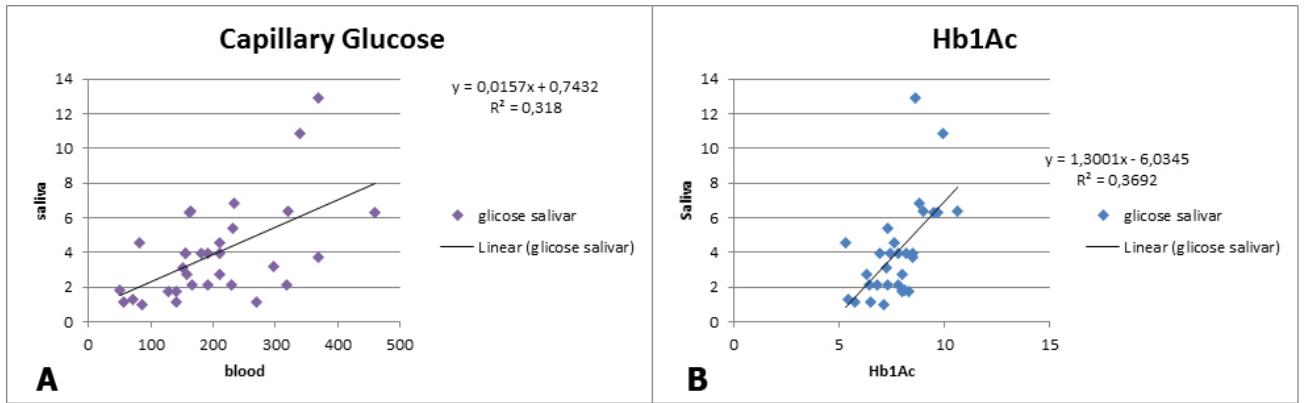


Figure 1- A- Correlation between salivary glucose and capillary glycemia values. B – Correlation between salivary glucose and Hb1Ac values.

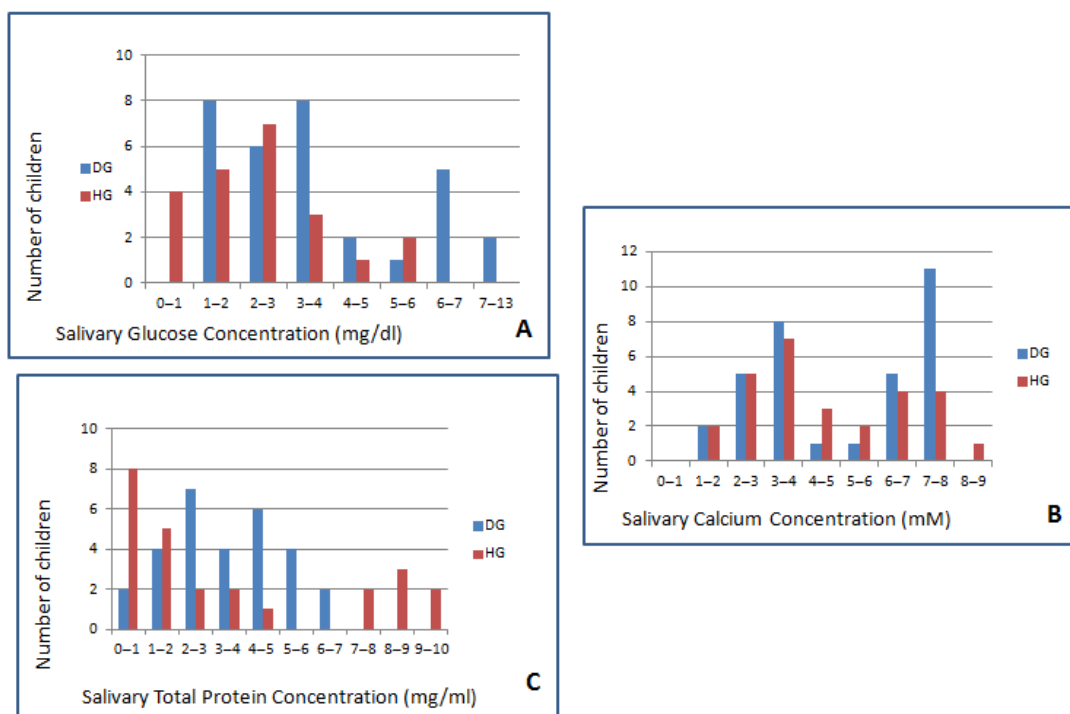


Figure 2 - A – Number of children and their salivary glucose concentration distribution, comparing DG (blue) and HG (red). B- Number of children and their salivary calcium concentration distribution comparing DG (blue) and HG (red). C- Number of children and their salivary total protein concentration distribution comparing DG (blue) and HG (red).

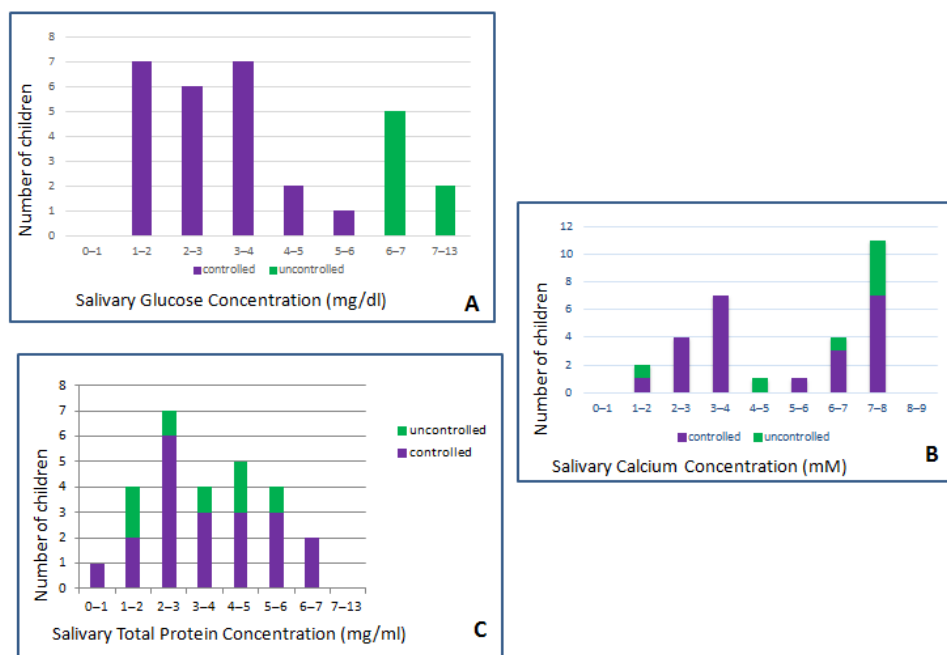


Figure 3- A- Number of diabetic children and their salivary glucose concentration distribution, comparing controlled (purple) and uncontrolled (green). B- Number of diabetic children and their salivary calcium concentration distribution comparing controlled (purple) and uncontrolled (green). C- Number of diabetic children and their salivary total protein concentration distribution comparing controlled (purple) and uncontrolled (green).

NMR data

Figure 4 shows the representative NMR spectra of salivary samples from uncontrolled (A), controlled (B) and healthy (C) children enrolled in this study. We were able to observe differences between each spectrum. Figure 5A shows through the PLS-DA analysis a tendency of salivary profile separation between the salivary samples from healthy and controlled diabetic children. In figure 5B, the PLS-DA demonstrated a clearer distinction of salivary profile from healthy and uncontrolled diabetic children. Figure 5A presented 55.6% of total variation (CP1 = 32.47% e CP2 = 23.18%), while Figure 5B presented 56.56% of total variation (CP1 = 33.38% e CP2 = 21.07%).

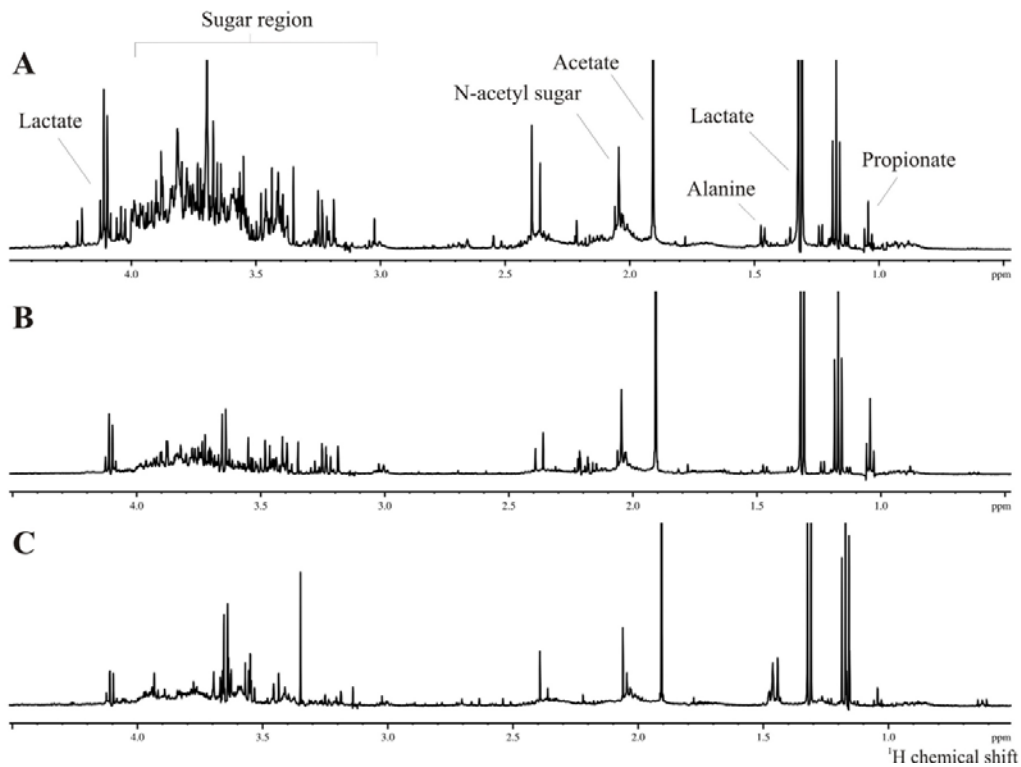


Figure 4: $^1\text{H-NMR}$ Representative spectra of total saliva from uncontrolled diabetic children (A), controlled (B) and healthy children (C).

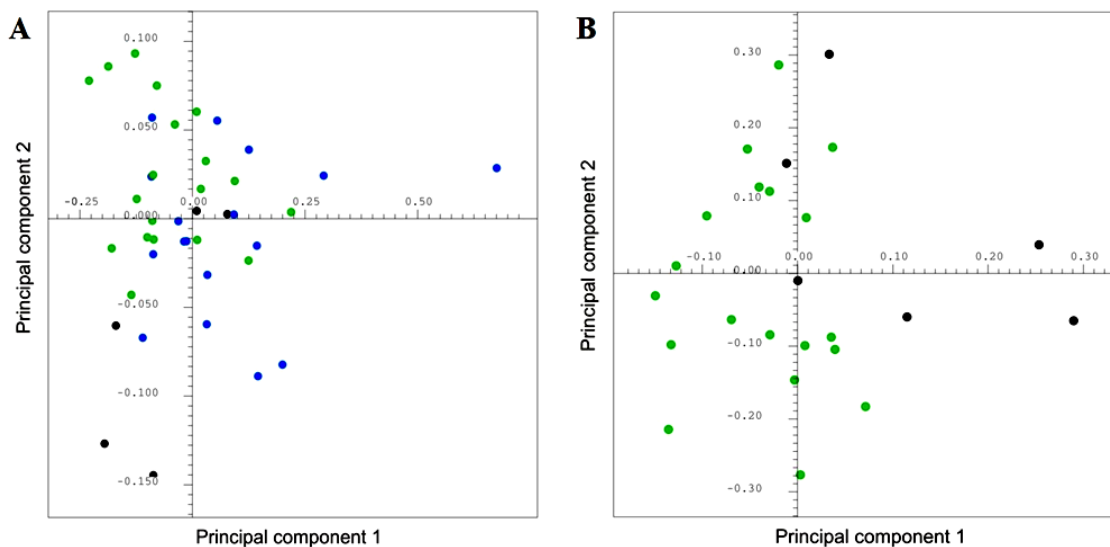


Figure 5: A- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green), controlled diabetic (blue) and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac (black). B- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green) and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac (black).

Figure 6A shows the most important metabolites responsible for the distinction among the three groups. In addition, the as farther they were from the x and y axes intercession, greater the importance of metabolites for distinction among the groups. Figure 6B refers to the loading factors for

distinction among healthy and uncontrolled diabetic children. Although PLS-DA of two groups (Figure 5B) present the clearest salivary profile distinction in comparison the PLS-DA of three groups (Figure 5A), the same compounds were responsible for the difference between the groups (Figure 6A and 6B). The metabolites which contributed mostly for the distinction between the groups were acetate, n-acetyl-sugar, lactate and sugar region. The same analysis was performed using the capillary glycemia values from the moment of saliva collection, which in our study, n=17 children presented to be with high levels of glycemia, since values were above 200mg/dl. Figure 7A shows the PLS-DA of salivary samples grouping from healthy children and diabetic children with high capillary glyceimic levels. Figure 7B refers to the loading factors comparing healthy and diabetic children with low capillary glyceimic levels (>200mg/dl).

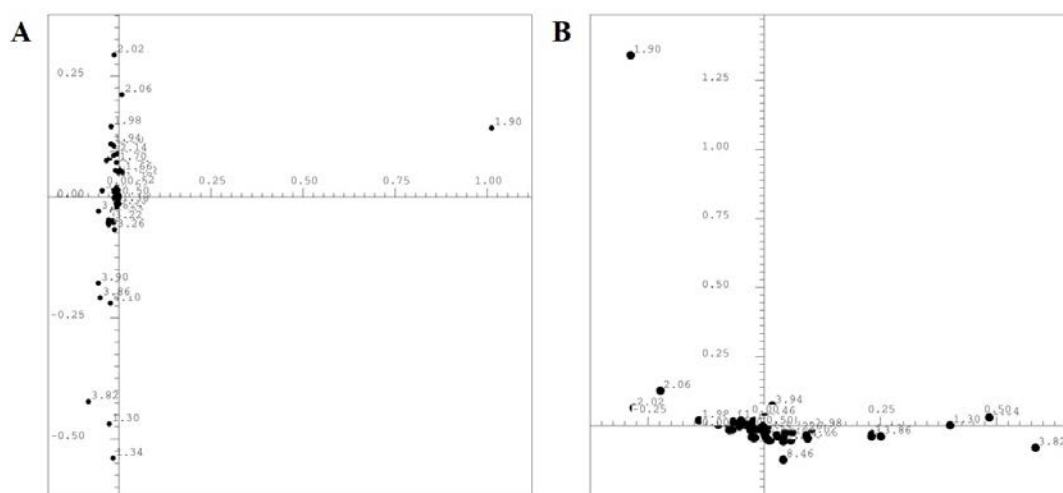


Figure 6: A- Loading factor comparing healthy, controlled and uncontrolled diabetic children; B- Loading factor comparing healthy and uncontrolled diabetic children related to Hb1Ac.

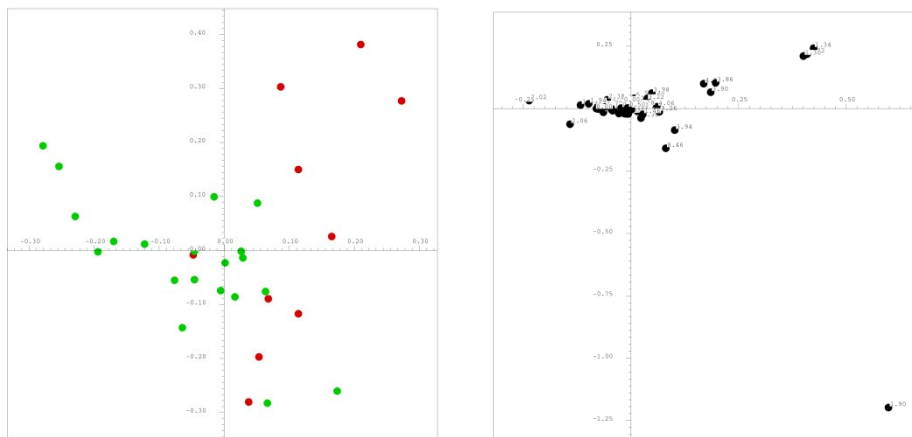


Figure 7: A- PLS-DA shows salivary samples grouping of total saliva from healthy children (green) and diabetic children with high capillary glycemic levels (>200mg/dl) (red). B- Loading factor comparing healthy and diabetic children with low capillary glycemic levels (>200mg/dl).

DISCUSSION

Salivary composition is mainly water, salts and an abundance of molecules that come from blood with a large array of proteins³¹ and it has been pointed out as a promising biofluid to detect local and systemic disorders³⁵⁻³⁸. To the best of our knowledge, this is the first study to assess salivary components of diabetic children under six years old, associating biochemical assays to oral health related to diabetes control, as well as metabolite profiling.

Saliva of diabetic children differed in some aspects of healthy ones. Glucose was detected in the saliva of healthy and diabetic subjects, which was in confirmatory with some studies^{39,40}. However, salivary glucose levels were significantly higher in uncontrolled diabetic subjects and controlled diabetic subjects than in healthy subjects, which was in accordance with previous studies^{41,42}. Salivary glands act as filters of blood glucose that are altered by hormonal or neural regulation. Persistent hyperglycemia leads to microvascular changes in the blood vessels, as well as basement membrane alteration in the salivary glands. This leads to increased leakage of glucose from the ductal cells of the salivary gland, thereby increasing the glucose content in saliva^{43,44}. Thus, salivary glucose is not directly influenced by glycemia and its level is affected by confounding factors like degree of metabolic control and extent of salivary gland

damage suggesting a doubtful linear relationship between blood and salivary glucose^{44,45}. We observed a positive correlation between salivary and capillary glucose in the overall diabetic patients, corroborating with Karjailanen *et al.* (2002) and Abikshyeet *et al.* (2012). In disagreement with report of ours, Ben-Aryeh *et al.* (1993) and Vasconcelos *et al.* (2009) did not observe correlation between the level of capillary blood glycemia and concentration of salivary glucose, probably due to good metabolic control and few number of study participants.

High salivary glucose levels might, however, be connected with an increase of microbial colonization, as also indicated by Darwazeh *et al.* (1991), who pointed out that subjects with yeasts in the mouth had higher salivary glucose levels than diabetic patients without yeasts. However, in our study, children who presented this oral mucosal lesion showed no difference in glucose concentration compared to those who not presented geographic tongue, which is defined as a benign disorder and *Candida albicans* was already reported to be the most frequent yeast detected⁴⁸.

Calcium in saliva acts as chief mineral to prevent dissolution of teeth via its solubility constant and continuous supply to affected areas of teeth^{5,49}. Positive correlations between high salivary calcium content and the number of intact teeth in selected groups of subjects have been demonstrated^{50,51}. Since there is already an established relationship between periodontal disease and diabetes and even reports with children^{52,53}, but it is still unclear between dental caries and diabetes in patients of all ages, salivary calcium concentration levels may play an important role and in the literature controversial findings are described. Some authors^{9,11} found higher levels of salivary calcium and associated with low caries prevalence, corroborating with our study. On the other hand, lower calcium levels and high caries prevalence were found by several studies^{8,41,43,54} and clarified that optimum level of salivary calcium would be responsible for continuous supply of calcium to arrest the demineralization and influence the reduction of occurrence of dental caries. Low caries prevalence among type 1 diabetic subjects was also found by Amaral *et al.*

(2006), who suggested that diabetics are less prone to caries than healthy due to restricted sucrose consumption.

Some of these authors linked not just calcium, but other altered ions concentrations to a marked dysfunction of the secretory capacity of the salivary glands, which would be responsible for the increased susceptibility to oral infections and impaired wound healing^{4,9}. Siudikiene *et al.* (2006) reported that diabetics had fewer caries and plaque, lower salivary flow rates and buffer activity and more frequent growth of yeasts than healthy controls. In our study, it was not performed any microorganism count, but geographic tongue showed to be the oral finding most prevalent between the diabetics. Furthermore, saliva of children who presented this oral lesion showed no association with the studied salivary parameters, but differences could be observed when we associated these salivary parameters to oral reported breath acetone (increased acetate), xerostomia (higher glucose concentration levels) and absence of dental caries among uncontrolled diabetic patients (increased levels of calcium). Nevertheless, an appropriate evaluation of salivary clinical parameters should be emphasized to the dental practitioners when assisting diabetic children as indicated by Moreira *et al.* (2009).

Increase in total protein content has been described in saliva of diabetic adult subjects^{4,56}. Patients with diabetes are more prone to develop infections, due to the altered salivary protein content, since proinflammatory mediators are more concentrated compared to healthy subjects, which is a predisposing factor for impairment healing^{4,56}. In this study, we observed no difference in salivary total protein of diabetics compared to healthy and HbA1c values appear not to be associated in this field, since there was also no difference between controlled and uncontrolled diabetic children. No difference in salivary total protein content between diabetic and healthy patients has also been described in the literature^{40,41}.

Concerning metabolite profiling, the recognition of the need of a holistic approach on understand metabolism, led to the application of saliva metabolomics for biomarker detection⁵⁷. Nevertheless, validation of biomarkers

related to oral and systemic conditions will provide an objective phenotype to allow practitioners to diagnose disease, monitor patient disease activity and determine the effectiveness of treatment^{15,18,23}. Adult subjects with diabetes have been investigated through metabolomics in plasma, serum, urine, vitreous humor and also saliva. Moon-Kanamori *et al.* (2014) suggested 1,5 Anhydroglucitol in saliva as a biomarker for diabetes in adults, since the decreased levels indicated high levels of glucose.

Metabolomic approach has also been performed among type 1 diabetic children, using serum and urine as biofluids, but not saliva. Increase in lactate and acetate has been described by Zuppi *et al.* (2002) among urinary samples of diabetic children and adolescents with high levels of Hb1Ac using NMR. In our study, we also observed higher levels of lactate and acetate, as well as higher levels of n-acetyl-sugar and other sugars among the uncontrolled and controlled diabetic children compared to the healthy ones. This finding, corroborates with Culler *et al.* (2012), who highlighted the differences in the variation of low concentration metabolites between healthy and type 1 diabetic children, and noticed that the most intense signals arise from glucose, other sugars, creatinine, creatine and citrate in urinary samples.

The role of diabetes status control among type 1 diabetic children and adolescents also using the urinary metabolite profile through NMR was emphasized by Stanislaw Deja *et al.* (2013). They reported increased levels of alanine, pyruvate and branched amino acids related to endogenous production of glucose, corroborating with our study, which showed higher levels of metabolites from sugar region, demonstrating that blood filtration follows a similar pattern in saliva. A longitudinal study showed association of blood plasma and serum metabolomics with appearance of specific autoantibodies of type 1 diabetes mellitus related to progression in healthy Swedish children who were not diabetic before and later were then diagnosed with type 1 diabetes. They found that children who developed diabetes had reduced serum levels of succinic acid and choline at birth and presented multiple phospholipids and triglycerides later. Choline metabolism is dependent on the composition of the intestinal microbiota, as well as succinic acid²⁵. This could explain why these

compounds were not altered in saliva, since products from intestinal microbiota probably could not be found in saliva.

Lactate has been described as the most abundant metabolite in diabetic patients compared to healthy ones^{59,61}, which was confirmatory with our study. Human vitreous humor has been the studied biofluid for metabolomic analysis and retina is the part of the body that proportionally consumes more oxygen. Lactate is a major product of glucose metabolism, and elevated lactate levels reflect increased tissue acidosis and anaerobic glycolysis. Other biochemical processes included glucose levels, oxidation (ketone body-derived metabolite/acetate) aldose reductase or polyol pathway (galactitol), and defense against oxidative stress^{59,61}. In the present study, we also investigated dental caries as variable among the metabolite profiling, performing statistical analyses within the caries-free diabetic and caries-free healthy children. It was found similar results, showing that the variation observed in lactate seem to be related exclusively to saliva from diabetic children.

Our data showed increased levels of acetate, which is one of the three ketonic bodies, together with β -Hydroxybutyrate and acetoacetate. These are metabolites responsible for ketoacidosis events. Acetone is formed in the body mainly by the spontaneous decarboxylation of acetoacetate via enzyme acetoacetate decarboxylase and the higher the total concentration of ketones, reflecting a higher rate of their synthesis from fat, the higher the blood β -HBA: acetoacetate concentration ratio. Breath acetone is a common oral manifestation of type 1 diabetes under ketoacidosis patients⁶⁰. In our study, reported breath acetone was one of the most expressive oral findings among diabetic children. Associated with diabetes related variables, breath acetone and xerostomia showed association with high levels of the salivary biochemical parameters (glucose, calcium and total protein), including acetate since the NMR data showed increased levels of this metabolite. Xerostomia was very prevalent among the diabetics and the relationship of this condition with diabetes is already well established in the literature, even in younger children^{5,11,52}.

Limitations of our study would be that the participants of this study represent a random sample of the general diabetic pediatric population, not a specific selection of diabetes patients with acute or clinical symptoms. They are more likely to have their diabetes under good metabolic control, not demonstrating greater discrepancies between the cases and controls. Also a limitation would be the challenge of interpreting metabolic profiling data in a pediatric population with different environmental factors, lifestyle and genetic background, which make them a more heterogeneous metabolic group and also diabetic patients react to their diagnosed diseased state in many ways, for example by different eating habits, physical exercise, intake of different amounts and types of insulin and the early usual child-parent dependency among young children, peculiar at this age. Age and dentition phase played a role in the inclusion and exclusion criteria for children enrolled in this study, but if not, we would be able to observe a pronounced increase in the sample size. In future studies, an increased sample size will likely allow for further detection of other metabolites of unrecognized associations with diabetic pathways.

It must be pointed out that people with diabetes have to prick their fingers multiple times a day to monitor their blood sugar levels, a needle-free analyzer would bring quality of life to these patients in the future and would avoid stress during diabetes monitoring management. Moreover, diabetes screening using saliva in the dental office would be a great tool due to increasing number of people who remain undiagnosed⁵⁸. In conclusion, this study demonstrated that biochemical profiling is a very useful tool for diabetes screening in young population. Our study showed that salivary profile of diabetic children differed not significantly from healthy ones, since young diabetic children receive parental care full-time and the most presented adequate glycemic control. Therefore, diabetes metabolic control plays an important role in the salivary composition, since children with inadequate diabetes control showed altered compounds in saliva.

ACKNOWLEDGMENTS The authors acknowledge the children and parents enrolled at this study, as well as the medical staff in charge at Diabetes Ambulatory of Pediatric Hospital at UFRJ. Furthermore, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico (CNPq, Brazil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, Brazil) for the financial support.

REFERENCES

- 1- Gale, E. The rise of childhood type 1 diabetes in 20th century. **Diabetes**, vol. 24- 51, December 2002.
- 2- Karjalainen K. *et al.* Relationship between caries and level of metabolic balance in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. **Caries Res.** 1997;31(1):13-18.
- 3- Jurysta C, Bulur N, Oguzhan B, *et al.* Salivary Glucose Concentration and Excretion in Normal and Diabetic Subjects. **Journal of Biomedicine and Biotechnology** 2009;2009:430426. doi:10.1155/2009/430426.
- 4- Malicka, Barbara *et al.* Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. **Archives of Oral Biology**, March 2015. Volume 60 , Issue 3 , 425 – 431.
- 5- Amaral, Fábio M. Franco do; RAMOS, Patrícia G. de A.; FERREIRA, Sandra Roberta G. Study on the frequency of caries and associated factors in type 1 diabetes mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 50, n. 3, June 2006.
- 6- Rai K, Hegde AM, Kamath A, Shetty S. Dental caries and salivary alterations in Type I Diabetes. **J Clin Pediatr Dent.** 2011 Winter;36(2):181-4.
- 7- Tagelsir A *et al.* Dental caries and dental care level (restorative index) in children with diabetes mellitus type 1. **Int J Paediatr Dent.** 2011 Jan;21(1):13-22.
- 8- Jawed M, Khan RN, Shahid SM, Azhar A. Protective effects of salivary factors in dental caries in diabetic patients of Pakistan. **Exp Diabetes Res.** 2012:947304. doi: 10.1155/2012/947304. Epub 2012 Jun 24.
- 9- Mata AD, Marques D, Rocha S, Francisco H, Santos C, Mesquita MF, *et al.* Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. **Mol Cell Biochem** 2004; 261: 137-142.
- 10-Gamzen Aren *ET AL.* Periodontal Health, Salivary Status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. **J Periodontol.** December 2009.
- 11-Moreira *et al.* Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Braz J Med Biol Res.**; 42(8) 707-711. 2009.

- 12-Wong DT. Salivary Diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. **J Am Dent Assoc.** Mar 2006;137(3):313-321.
- 13-Brindle, J. T., H. Antti, *et al.* Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics. **Nat Med** 8(12): 1439-1444. 2002.
- 14-Yan *et al.* Systematic comparison of the human saliva and plasma proteomes. **Proteomics Clin Appl.** Jan 1 2009;3(1):116-134.
- 15-Lindon JC, Holmes E, Bollard ME, Stanley EG, Nicholson JK. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis. **Biomarkers** 2004;9:1-31.
- 16-Liu, J. e Y. Duan. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. **Oral Oncol**, v.48, n.7, p.569-77. 2012
- 17-Bertram, H. C., N. Eggers, *et al.* Potential of human saliva for nuclear magnetic resonance-based metabolomics and for health-related biomarker identification. **Anal Chem** 81(21): 9188-9193. 2009.
- 18-Sung J, Wang Y, Chandrasekaran S, Witten DM, Price ND. Molecular signatures from omics data: from chaos to consensus. **Biotechnology journal** 2012;7:946-57.
- 19-Bandhakavi, Matthew D. Stone, Getiria Onsongo, Susan K. Van Riper, and Timothy J. Griffin J. A dynamic range compression and three-dimensional peptide fractionation analysis platform expands proteome coverage and the diagnostic potential of whole saliva. **Proteome Res.** 2009 December ; 8(12): 5590–5600.
- 20-Zhang L, Xiao H, Karlan S, Zhou H, Gross J, Elashoff D, *et al.* Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. **PLoS One** 2010;5:e15573.
- 21-Zhang A., Sun H., Wang X. Saliva Metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis and treatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 168(6):1718-1727.2012.
- 22-Suhre K, Meisinger C, Döring A, Altmaier E, Belcredi P, *et al.* (2010) Metabolic Footprint of Diabetes: A Multiplatform Metabolomics Study in an Epidemiological Setting. **PLoS ONE** 5(11): e13953.
- 23-Barnes *et al.* Global metabolomic analysis of human saliva and plasma from healthy and diabetic subjects, with and without periodontal disease. **PLoS One.** 2014 Aug 18;9(8):e105181.
- 24-Zuppi C, Messana I, Tapanainen P, Knip M, Vincenzoni F, Giardina B, Nuutinen M. Proton nuclear magnetic resonance spectral profiles of urine from children and adolescents with type 1 diabetes. **Clin Chem.** 2002;48(4):660-2.

- 25- Oresic *et al.* Dysregulation of lipid and amino acid metabolism precedes islet autoimmunity in children who later progress to type 1 diabetes. **J Exp Med.** 2008 Dec 22;205(13):2975-84. doi: 10.1084/jem.20081800. Epub 2008 Dec 15.
- 26-Culeddu *et al.* NMR-based metabolomic study of type 1 diabetes. **Metabolomics**; 8(6):1162-1169. 2012.
- 27-Stanislaw Deja *et al.* 1H NMR-based metabolomics studies of urine reveal differences between type 1 diabetic patients with high and low HbAc1 values. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.**
- 28-WHO (World Health Organization), 1997. *Oral Health Surveys. Basic Methods.* **Geneva: WHO.**
- 29-Fox PC, Busch KA, Baum BJ. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. **J Am Dent Assoc.** 1987 Oct;115(4):581-4.
- 30-Al-Zahrani MS *et al.* Self reported halitosis in relation to glycated hemoglobin level in diabetic patients. **Open Dent J.** 2011;5:154-7.
- 31-Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica chimica acta*; **International Journal of Clinical Chemistry** 2007;383:30-40.
- 32-Vasconcelos A, Soares MS, Almeida PC, and Soares TC. Comparative study of the concentration of salivary and blood glucose in type 2 diabetic patients. **Journal of Oral Science**, Vol. 52, No. 2, 293-298, 2010.
- 33-Martins C., Castro G.F., Siqueira M.F., Xiao Y., Yamaguti P.M., Siqueira W.L. Effect of Dialyzed Saliva on Human Enamel Demineralization. **Caries Res** 2013;47:56–62.
- 34-Hwang T.L., Shaka A.J. Water suppression that works. Excitation sculpting using arbitrary waveforms and pulsed field gradients, **J. Magn. Reson. Ser. A** 112 (1995) 275-279.
- 35-Streckfus CF, Bigler LR, Zwick M. The use of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry to detect putative breast cancer markers in saliva: a feasibility study. **J Oral Pathol Med** 2006;35:292-300.
- 36-Lee Y-H, Wong DT. Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. **American Journal of Dentistry** 2009;22(4):241-248.
- 37-Takahashi N, Washio J, Mayanagi G. Metabolomics of supragingival plaque and oral bacteria. **Journal of Dental Research** 2010;89:1383-8.

- 38-Fidalgo TKS, Freitas-Fernandes LB, Angeli R, Muniz AMS, Gonsalves E, Santos R, *et al.* Salivary metabolite signatures of children with and without dental caries lesions. **Metabolomics** 2013;9:657-66.
- 39-Darwazeh AM, MacFarlane TW, McCuish A, Lamey PJ. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. **J Oral Pathol Med.** 1991 Jul;20(6):280-3.
- 40-Ben Aryeh H, Serouya R. Kanter Y *et al.* Oral health and salivary composition in diabetic patients. **J Diabetes Complication** 1993; 7(1):57-62.
- 41-Lasisi T.J., Fasanmade A.A.. Comparative Analysis Of Salivary Glucose And Electrolytes In Diabetic Individuals With Periodontitis. **Ann Ibd. Pg. Med** 2012. Vol.10, No.1 25-30.
- 42-Aydin S. A comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. **J Biochem Mol Biol.** 2007 Jan 31;40(1):29-35.
- 43-López del Valle LM, Ocasio-López 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.**;30(3):123-7.2011.
- 44-Mascarenhas *et al.* Effect of diabetes mellitus type 2 on salivary glucose--a systematic review and meta-analysis of observational studies. **PLoS One.** 2014 Jul 15;9(7).
- 45- Navazesh M, Christensen C, Brightman V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. **J Dent Res** 1992; 71: 1363-1369.
- 46-Karjalainen K, Periodontal diseases, dental caries, and saliva in relation to clinical characteristics of type 1 diabetes. **Academic Dissertation**, University of Oulu, 2002, <http://herkules.oulu.fi/isbn9514256395/>.
- 47-Abikshyeet P, Ramesh V, and Oza N. Glucose estimation in the salivary secretion of diabetes mellitus patients. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.** 2012;5:149-154.
- 48-Dudko A, Kurnatowska AJ, Kurnatowski P. Prevalence of fungi in cases of geographical and fissured tongue. **Ann Parasitol.** 2013;59(3):113-7.
- 49-Jawed M, Shahid SM, Qader SA, Azhar A. Dental caries in diabetes mellitus: role of salivary flow rate and minerals. **J Diabetes Complications.** 2011 May-Jun;25(3):183-6.
- 50-Sewón L, Söderling E, Karjalainen S. Comparative study on mineralization-related intraoral parameters in periodontitis-affected and periodontitis-free adults. **Scand J Dent Res.** 1990 Aug;98(4):305-12.
- 51-Sewón LA, Karjalainen SM, Söderling E, Lapinleimu H, Simell O. Associations Between Salivary Calcium And Oral Health. **J Clin Periodontol.** 1998 Nov;25(11 Pt 1):915-9.

- 52-Lalla E, Cheng B, Lal S, Kaplan S, Softness B, Greenberg E, Golland RS, Lamster IB. Diabetes mellitus promotes periodontal destruction in children. **J Clin Periodontol**. 2007 Apr;34(4):294-8.
- 53-Lalla E, Papapanou PN Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. **Nat Rev Endocrinol** (2011) 7:738–748.
- 54-Hegde MN, Tahiliani D, Shetty S, Devadiga D. Salivary alkaline phosphatase and calcium in caries-active type II diabetes mellitus patients: An in vivo study. **Contemp Clin Dent**. 2014 Oct;5(4):440-4.
- 55-Siudikiene J, Machiulskiene V, Nyvad B, Tenovou J, Nedzelskiene I. Dental caries and salivary status in children with type 1 diabetes mellitus, related to the metabolic control of the disease. **Eur J Oral Sci**; 114(1):8-14. 2006.
- 56-Cabras T. *et al*. Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. **Mol Cell Proteomics**; 9(10):2099-2108. 2010.
- 57-Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostnet K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. **Clin Chem**. May 2011;57(5):675-687.
- 58-Mook-Kanamori DO, Selim MM, Takiddin AH, Al-Homsi H, Al-Mahmoud KA, Al-Obaidli A, Zirie MA *et al*. 1,5-Anhydroglucitol in saliva is a noninvasive marker of short-term glycemic control. **J Clin Endocrinol Metab**. 2014 Mar;99(3):E479-83.
- 59-Barba, Garcia-Ramírez; Hernández, Alonso; Masmiquel, García-Dorado. Metabolic fingerprints of proliferative diabetic retinopathy: an 1H-NMR-based metabonomic approach using vitreous humor. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 2010 Sep;51(9):4416-21.
- 60- Blaikie *et al*. Comparison of breath gases, including acetone, with blood glucose and blood ketones in children and adolescents with type 1 diabetes **J. Breath Res**. 8 2014.
- 61- Le Moyec L, Robert C, Triba Mn, Billat VI, Mata X, Schibler L, Barrey E. Protein catabolism and high lipid metabolism associated with long-distance exercise are revealed by plasma NMR metabolomics in endurance horses. **PLoS One**. 2014 Mar 21;9(3):e90730.
- 62- World Medical Association. **WMA Declaration of Helsinki** – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.

4.3 Artigo 3- Conhecimento e Condutas de Estudantes e Profissionais de Odontologia sobre Diabetes

Diabetes Knowledge and Practices of Dental Students and Professionals

Lívia Roberta Piedade de **OLIVEIRA**¹

Carla **MARTINS**²

Caroline **RENDA**³

Ivete Pomarico Ribeiro de **SOUZA**⁴

¹DDS, Master student, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

²DDS, MSc, PhD, Adjunct Professor, Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

³Undergraduate Student, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

⁴DDS, MSc, PhD, Full Professor - Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Corresponding Author – Ivete Pomarico Ribeiro de Souza

Caixa Postal: 68066 – Cidade Universitária – CCS

CEP: 21941-971 - Rio de Janeiro – RJ –Brazil

E-mail: pomarico@ig.com.br Fax/phone: +552139382101

ABSTRACT

This paper aimed to assess knowledge and practices of dental students, general practitioners and specialists regarding treatment of diabetic patients in dental office. Dental students and professionals were approached personally or were requested to respond an electronic survey based on the internet. Those who agreed to take part of the survey, were requested to answer it, anonymously and privately, to questions regarding to their knowledge of oral manifestations related to diabetes and practices of events preceding and during diabetic complications. A total of 440 dental students (41%) and professionals (58%), answered the survey. The majority of respondents (90%) agreed that diabetic patients may present oral manifestations related to their condition and 95% were aware that some complication event can occur during dental attendance. Few of them (4.5%) reported they prefer not to attend diabetic patients and refer to another dental professional. Most of the respondents (73%) were able to associate some degree of gingival inflammation, gingival bleeding and bone resorption as oral manifestations related to diabetes. Hypoglycemia was recognized as one of the emergency events that can occur with diabetic patients by 85% of the respondents, while 48% of the overall participants were not able to associate hyperglycemia as a diabetes complication event. Our data showed that dental students and professionals were aware about diabetes related issues in a dental setting, but it is necessary more knowledge to some of them, considering the importance of oral health to these patients and also due to the complications related this disease.

Keywords: Diabetes mellitus; knowledge; dental practices; awareness; oral health.

INTRODUCTION

Diabetes Mellitus (DM) is considered a worldwide public health problem, affecting people of all ages characterized by high blood glucose levels due to problems in insulin secretion or insulin action, which can be caused by many factors like diet, lifestyle, environment and genetics^{2,3}. As a result, chronic hyperglycemia with frequent disorders of carbohydrate metabolism leads to disease progression which includes many complications, such as blindness, renal insufficiency and death¹. Some oral health complications associated with diabetes mellitus that may be observed during oral examination by dental practitioners are xerostomia, tooth loss, gingivitis, periodontitis, oral soft-tissue lesion of the tongue and oral mucosa⁷.

According to WHO (2012), there are more than 10 million undiagnosed diabetic patients in the world's population. Despite of the fact, that dentists treat undiagnosed patients frequently, it is extremely important that dentists observe carefully diabetes related signs and symptoms in oral cavity, paying attention specially to periodontal diseases in patients with no expressive amount of plaque and calculus^{3,8}. Besides that, American Diabetes Association recommends an oral examination as one of the steps of the initial diabetes visit by multidisciplinary health professionals¹.

There is a bidirectional relationship between poorly controlled diabetes mellitus and presence of periodontal diseases^{15,16,17}. Some authors found that dental professionals were not aware about glycemic control of their diabetic patients^{6,11} or unfamiliar with the impact of diabetes on dental care⁴. Most of these studies have shown that few dentists monitor blood glucose levels and adjust the frequency of dental visits according to the patient's diabetic status^{6,11,15}.

If dental practitioners are not aware of this link, they are not able to enhance the quality of the treatment they perform and link it the information to their practice. Data about Brazilian dental professionals and their knowledge regarding providing treatment to diabetic patients is unknown, the aim of the study was, therefore, to evaluate the knowledge and practices of dental

students, practitioners and specialists concerning the effect of diabetes on oral health and the need of special care during provision of dental treatment of diabetic patients in dental office.

MATERIALS AND METHODS

This study is characterized as a descriptive cross-sectional study and its protocol was approved by the Ethical Review Committee of Federal University of Rio Janeiro. Recruitment occurred from September to December in the year 2014 at a university and during a Dental Conference in Brazil. Informed verbal consent from all participants was obtained prior to contribution. All participants were Brazilian and should be able to answer the survey.

The analysis instrument was a questionnaire to assess knowledge and practices regarding to diabetic patients management validated by two experienced Professors of Federal University of Rio de Janeiro, one of them specialist in Evaluation and Survey Validations, who assessed the questionnaire and verified the relevance and pertinence of each question and each answer, as well as suggested modifications to them. The questionnaire was then submitted to a pilot study by ten postgraduate students from the Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics of the same Institution, who were not included in the final sample, in order to test the questionnaire and to verify the clearance and possibilities of statically analyses.

The inclusion criteria to participate of this study were dental students from the fourth semester of Dental School until the last one (eighth or tenth semester, depending on the university), general dental practioners and dental specialists from different fields in Dentistry. Students or professionals of other Health Professions, such as Medical Doctors, Nutritionists, Nurses and Physiotherapists were not eligible to participate in this study. As exclusion criteria were those who agreed to participate but they did not fully complete the questionnaires.

The dental students and professional were then requested to answer a self-administered, structured questionnaire with 12 closed and 04 open

questions, privately and anonymously. It was delivered personally and also a website link with an online questionnaire was available to participation of a greater number of subjects.

The first part of the questionnaire included demographic data, such as: age, gender, education level of the student or professional, specialty and workplace. The second part explored points to assess knowledge and practices of diabetes in dental office, such as questions about: how would they recognize oral manifestations of diabetes, which are the main signs and symptoms of hyper and hypoglycemia, besides that, what are special care necessary to dental management of diabetic patients and what would they do if a patient feels that hypoglycemic events are going to happen during a dental appointment.

All participants were requested to report whether they believed that diabetes affected periodontal health, and if poorly controlled diabetic patients should have more frequent dental checkups and also what time should be the best to diabetic patients have their dental appointments. For the above-mentioned questions participants were given the choice of 'yes', 'no', or 'I don't know'. Participants were then asked which of the following periodontal complications they believed patients diagnosed with diabetes were more susceptible to: gingival inflammation, gingival bleeding, alveolar bone resorption, tooth loss or periodontal abscess.

To analyze the results, all corrected answers were summed. When a question had more than one correct answer, then it was considered "correct" if the participant chose at least one of the "corrected answers", since there was no "wrong" answer in the amount. Later, the answers were tabulated and submitted to statistical descriptive analysis.

Statistical Analysis

Data was entered and analyzed using the Statistical Package for Social Science software (SPSS, Chicago, Ill., USA), version 20. Frequency distributions and descriptive statistics were generated for all the study variables;

Fischer Exact test and Chi-square test were performed to detect significant association between categorical variables. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

RESULTS

A total of 440 respondents (183 students and 257 dentists - 76 general dental practitioners and 181 dental specialists) participated in this study, including those who accessed the electronic survey and those who were approached personally and fully completed the questionnaires. Dental specialists consist of 31 prosthodontists, 26 pediatric dentists, 25 endodontists, 24 oral surgeons, 20 public health professionals, 19 pathologists, 16 periodontists, 11 orthodontists and 09 implantodontists. There were no specialists in the field of Patients with Special Needs. Around 80% of the study participants were female ($n=344$). Table 1 presents the sociodemographic characteristics of the participants. The mean age of general dental practitioners and dental specialists were 31.7 ± 11.03 and 33.4 ± 7.56 years old, respectively. The mean age of dental students was 22.1 ± 2.35 years old. A significant difference was detected regarding the mean age between the three groups.

Table 2 presents the reported knowledge of specific oral complications associated with diabetes mellitus and the effect of diabetes mellitus on oral health. Around 90% ($n=396$) of the study participants affirmed that diabetic patients may present peculiar oral characteristics associated with their systemic condition. From those 396 subjects, 73% of them were aware that gingival inflammation, gingival bleeding and alveolar bone resorption were manifestations associated with diabetes mellitus. Dental specialists were significantly more aware of the association between diabetes and periodontal disease.

Awareness and practices in the dental office regarding the treatment of diabetic patients is presented in table 3. The majority of the study participants (95%) agreed that diabetic patients need special care and that some urgent situation may happen if diabetes status is poorly controlled. From those, 48% were not able to associate hyperglycemia as an urgent/emergent event or

complication event related to diabetes, while 15% of all participants were not able to associate hypoglycemia as a diabetic complication. They related dizziness and drowsiness as main symptoms. Most of the participants (89.2%) agreed that diabetic patients should have dental appointments in the morning.

Around 70% of the participants, who treat diabetic patients, reported that they request their patients about the diabetic status, in order to know if dental treatment can be performed. Only 13.2% affirmed they always contact the medical staff of the patient and 4.5% prefer not to attend diabetic patients and refer to a dental specialist.

Table 1. Sociodemographic characteristics.

	Dental students	General dental practitioners	Dental specialists
<i>Sample size</i>	41.6% (n=183)	17.3% (n=76)	41.1% (n=181)
Female gender	77.6%	75%	80.1%
Mean age (years old)	22.1±2.35	31.74±11.03	33.4±7.56
Workplace, private dental office	--	67.6%	36.5%
Time since graduation(in years)	--	7.31±10.34	8.44±6.87

Table 2. Affirmative answers to oral complications associated with diabetes mellitus.

Oral complications in diabetic patients	Dental Students n=183	General Dental Practitioners n=75	Dental Specialists n=181	<i>P</i> value
Do they present specific oral manifestations?	93%	86%	87%	0.06
Do they present some degree of gingival inflammation, bleeding or bone resorption?	69.49%	67.69%	71.06%	0.8

Do they present great amount of dental calculus?	47.45%	36.9%	40.88%	0.5
Do they present halitosis?	68.92%	72.30%	67.74%	0.64

Table 3. Affirmative answers regarding practices of dental students and dentists when assisting a diabetic patient.

Practices	Dental Students N= 183	General Dental Practitioners N= 75	Dental Specialists N=181	P value
Do you attend patients with special needs?	76.5%	73.3%	74.17%	0.6
Do you attend diabetic patients?	66.29%	62.16%	68.5%	0.5
Do you think a complication event can occur in dental office?	96.17%	89.33%	95.58%	0.14
Is hypoglycemia a complication event?	82.32%	90.14%	85.79%	0.27
If hypoglycemia occurs, I offer sugar or candies	62.43%	71.62%	70.16%	0.8
Is hyperglycemia a complication event?	53.59%	45.07%	50.56%	0.47

DISCUSSION

In a recent clinical study (*unpublished data*) about oral health related metabolic control of type 1 diabetic children, we could observe that the parents and legal guardians were aware about the systemic condition of the children and also of their oral health. However, the children had never visited dentists before, since their parents reported us that dental care was not available as the other Health Professions are. First, because there are no dentists inserted in the diabetes care team in Brazil, which includes endocrinologists, nutritionists and physiotherapists, for example. And, from those who tried to get their children to a dental visit, some dentists refused to treat them, since they were not comfortable to treat patients with special needs or they need more knowledge about diabetes related complications. So, we performed this study, in order to clarify the actual situation and understand better how we could improve the dental care access to diabetic patients.

The results pointed out that 32% of the respondents, who affirmed that they attend special patients, do not treat diabetic patients, revealing that many

dental professionals remain not associating diabetic patients to a special care condition. Given the epidemic proportion of diabetes, it is critical for all health professionals to be well-educated about diabetes^{1,2,18}. Diagnosed diabetic patients remain with restricted access to dental appointments. One reason is that some professionals do not feel comfortable to treat these patients, since they are not sure about special care they need and also because they are afraid if the patients have hypoglycemic and hyperglycemic events in dental office. Then, many dentists prefer to refer the patients to a specialist professional or to ask the patient to bring a medical report from physician informing if the patients is able to receive dental treatment.

The bidirectional relationship between diabetes and oral health remains unfamiliar among health professionals and the World Dental Federation with the International Diabetes Federation have urged the need to improve this knowledge¹⁸. Increasing the knowledge of health care professionals will improve their practices, attitudes and behavior towards the management of diabetic patients. The majority of respondents believed that diabetes may affect oral health by presenting some oral manifestation. Indeed, many of them (32%) did not associate some degree of gingival inflammation, gingival bleeding and alveolar bone resorption with diabetes mellitus. Those respondents were not aware that tooth loss is a common dental complication among patients diagnosed with diabetes although recent studies have documented that periodontal disease is considered to be one of the main reasons for tooth loss in diabetic individuals¹⁶⁻¹⁸.

In our study, participants were unaware that severe alveolar bone resorption could take place and lead to partial or complete edentulousness. The consequences of periodontal disease and subsequent tooth loss are not only important considerations for the quality of life of patients with diabetes, but they may significantly affect systemic health by compromising a healthy diet and maintain good metabolic control. Our data showed that dental specialists were more aware of specific periodontal complications associated with diabetes such as gingival inflammation, gingival bleeding and alveolar bone resorption than general dental practitioners and dental students.

Hypoglycemic and hyperglycemic events should not happen in the dental office, since dental professionals should be aware of the systemic condition of their diabetic patients, always requesting for their Hb1Ac exam and glucose levels, in order to avoid complications during the dental appointments. People with poorly controlled diabetes also may have impaired wound healing and increased susceptibility to infections. In the literature, a study with dental hygienists showed that they indicated incorrectly the best treatment for hypoglycemia⁴. In our study, the majority of respondents indicated to offer sugar or candies.

Hypoglycemia is the most common complication of diabetes that can occur in the dental office and our data showed the dental students and professionals are aware about it, since only 15% of the respondents were not able to associate hypoglycemia to an emergency event. If insulin or oral antidiabetic drug levels exceed physiological needs, the patient may experience a severe decline in his or her blood sugar level. Initial signs and symptoms include mood changes, decreased spontaneity, hunger and weakness. These may be followed by sweating, incoherence and tachycardia. If untreated, possible consequences include unconsciousness, hypotension, hypothermia, seizures, coma and death. If the clinician suspects that the patient is experiencing a hypoglycemic episode, he or she should terminate dental treatment and immediately administer 15 grams of a fast-acting oral carbohydrate such as glucose tablets or gel, sugar, candy, soft drinks or juice. After immediate treatment, dentists should measure blood glucose levels to confirm the diagnosis and determine if repeated carbohydrate dosing is needed. If the patient is unable to swallow or loses consciousness, the dentist should seek medical assistance¹⁷.

In general, morning appointments should be arranged since endogenous cortisol levels are generally higher at this time (cortisol increases blood sugar levels). For patients receiving insulin therapy, appointments should be scheduled so that they do not coincide with peaks of insulin activity, since that is the period of maximal risk of developing hypoglycemia^{9,11}. Our data showed that the dental students and professionals are aware about this information.

Moreover, people's knowledge about diabetes can affect the duration between onset of symptoms and diagnosis, which can prevent complications related to diabetes¹⁴. Thus, campaigns to raise awareness and knowledge to people should be performed. Health care professionals could discuss with family the events preceding diagnosis or hypo- and hyperglycemic events in order to turn it better their emotional support needs. Referral to dental care should be emphasized between physicians, as well as ask their patients about their oral health problems. Dental professionals should be able to recognize signs and symptoms and feel comfortable to attend diabetic patients, since epidemical proportion of diabetes it is going to be more common to receive patients with such systemic conditions in the dental office. Besides that, an oral examination is one of the steps of the initial diabetes visit for diabetic patients, which is recommended by the American Diabetes Association¹.

In our study, the lack of random selection of the participants of the survey was one of the limitations. Those completing the survey may not be representative of all Brazilian dental students and professionals, and, therefore, the results cannot be generalized. Moreover, a qualitative study with these dental students and professionals could have demonstrated better their attitudes and practices towards diabetic patients in dental office.

Professional attention should be given to the importance of the relationship between oral health and systemic health. It is very essential for both general dental practitioners and dental specialists to understand the relationship between diabetes mellitus and periodontal diseases. Conducting educational programs and encouraging exchange of knowledge between dental practitioners, dental specialists and medical profession are extremely important to effectively prevent, manage and control both diabetes and periodontal diseases. Educating general dental practitioners about the risk of developing periodontal disease in patients diagnosed with diabetes and the potential for patients with existing severe periodontal disease of being diabetic. In addition, the undergraduate and postgraduate dental curriculum should put great emphasis on the interprofessional education between medicine and dentistry. Our data showed that dental students and professionals are aware about

diabetes related issues, but it is still very important to inform and to educate those who do not feel comfortable to treat patients with special care needs. More studies should be performed to assess the knowledge of dental students and professionals of those who do not often visit conferences.

ACKNOWLEDGMENTS The authors acknowledge Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, Brazil) for the financial support.

REFERENCES

- 01 ADA - American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2014. **Diabetes Care**. Volume 37, Supplement 1, January 2014.
- 02 ISPAD - International Society For Pediatric And Adolescent Diabetes. Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. **Pediatric Diabetes** 2014: 15(Suppl. 20).
- 03 World Health Organization. Screening for Type 2 Diabetes Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation meeting. **Geneva: World Health Organization**, 2003.
- 04 Boyd LD, Hartman-Cunningham ML. Survey of diabetes knowledge and practices of dental hygienists. **J Dent Hyg**. 2008 Fall;82(5):43.
- 05 Lamster *et al*. The Relationship of Periodontal Disease to Diseases and Disorders at Distant Sites -Communication to Health Care Professionals and Patients. **JADA** (October 2008) 139,1389-1397.
- 06 Kunzel C, Lalla E, Albert DA, Yin H, Lamster IB. On the primary care frontlines: the role of the general practitioner in smoking-cessation activities and diabetes management. **JADA** (August 2005) 136(8):1144-53; quiz 1167.
- 07 Rajesh V. Lalla; Joseph A. D'ambrosio. Dental management considerations for the patient with diabetes mellitus. **JADA** (October 2001) Vol. 132.
- 08 Mohamed K, Yates J, Roberts A. Diabetes mellitus: considerations for the dental practitioner. **Dent Update**. 2014 Mar;41(2):144-6, 149-50, 153-4.

- 09 Kunzel C, Lalla E, Lamster I. Management of the patient who smokes and the diabetic patient in the dental office. **J Periodontol**. 2006 Mar;77(3):331-40.
- 10 Kunzel C, Lalla E, Lamster I. Dentists' management of the diabetic patient: contrasting generalists and specialists. **Am J Public Health**. 2007 Apr;97(4):725-30.
- 11 Al-Khabbaz AK, Al-Shammari KF. Diabetes mellitus and periodontal health: dentists' knowledge. **Med Princ Pract**. 2011;20(6):538-44.
- 12 Al-Khabbaz AK, Al-Shammari KF, Al-Saleh NA. Knowledge about the association between periodontal diseases and diabetes mellitus: contrasting dentists and physicians. **J Periodontol**. 2011 Mar;82(3):360-6.
- 13 Thepwongsa I, Kirby C, Paul C, Piterman L. Management of type 2 diabetes: Australian rural and remote general practitioners' knowledge, attitudes, and practices. **Rural and Remote Health** 14: 2499. (Online) 2014. Available: <http://www.rrh.org.au>.
- 14 Rankin D *et al*. Pathways to diagnosis: a qualitative study of the experiences and emotional reactions of parents of Children diagnosed with type 1 diabetes. **Pediatr Diabetes**. 2014 Feb 19.
- 15 Vergnes JN. Treating periodontal disease may improve metabolic control in diabetics. **Evid Based Dent**. 2010;11(3):73-4.
- 16 Preshaw PM, Alba AL, Herrera D, *et al*. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. **Diabetologia** (2012) 55:21–31.
- 17 Lalla E, Papapanou PN Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. **Nat Rev Endocrinol** (2011) 7:738–748.
- 18 The International Dental Federation: **Oral Health and Diabetes Symposium**. 2007; available at: <http://www.idf.org/guidelines/diabetes-and-oral-health>.

DISCUSSÃO

A pesquisa foi conduzida com o intuito de comparar a saúde bucal, perfil salivar e fatores associados à experiência de crianças pequenas diabéticas em relação ao tratamento odontológico. O Diabetes Mellitus tipo 1 é uma doença que acomete milhões de pessoas ao redor do mundo e sua incidência vem aumentando em crianças abaixo de cinco anos (ADA, 2014; ISPAD, 2014). No entanto, dados de crianças brasileiras nessa faixa etária ainda são escassos.

A saúde bucal de pacientes diabéticos tem sido alvo de investigações no intuito de entender a relação entre o diabetes e o aparecimento de manifestações bucais. Na literatura os resultados em relação a incidência de cárie são controversos. Estudos relatam maior incidência de cárie entre os diabéticos, devido a níveis mais elevados de glicose e diminuição do fluxo salivar, que leva a xerostomia e hipossalivação (KARJALAINEN *et al.*, 1997 ;SUIDIKIENE *et al.*, 2005). Por outro lado, alguns autores relataram fatores protetores na saliva de diabéticos, que levariam a um menor índice de cárie (JAWED *et al.*, 2012; MALICKA *et al.*, 2015), assim como níveis elevados de cálcio salivar, que promoveria maior integridade dos tecidos dentários, mesmo na presença de fatores desmineralizadores, como o fluxo salivar reduzido (TAGELSIR *et al.*, 2011). No nosso estudo, cárie dentária não foi um fator que podemos associar ao diabetes, já que a incidência de cárie foi baixa comparada com a observada em crianças saudáveis. Porém, os resultados foram semelhantes quando comparamos com os índices da Pesquisa Nacional em Saúde Bucal (SB-BRASIL, 2010), onde a média do ceo-d de crianças na idade de 05 anos na cidade do Rio de Janeiro foi de 1,14 dentes acometidos, e 71% das crianças com esta idade estavam livres de cárie. Portanto, podemos especular que as crianças diabéticas tem perfil semelhante ao das crianças saudáveis em torno de cinco anos de idade em relação à cárie dentária (ceo-d 1,38 e livres de cárie 64,7%). Além disso, em nosso estudo observamos que crianças com níveis de HbA1C descontrolados apresentavam ainda menores índices de cárie e maiores níveis de cálcio salivar.

Outro achado bucal muito significativo foi a língua geográfica, também conhecida como glossite migratória benigna, que é uma manifestação bucal que já foi associada com DM1 (WY SOCK, 1987; SAINI *et al.*, 2010), sendo que a etiologia permanece desconhecida. Alguns autores associaram a presença desta manifestação com uma quantidade aumentada de fungos (SAINI *et al.*, 2010; DUDKO *et al.*, 2013). No entanto, outros também relataram que o aumento de colonização de microorganismos está relacionado com níveis elevados de glicose salivar (DARWAZEH *et al.*, 1991), e também em indivíduos que não escovam a superfície da língua (DUDKO *et al.*, 2013). Novos estudos devem ser realizados para entender melhor a relação desta condição com o diabetes mellitus tipo 1, como contagem de microorganismos como a *Candida albicans* e avaliar concentrações de outros eletrólitos não analisados neste estudo, como o magnésio, potássio e o zinco. O entendimento desta relação da língua geográfica com o diabetes preveniria complicações relacionadas, como a sensação de queimação e hipossalivação numa idade avançada, melhorando assim a qualidade de vida desses pacientes. No nosso estudo, não houve diferença significativa entre os parâmetros salivares estudados e a presença deste achado bucal. Outras manifestações bucais associadas ao DM1 não foram encontradas na nossa amostra provavelmente devido ao número de sujeitos, bom controle da doença e idade tenra.

Relatos de xerostomia e hálito cetônico foram muito mais significativos nos diabéticos do que nos saudáveis, e também entre os diabéticos com níveis de Hb1Ac descontrolados do que entre os controlados. Na literatura, observamos resultados similares, já que relatos subjetivos de uma terceira pessoa são uma das formas mais fiéis de se avaliar uma condição que poderia levar o clínico a suspeitar de tal situação (FOX *et al.*, 1987; NAZAVESH *et al.*, 1992; AL-ZHARANI *et al.*, 2011). No caso do hálito cetônico, uma condição muito comum entre diabéticos tipo 1, devido aos eventos de cetoacidose, as mães têm o cuidado de perceber pequenas alterações no hálito da criança. O hálito cetônico foi inclusive sugerido como um biomarcador do controle glicêmico inadequado, já que os corpos cetônicos presentes nos gases expelidos pela respiração estão em níveis mais elevados em pacientes descontrolados (AL-ZAHRANI *et al.*, 2011; QIAO *et al.*, 2014). Alguns estudos

afirmaram que os índices de fluxo salivar de glândulas salivares estimuladas e não estimuladas são reduzidos em pacientes infantis diabéticos (MOORE *et al.*, 2001; SIUDIKIENE *et al.*, 2006; EL-TEKEYA *et al.*, 2012) porém Lopez *et al.* (2011) afirmaram que somente o fluxo de glândulas não estimuladas é reduzido. Em contraste, Belazi *et al.* (1998) não encontraram diferenças significantes nos fluxos salivares entre indivíduos diabéticos ou saudáveis.

Quanto à ingestão de açúcar, os diabéticos consumiam menos açúcar e tinham menos lanches entre as refeições do que os saudáveis. Quanto ao controle glicêmico, aqueles com HbA1c controlados consumiam menos açúcar que os descontrolados. Esses achados corroboram com Suidikiene *et al.*, (2005), que descreveram os hábitos alimentares de crianças e adolescentes diabéticos de 10 a 15 anos de idade e relataram que o consumo de açúcar e lanches entre as refeições era muito maior entre crianças saudáveis não-diabéticas do que entre as diabéticas, assim como Bassir *et al.*, (2014) mostraram que não houve diferença na prevalência de cárie entre crianças e adolescentes diabéticos e saudáveis de 7 a 17 anos e associaram esse achado aos hábitos alimentares dos diabéticos que consumiam mais queijo e pão e evitavam o açúcar e até mesmo os substitutos do açúcar. Em nosso estudo, porém, os pais realizam na sua maioria, contagem de carboidratos, portanto há uma diminuição no consumo total quando se compara com uma criança não-diabética, mas não há restrição alimentar total de açúcar.

Em relação aos hábitos de higiene bucal, a grande maioria de ambos os grupos realizavam higiene bucal diariamente, sendo que o uso de fio dental e bochechos fluoretados não eram realizados por nenhum deles. Quanto à experiência de instrução prévia sobre higiene bucal, a maioria dos pais dos diabéticos receberam estas informações de médicos ou de algum profissional da equipe de saúde. Dale (2014) concorda com este achado, ao relatar que os médicos são os primeiros profissionais a alertar sobre a importância da saúde bucal no tratamento adequado do diabetes e que a saúde bucal ainda é uma área negligenciada pelos pacientes diabéticos.

O acesso ao dentista era limitado pelos pacientes diabéticos deste estudo antes da nossa intervenção, já que a maioria dos responsáveis relatou que encontrou dificuldades em achar um profissional que atenda paciente diabético. Os responsáveis relataram também que, como o dentista não está inserido na equipe multidisciplinar, muitas vezes não há o encaminhamento do médico para avaliação odontológica ou até mesmo o profissional da área de saúde que atende paciente diabético não pergunta ou não sabe como está a saúde bucal deste paciente. No entanto, mesmo com todas as recomendações e encaminhamentos da equipe de saúde multidisciplinar que oferece assistência para as famílias que participaram deste estudo, a maioria das crianças nunca tinha visitado um dentista anteriormente. Conseqüentemente, o nível de dentes cariados não-tratados entre as crianças diabéticas foi maior entre aquelas crianças que nunca tinham ido ao dentista, refletindo assim o baixo número de crianças que tiveram experiência odontológica, o que corroborou com Tagelsir *et al.* (2011), que relataram baixa frequência de ida ao dentista e negligência com saúde bucal de crianças diabéticas quando comparadas com crianças saudáveis. No nosso estudo, as crianças que já tinham visitado um dentista anteriormente e tinham sido submetidas a tratamento odontológico, a principal razão foi dor odontogênica.

Os parâmetros salivares estudados (concentrações salivares de glicose, cálcio e proteína total) mostraram que os pacientes diabéticos controlados ($HbA1c < 8,5\%$) e os pacientes saudáveis seguem o mesmo perfil. Apenas os pacientes descontrolados ($HbA1c > 8,5\%$) difeririam nas concentrações estudadas, enfatizando a necessidade de se manter os níveis glicêmicos adequados, e esclarecendo a importância que o controle glicêmico exerce na composição salivar e conseqüentemente em determinadas condições bucais.

Os diabéticos com níveis elevados de HbA1C apresentaram maior concentração de glicose na saliva, e a correlação foi significativa com os níveis de HbA1c. Portanto, quanto maior o valor da taxa de HbA1c, maior a concentração salivar de glicose. Foi possível observar correlação positiva também em relação à glicemia capilar aferida no momento da coleta salivar e a concentração de glicose na saliva. Resultados semelhantes também foram

relatados por Agrawal *et al.* (2013) e Abikshyeet *et al.* (2012). Essa correlação acontece pelo fato de que as glândulas salivares atuam como filtros da glicose sanguínea que estão alteradas pela regulação hormonal ou neural. A hiperglicemia persistente leva a mudanças nos tecidos dos vasos sanguíneos, levando assim a alterações nas glândulas salivares, como uma concentração mais elevada de glicose através dos ductos salivares, aumentando assim o conteúdo da glicose na saliva (BELAZI *et al.*, 1998; LOPEZ *et al.*, 2011; MASCARENHAS *et al.*, 2014). Além de termos observado concentrações elevadas de glicose através do teste colorimétrico, as diferenças na variação de metabólitos de baixo peso molecular entre crianças saudáveis e diabéticas e sinais mais intensos nos espectros de RMN nas regiões da glicose e outros metabólitos da região do açúcar também foram observados no nosso estudo, corroborando com estudos prévios (LANZA *et al.*, 2010; SUHRE *et al.*, 2010; CULLEDU *et al.*, 2012; STANISLAW DEJA *et al.*, 2013).

Uma relação bilateral entre doença periodontal e diabetes já está bem estabelecida na literatura (LALLA *et al.*, 2007; VERGNEs *et al.*, 2010; LALLA *et al.*, 2011; PRESHAW *et al.*, 2012), porém em relação à cárie ainda é muito controverso, sendo que as concentrações de cálcio na saliva desempenham um papel crucial na manutenção da integridade dos tecidos dentários, já que o cálcio na saliva age como um dos minerais mais importantes para prevenir dissolução dos dentes através da solubilidade constante e suprimento constante para as áreas afetadas do dente. (JAWED *et al.*, 2011; AMARAL *et al.*, 2006). Inclusive, alguns autores (MATA *et al.*, 2004; MOREIRA *et al.*, 2009) justificam este achado de elevadas concentrações de cálcio salivar com a baixa prevalência de cárie entre pacientes diabéticos, o que corroborou com nosso estudo quanto à baixa prevalência de cárie e altos níveis de cálcio.

Por outro lado, já foi relatado baixos níveis de cálcio salivar e alta prevalência de cárie (LOPEZ *et al.* 2011; LASISI *et al.*, 2012; JAWED *et al.*, 2012; HEDGE *et al.*, 2014), sendo esclarecido portanto que níveis ideais de cálcio e seu suprimento contínuo na saliva, mantêm a integridade dos tecidos dentários e influência na ocorrência de cáries dentárias. Em nosso estudo, podemos observar que crianças saudáveis com idade tenra, até 03 anos, que

ainda amamentavam ou tomavam mamadeira, apresentaram os mais elevados níveis de cálcio salivar e foram os sujeitos que eram livres de cárie na amostra dos pacientes saudáveis. Amaral *et al.* (2006), apresentaram resultados similares aos nossos e especularam inclusive que diabéticos são indivíduos menos propensos a apresentarem cáries do que os saudáveis devido ao consumo restrito de sacarose.

Diabetes mellitus tipo 1 é uma doença associada com a destruição autoimune de células no pâncreas, é causada por uma cascata de eventos patológicos consecutivos em nível celular que finalmente levam a falência de vários órgãos internos (STANISLAW DEJA *et al.*, 2013). Na literatura, estudos descrevendo o perfil de metabólitos de crianças com DM1 são escassos e os biofluidos estudados são soro e plasma sanguíneos e urina. O objetivo do nosso estudo foi descrever este perfil em pacientes abaixo de seis anos que foram diagnosticados com DM1. Observamos, no entanto que os pacientes diabéticos descontrolados quanto ao nível de HbA1c, mostraram ter um perfil diferente dos saudáveis, enquanto que os diabéticos controlados têm um perfil mais similar ao dos saudáveis. Os metabólitos que mais alteraram entre os grupos foram lactato, n-acetil-açúcar, acetato e outros metabólitos da região do açúcar. O mesmo foi possível perceber quando o perfil dos diabéticos com glicemia capilar acima de 200mg/dl no momento da coleta salivar se diferenciou daqueles pacientes diabéticos com níveis de glicemia abaixo de 200mg/dl e também em relação aos saudáveis.

Aumento do lactato e acetato também foi observado no nosso estudo e resultados semelhantes foram relatados na literatura, quando diabéticos e saudáveis foram comparados (ZUPPI *et al.*, 2002; BARBA *et al.*, 2010; STANISLAW DEJA *et al.*, 2013). O lactato é um dos mais importantes metabólitos que indica elevado risco de insuficiência múltipla dos órgãos, sendo um produto do metabolismo da glicose, e elevados níveis desse metabólito refletem aumento do metabolismo anaeróbico e acidose tecidual (FOXALL *et al.*, 1993; LEMOYEC *et al.*, 1993; BARBA *et al.*, 2010). Nossos dados demonstraram também níveis elevados de acetato, que é produto de um dos três corpos cetônicos, junto com β -Hidroxitirato e acetoacetato. O hálito

cetônico foi um achado muito significativo entre as crianças diabéticas, principalmente entre aquelas com níveis de HbA1C elevados. Os produtos dos corpos cetônicos são os metabólitos responsáveis pelos eventos de cetoacidose. A acetona é formada no corpo pela síntese de gordura, e quanto maior a concentração de cetonas no corpo, maior a cetoacidose e também maiores são as concentrações destes metabólitos no sangue (BLAIKIE *et al.*, 2014).

Concentrações elevadas de glicose e de corpos cetônicos no sangue já são comumente marcadores de DM1, mas suas concentrações na saliva de crianças pequenas ainda não haviam sido relatadas através de um estudo metabólico. No entanto, as concentrações dos produtos finais da glicose e de corpos cetônicos são dinâmicas e dependem diariamente do tratamento adequado do DM1, dieta e estilo de vida (STANILAW DEJA *et al.*, 2013). Apesar das flutuações que ocorrem diariamente nas concentrações de glicose, a média da sua concentração durante os três últimos meses é refletida através de proteínas que sofrem o processo de glicação, com a HbA1C sendo o marcador mais importante. Os resultados que obtivemos no nosso estudo, aplicando a RMN para analisar metabólitos salivares importantes de crianças diabéticas e saudáveis, mostraram que análises de componentes de baixo peso molecular na saliva podem ser utilizadas para monitorar as mudanças que ocorrem em pacientes diagnosticados com diabetes. E dependendo do nível da HbA1C, é possível observar que processos bioquímicos diferentes ocorrem nos organismos dos pacientes com DM1.

Em relação ao Estudo 2, nosso objetivo foi esclarecer os fatores associados ao acesso deficiente de pacientes diabéticos ao tratamento odontológico, através da avaliação do conhecimento e condutas de estudantes e profissionais de Odontologia sobre diabetes mellitus. Os participantes do estudo foram questionados sobre seus conhecimentos em relação ao diabetes mellitus e suas condutas frente a eventos que poderiam levar a emergências no consultório odontológico, não levando em consideração se estes pacientes eram crianças ou se os pacientes eram portadores de qualquer um dos tipos de diabetes da classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003). Os

participantes demonstraram ter conhecimento adequado em relação ao diabetes e as condutas frente ao tratamento odontológico de pacientes diabéticos mostraram ser apropriadas, o que foi controverso em relação aos relatos dos pais no Estudo 1. Na literatura, resultados controversos sobre o conhecimento de cirurgiões dentistas e a conduta destes com pacientes diabéticos também são observados (RAJESH *et al.*, 2001; KUNZEL *et al.*, 2007; BOYD, 2010).

Em um estudo para avaliar condutas frente a eventos de hipoglicemia no consultório odontológico, foi observado que os participantes não tinham conhecimento suficiente para dar assistência ao paciente diabético em casos de hipoglicemia (BOYD, 2010). Muitos profissionais se sentem inseguros para atender pacientes especiais e muitas vezes, não têm em sua formação o treinamento adequado e até mesmo o conhecimento de sinais clínicos e sintomas pertinentes ao quadro sistêmico (KUNZEL *et al.*, 2007; BOYD, 2010). O conhecimento e atitudes de estudantes e profissionais de odontologia quanto a esses aspectos relacionados ao manejo dos pacientes diabéticos e reconhecimento de sinais e sintomas são importantes para a prevenção de doenças, promoção de saúde bucal e até mesmo tratamento precoce das manifestações bucais relacionadas ao diabetes (RAJESH *et al.*, 2001). Profissionais de saúde precisam ser encorajados a encaminhar esses pacientes, assim como há a necessidade de uma maior comunicação entre os diversos profissionais de saúde e os dentistas, no intuito de informar, prevenir e promover saúde a esses pacientes (LAMSTER *et al.*, 2008).

Se os profissionais de saúde têm o conhecimento adequado sobre a importância da relação entre a saúde bucal e o diabetes mellitus, mais pacientes serão encaminhados ao dentista, assim como pacientes com controle glicêmico inadequado devido à doença periodontal não tratada, terão tratamento mais precocemente, evitando assim a progressão da doença e o aparecimento de complicações relacionado ao diabetes (VERGNES *et al.*, 2010; LALLA *et al.*, 2011; PRESHAW *et al.*, 2010).

Atenção profissional deveria ser dada a relação entre saúde bucal e sistêmica. É essencial para ambos os dentistas clínicos gerais e especialistas entenderem a relação entre diabetes mellitus e a doença periodontal. Programas de educação continuada e o encorajamento de intercâmbio de conhecimento entre dentistas e médicos são extremamente importantes para efetivamente prevenir, administrar e controlar ambos o diabetes e a doença periodontal. Nossos dados sugerem, portanto, que prevenção, tratamento precoce de manifestações bucais aliados à criação de hábitos saudáveis de alimentação e de higiene bucal em crianças pequenas devem ser considerados procedimentos padrão na rotina destas crianças, assim como visitas regulares ao dentista, no intuito de promover saúde e evitar complicações futuras relacionadas ao diabetes. Além disso, evidência científica sugere que tratamentos de infecções periodontais influenciam o controle glicêmico de adultos com diabetes (VERGNES, 2010). Isto se torna importante na criação de hábitos saudáveis desde a infância, já que durante a adolescência, é a fase que os diabéticos mais têm dificuldade de controlar a doença, sofrendo as complicações decorrentes do descontrole.

O fato de que as crianças diabéticas necessitam de monitoramento regular dos níveis de glicose e múltiplas aplicações de insulina diariamente, um método não invasivo e que não submete o paciente ao estresse da agulha na aferição da glicose, melhoraria a qualidade de vida desses pacientes e evitaria o estresse do monitoramento invasivo da glicemia capilar. Além disso, um instrumento que pudesse aferir a glicose através da saliva poderia ser utilizado para fazer o diagnóstico de um grande número de pessoas que continuam não-diagnosticadas (MOON-KANAMORI *et al.*, 2014). Nosso estudo mostrou que o perfil salivar de crianças diabéticas controladas não diferiu significativamente das crianças saudáveis e que o controle adequado e a manutenção dos níveis glicêmicos influenciam a saúde bucal e a composição salivar. A maioria das crianças apresentavam níveis de HbA1C adequados, o que é comum nessa faixa etária estudada, já que os pais dão atenção integral às crianças, que são totalmente dependentes dos seus responsáveis.

CONCLUSÕES

A saúde bucal, o perfil salivar e a experiência de tratamento odontológico foram diferentes entre os diabéticos e os saudáveis e os níveis de Hb1Ac elevados demonstrou influenciar todas as variáveis estudadas, já que os pacientes diabéticos descontrolados diferiram dos pacientes com diabetes controlado.

- A saúde bucal de crianças com diabetes mellitus tipo 1 demonstrou menores índices de cárie dental entre crianças com $ceo \geq 1$, eram mais livres de cárie ($ceo=0$), assim como apresentavam mais língua geográfica, relataram mais hálito cetônico e xerostomia do que as crianças clinicamente saudáveis;
- A composição salivar através de concentrações de cálcio, glicose, proteína total e perfil de metabólitos salivares de crianças com diabetes mellitus tipo 1 descontroladas ($Hb1Ac > 8.5\%$) diferiu das crianças clinicamente saudáveis e das crianças diabéticas controladas ($Hb1Ac < 8.5\%$);
- Os metabólitos que mais alteraram entre os diabéticos foram o lactato, acetato, n-acetil-açúcar e outros da região do açúcar. Os pacientes com níveis de glicemia elevados no momento da coleta salivar demonstraram ter o perfil mais diferente dos saudáveis.
- O acesso ao tratamento odontológico de crianças com diabetes mellitus tipo 1 é deficiente, assim como a experiência odontológica destas crianças foi diferente das crianças clinicamente saudáveis;
- O conhecimento dos profissionais e estudantes de odontologia sobre diabetes mellitus foi adequado e as condutas no atendimento de pacientes diabéticos no consultório odontológico foram apropriadas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIKSHYEET P, RAMESH V, AND OZA N. Glucose Estimation In The Salivary Secretion of diabetes mellitus patients. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**. 2012;5:149-154.

ADA - American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2014. **Diabetes Care**. Volume 37, Supplement 1, January 2014.

AGRAWAL RP, SHARMA N, RATHORE MS, GUPTA VB, JAIN S, *ET AL*. Noninvasive Method for Glucose Level Estimation by Saliva. **J Diabetes Metab** (2013) 4: 266. doi:10.4172/2155-6156.1000266

AL-KHABBAZ AK, AL-SHAMMARI KF. Diabetes mellitus and periodontal health: dentists' knowledge. **Med Princ Pract**. 2011;20(6):538-44.

AL-KHABBAZ AK, AL-SHAMMARI KF, AL-SALEH NA. Knowledge about the association between periodontal diseases and diabetes mellitus: contrasting dentists and physicians. **J Periodontol**. 2011 Mar;82(3):360-6.

AL-MASKARI, *ET AL*. Oral Manifestations and Complications of Diabetes Mellitus. **SQU Med J**; 11(2):179-186. 2011.

AL-ZAHRANI MS *ET AL*. Self reported halitosis in relation to glycated hemoglobin level in diabetic patients. **Open Dent J**. 2011;5:154-7.

AMARAL, FÁBIO M. FRANCO DO; RAMOS, PATRÍCIA G. DE A.; FERREIRA, SANDRA ROBERTA G. Study on the frequency of caries and associated factors in type 1 diabetes mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 50, n. 3, June 2006.

AYDIN S. A comparison of ghrelin, glucose, alpha-amylase and protein levels in saliva from diabetics. **J Biochem Mol Biol**. 2007 Jan 31;40(1):29-35.

BANDHAKAVI, MATTHEW D. STONE, GETIRIA ONSONGO, SUSAN K. VAN RIPER, AND TIMOTHY J. GRIFFIN J. A dynamic range compression and three-dimensional peptide fractionation analysis platform expands proteome coverage and the diagnostic potential of whole saliva. **Proteome Res**. 2009 December ; 8(12): 5590–5600.

BARBA, GARCIA-RAMÍREZ, HERNÁNDEZ, ALONSO, MASMIQUEL, GARCÍA-DORADO, SIMÓ. Metabolic fingerprints of proliferative diabetic retinopathy: an 1H-NMR-based metabolomic approach using vitreous humor. **Invest Ophthalmol Vis Sci**. 2010 Sep;51(9):4416-21.

BARNES *et al*. Global metabolomic analysis of human saliva and plasma from healthy and diabetic subjects, with and without periodontal disease. **PLoS One**. 2014 Aug 18;9(8):e105181.

- BASSIR L *et al.* Relationship between dietary patterns and dental health in type I diabetic children compared with healthy controls. **Iran Red Crescent Med J.** 2014 Jan;16(1):e9684.
- BASTOS, A.S.; LEITE, A.R.P.; SPIN-NETO R.; NASSAR, P.O.; MASSUCATO, E.M.S.; ORRICO, S.R.P. Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: Prevalence and risk factors. **Diabetes research and clinical practice**; 92:100–105. 2011.
- BELAZI MA, GALLI-TSINOPOULOU A, DRAKOULAKOS D, FLEVA A, PAPANAYIOTOU PH. Salivary alterations in insulin-dependent diabetes mellitus. **Int J Paediatr Dent**; 8: 29-33. 1998.
- BEN ARYEH H, SEROUYA R. KANTER Y *ET AL.* Oral health and salivary composition in diabetic patients. **J Diabetes Complication** 1993; 7(1):57-62.
- BERNINI, P., I. BERTINI, C. LUCHINAT, S. NEPI, E. SACCENTI. Individual human phenotypes in metabolic space and time. **J Proteome Res**, v.8, n.9, p.4264-71. 2009.
- BERTRAM, H. C., N. EGGERS, *ET AL.* Potential of human saliva for nuclear magnetic resonance-based metabolomics and for health-related biomarker identification. **Anal Chem** 81(21): 9188-9193. 2009.
- BJELLAND, P BRAY, N GUPTA, R HIRSCH. Dentists, diabetes and periodontitis. **Australian Dental Journal**;47:(3):202-207. 2002.
- BLAIKIE *ET AL.* Comparison of breath gases, including acetone, with blood glucose and blood ketones in children and adolescents with type 1 diabetes **J. Breath Res.** 8 2014.
- BOYD LD, HARTMAN-CUNNINGHAM ML. Survey of diabetes knowledge and practices of dental hygienists. **J Dent Hyg.** 2008 Fall;82(5):43.
- BRASIL. Pesquisa Nacional sobre Saúde bucal. **SB-BRASIL - 2010.** Ministério da Saúde, Brasil.
- BRINDLE, J. T., H. ANTTI, *ET AL.* Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics. **Nat Med** 8(12): 1439-1444. 2002.
- BUSATO IM *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 Mar;109(3):e51-6.
- CABRAS T, *ET AL.* Alterations of the salivary secretory peptidome profile in children affected by type 1 diabetes. **Mol Cell Proteomics**; 9(10):2099-2108. 2010.
- CASTAGNOLA, *ET AL.* Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. **ACTA otorhinolaryngologica italica**; 31:347-357. 2011.

CHIAPPIN S, ANTONELLI G, GATTI R, DE PALO EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica chimica acta; International Journal of Clinical Chemistry* 2007;383:30-40.

CHU, D. S., H. LIU, P. NIX, T. F. WU, E. J. RALSTON. Sperm chromatin proteomics identifies evolutionarily conserved fertility factors. **Nature**, v.443, n.7107, p.101-5. 2006.

CONSENSUS COMMITTEE: Consensus statement on the worldwide standardization of the hemoglobin A1C measurement: the American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. **Diabetes Care** 30:2399–2400, 2007.

COSTA *et al.* Manifestações bucais em crianças com diabetes e suas variáveis de correlação. **Arq Bras Endocrinol Metab**; 48(3):374-378. 2004.

CULEDDU *et al.* NMR-based metabolomic study of type 1 diabetes. **Metabolomics**; 8(6):1162-1169. 2012.

DARWAZEH AM, MACFARLANE TW, MCCUIISH A, LAMEY PJ. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. **J Oral Pathol Med**. 1991 Jul;20(6):280-3.

DALE J, LINDENMEYER A, LYNCH E, SUTCLIFFE P. Oral health: a neglected area of routine diabetes care? **British Journal of General Practices**. 2014 Feb;64(619):103-4.

DEURENBERG, P., M. DEURENBERG YAP, *ET AL.* The impact of body build on the relationship between body mass index and percent body fat. **Int J Obes Relat Metab Disord**; 23(5):537-542.1999.

DUDKO A, KURNATOWSKA AJ, KURNATOWSKI P. Prevalence of fungi in cases of geographical and fissured tongue. **Ann Parasitol**. 2013;59(3):113-7.

EL-TEKEYA M *et al.* Caries risk indicators in children with type 1 diabetes mellitus in relation to metabolic control. **Pediatr Dent**. 2012 Nov-Dec;34(7):510-6.

FIDALGO TKS, FREITAS-FERNANDES LB, ANGELI R, MUNIZ AMS, GONSALVES E, SANTOS R, *ET AL.* Salivary metabolite signatures of children with and without dental caries lesions. **Metabolomics** 2013;9:657-66.

FIEHN, O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. **Plant Mol Biol**, v.48, n.1-2, p.155-71. 2002.

FOX PC, BUSCH KA, BAUM BJ. Subjective reports of xerostomia and objective measures of salivary gland performance. **J Am Dent Assoc**. 1987 Oct;115(4):581-4.

FOXALL, P. J., G. J. MELLOTTTE, M. R. BENDING, J. C. LINDON & J. K. NICHOLSON. NMR spectroscopy as a novel approach to the monitoring of renal transplant function. **Kidney Int.** 1993, 43, 234–45.

GALE, E. The rise of childhood type 1 diabetes in 20th century. **Diabetes**, vol. 24- 51, December 2002.

GAMZEN AREN *ET AL.* Periodontal Health, Salivary Status, and metabolic control in children with type 1 diabetes mellitus. **J periodontol.** December 2003.

GARCIA, J. M., V. GARCIA, C. PENA, G. DOMINGUEZ, J. SILVA. Extracellular plasma RNA from colon cancer patients is confined in a vesicle-like structure and is mRNA-enriched. **Rna**, v.14, n.7, p.1424-32. 2008.

GROOTVELD, M. e C. J. SILWOOD. 1H NMR analysis as a diagnostic probe for human saliva. **Biochem Biophys Res Commun**, v.329, n.1, p.1-5. 2005.

HEGDE MN, TAHILIANI D, SHETTY S, DEVADIGA D. Salivary alkaline phosphatase and calcium in caries-active type II diabetes mellitus patients: An in vivo study. **Contemp Clin Dent.** 2014 Oct;5(4):440-4.

HULLAND SA, LUCAS JO, WAKE MA, HESKETH KD. Eruption of the primary dentition in human infants a prospective descriptive study. **Pediatr Dent**; 22:415-421.2000.

HUST, M., T. MEYER, B. VOEDISCH, T. RULKER, H. THIE. A human scFv antibody generation pipeline for proteome research. **J Biotechnol**, v.152, n.4, p.159-70. 2011.

HWANG T.L., SHAKA A.J., Water suppression that works. Excitation sculpting using arbitrary waveforms and pulsed field gradients, **J. Magn. Reson. Ser. A** 112 (1995) 275-279.

ISSAQ, H. J., Q. N. VAN, T. J. WAYBRIGHT, G. M. MUSCHIK e T. D. VEENSTRA. Analytical and statistical approaches to metabolomics research. **J Sep Sci**, v.32, n.13, p.2183-99. 2009.

ISPAD - International Society For Pediatric And Adolescent Diabetes. Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. **Pediatric Diabetes** 2014: 15(Suppl. 20).

ITO, K., S. FUNAYAMA, Y. HITOMI, S. NOMURA, K. KATSURA. Proteome analysis of gelatin-bound salivary proteins in patients with primary Sjogren's syndrome: identification of matrix metalloproteinase-9. **Clin Chim Acta**, v.403, n.1-2, p.269-71. 2009.

JURYSTA C, BULUR N, OGUZHAN B, *ET AL.* Salivary Glucose Concentration and Excretion in Normal and Diabetic Subjects. **Journal of Biomedicine and Biotechnology** 2009:430426.

JAWED M, KHAN RN, SHAHID SM, AZHAR A. Protective effects of salivary factors in dental caries in diabetic patients of Pakistan. **Exp Diabetes Res.** 2012;947304. doi: 10.1155/2012/947304. Epub 2012 Jun 24.

JAWED M, SHAHID SM, QADER SA, AZHAR A. Dental caries in diabetes mellitus: role of salivary flow rate and minerals. **J Diabetes Complications.** 2011 May-Jun;25(3):183-6.

JOLLIFFE, I. T. **Principal component analysis.** New York, Springer-Verlag. 2002.

KARJALAINEN, Periodontal diseases, dental caries, and saliva in relation to clinical characteristics of type 1 diabetes. **Academic Dissertation**, University of Oulu, 2002, <http://herkules.oulu.fi/isbn9514256395/>.

KARJALAINEN KM *ET AL.* Relationship between caries and level of metabolic balance in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. **Caries Res.** 1997;31(1):13-18.

KILLOP, A.M; FLATT, P.R. Emerging Applications of Metabolomic and Genomic Profiling in Diabetic Clinical Medicine. **Diabetes Care;** 34:2624–2630. 2011.

KUNZEL C, LALLA E, ALBERT DA, YIN H, LAMSTER IB. On the primary care frontlines: the role of the general practitioner in smoking-cessation activities and diabetes management. **JADA** (August 2005) 136(8):1144-53; quiz 1167.

KUNZEL C, LALLA E, LAMSTER I. Management of the patient who smokes and the diabetic patient in the dental office. **J Periodontol.** 2006 Mar;77(3):331-40.

KUNZEL C, LALLA E, LAMSTER I. Dentists' management of the diabetic patient: contrasting generalists and specialists. **Am J Public Health.** 2007 Apr;97(4):725-30.

LALLA E, LAMSTER IB, DRURY S, FU C, SCHMIDT AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including Diabete-associated periodontitis. **Periodontol 2000;** 23: 50-62. 2000.

LALLA E, CHENG B, LAL S, KAPLAN S, SOFTNESS B, GREENBERG E, GOLAND RS, LAMSTER IB. Diabetes mellitus promotes periodontal destruction in children. **J Clin Periodontol.** 2007 Apr;34(4):294-8.

LALLA E, Papapanou PN Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. **Nat Rev Endocrinol** (2011) 7:738–748.

LAMSTER *ET AL.* The Relationship of Periodontal Disease to Diseases and Disorders at Distant Sites -Communication to Health Care Professionals and Patients. **JADA** (October 2008) 139,1389-1397.

LASISI T.J., FASANMADE A.A. Comparative Analysis Of Salivary Glucose And Electrolytes In Diabetic Individuals With Periodontitis. **Ann Ibd.** Pg. Med 2012. Vol.10, No.1 25-30.

LEE Y-H, WONG DT. Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. **American Journal of Dentistry** 2009;22(4):241-248.

LEMOYEC L, ROBERT C, TRIBA MN, BILLAT VL, MATA X, SCHIBLER L, BARREY E. Protein catabolism and high lipid metabolism associated with long-distance exercise are revealed by plasma NMR metabolomics in endurance horses. **PLoS One.** 2014 Mar 21;9(3):e90730.

LINDON JC, HOLMES E, BOLLARD ME, STANLEY EG, NICHOLSON JK. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis. **Biomarkers** 2004;9:1-31.

LIU, J. E Y. DUAN. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. **Oral Oncol**, v.48, n.7, p.569-77. 2012

LÓPEZ DEL VALLE LM, OCASIO-LÓPEZ 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.**;30(3):123-7.2011.

NICHOLAS JK. The Bradford Method For Protein Quantitation. In: John MW (ed.), **The Protein Protocols Handbook** (3rd Ed.). (2009) Humana Press, New York.

MALICKA, BARBARA *ET AL.* Selected antibacterial factors in the saliva of diabetic patients. **Archives of Oral Biology**, March 2015. Volume 60 , Issue 3 , 425 – 431.

MANDEL, I. D. Salivary diagnosis: more than a lick and a promise. **J Am Dent Assoc**, v.124, n.1, p.85-7. 1993.

MASCARENHAS *ET AL.* Effect of diabetes mellitus type 2 on salivary glucose--a systematic review and meta-analysis of observational studies. **PLoS One.** 2014 Jul 15;9(7).

MATA AD, MARQUES D, ROCHA S, FRANCISCO H, SANTOS C, MESQUITA MF, *ET AL.* Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. **Mol Cell Biochem** 2004; 261: 137-142.

MOHAMED K, YATES J, ROBERTS A. Diabetes mellitus: considerations for the dental practitioner. **Dent Update.** 2014 Mar;41(2):144-6, 149-50, 153-4.

MOOK-KANAMORI DO, SELIM MM, TAKIDDIN AH, AL-HOMSI H, AL-MAHMOUD KA, AL-OBAIDLI A, ZIRIE MA *et al.* 1,5-Anhydroglucitol in saliva is a noninvasive marker of short-term glyceemic control. **J Clin Endocrinol Metab.** 2014 Mar;99(3):E479-83.

- MOORE PA *et al.* Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** 2001 Sep;92(3):281-91.
- MOREIRA *et al.* Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. **Braz J Med Biol Res.**; 42(8) 707-711. 2009.
- MORZEL *et al.* Saliva electrophoretic protein profiles in infants: Changes with age and impact of teeth eruption and diet transition. **Archives of Oral Biology**; 56:634-642. 2011.
- NAVAZESH M, CHRISTENSEN C, BRIGHTMAN V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. **J Dent Res** 1992; 71: 1363-1369.
- NAVAZESH, M. Methods for collecting saliva. **Ann N Y Acad Sci**, v.694, p.72-7. 1993.
- NAVAZESH, M. e S. K. KUMAR. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. **J Am Dent Assoc**, v.139 Suppl, p.35S-40S. 2008.
- NEGRATO CA, TARZIA O. Buccal alterations in diabetes mellitus. **Diabetol Metab Syndr.** 2010 Jan 15;2:3.
- NICHOLSON, J. K., E. HOLMES, J. M. KINROSS, A. W. DARZI, Z. TAKATS. Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments. **Nature**, v.491, n.7424, p.384-92. 2012.
- NICHOLSON, J. K. e J. C. LINDON. Systems biology: Metabonomics. **Nature**, v.455, n.7216, p.1054-6. 2008.
- O'LEARY TJ, DRAKE RB, NAYLOR JE. The plaque control record. **J Periodontol**;43:38.1972.
- ORESIC *ET AL.* Dysregulation of lipid and amino acid metabolism precedes islet autoimmunity in children who later progress to type 1 diabetes. **J Exp Med.** 2008 Dec 22;205(13):2975-84. doi: 10.1084/jem.20081800. Epub 2008 Dec 15.
- PARK, N. J., H. ZHOU, D. ELASHOFF, B. S. HENSON, D. A. KASTRATOVIC. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. **Clin Cancer Res**, v.15, n.17, p.5473-7. 2009.
- PFAFFE T, COOPER-WHITE J, BEYERLEIN P, KOSTNET K, PUNYADEERA C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. **Clin Chem.** May 2011;57(5):675-687.
- PIOTTO, M., V. SAUDEK, *ET AL.* Gradient-tailored excitation for single-quantum NMR spectroscopy of aqueous solutions. **J Biomol NMR**; 2(6): 661-665.1992.

PRESHAW PM, ALBA AL, HERRERA D, *ET AL.* Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. ***Diabetologia*** (2012) 55:21–31.

QIAO Y *ET AL.* Breath ketone testing: a new biomarker for diagnosis and therapeutic monitoring of diabetic ketosis. ***Biomed Res Int.*** 2014:869186.

RAI K, HEGDE AM, KAMATH A, SHETTY S. Dental caries and salivary alterations in Type I Diabetes. ***J Clin Pediatr Dent.*** 2011 Winter;36(2):181-4.

RAJESH V. LALLA; JOSEPH A. D'AMBROSIO. Dental Management Considerations For The patient with diabetes mellitus. ***JADA*** (October 2001) Vol. 132.

RANKIN D *et al.* Pathways to diagnosis: a qualitative study of the experiences and emotional reactions of parents of Children diagnosed with type 1 diabetes. ***Pediatr Diabetes.*** 2014 Feb 19.

RATHNAYAKE N, ÅKERMAN S, KLINGE B, *ET AL.* Salivary Biomarkers for Detection of Systemic Diseases. Goletti D, ed. ***PLoS ONE*** 2013;8(4):e61356. doi:10.1371/journal.pone.0061356.

SAINI R, AL-MAWERI SA, SAINI D, ISMAIL NM, ISMAIL AR. Oral mucosal lesions in non oral habit diabetic patients and association of diabetes mellitus with oral precancerous lesions. ***Diabetes Res Clin Pract.*** 2010 Sep;89(3):320-6.

SANDBERG GUN E., HANS E. SUNDBERG, CARL A. FJELLSTROM, KARIN F. WIKBLAD. Type 2 diabetes and oral health: A comparison between diabetic and non-diabetic subjects. ***Diabetes Research and Clinical Practice;*** 50:27–34.2000.

SARTORE G, CHILELLI NC, BURLINA S, DI STEFANO P, PIARULLI F, FEDELE D, MOSCA A, LAPOLLA A. The importance of HbA1c and glucose variability in patients with type 1 and type 2 diabetes: outcome of continuous glucose monitoring (CGM). *Acta Diabetol.* 2012 Dec;49 Suppl 1:S153-60.

SASHIKUMAR R, KANNAN R. Salivary glucose levels and oral candidal carriage in type II diabetics. ***Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*** 2010 May;109(5):706-11. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.12.042.

SCHWARTZ SS, ZHU WX, SREEBNY LM. Sodium dodecyl Sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis of human whole saliva. ***Arch Oral Biol.*** Oct 1995;40(10):949-958.

SEWÓN LA, KARJALAINEN SM, SÖDERLING E, LAPINLEIMU H, SIMELL O. Associations Between Salivary Calcium And Oral Health. ***J Clin Periodontol.*** 1998 Nov;25(11 Pt 1):915-9.

SEWÓN L, SÖDERLING E, KARJALAINEN S. Comparative study on mineralization-related intraoral parameters in periodontitis-affected and periodontitis-free adults. ***Scand J Dent Res.*** 1990 Aug;98(4):305-12.

SILWOOD, C. J., E. LYNCH. ¹H and (¹³C) NMR spectroscopic analysis of human saliva. **J Dent Res** 81(6): 422-427. 2002.

SIUDIKIENE J, MACHIULSKIENE V, NYVAD B, TENOVUO J, NEDZELSKIENE I. Dietary and oral hygiene habits in children with type I diabetes mellitus related to dental caries. **Stomatologia**. 2005;7(2):58-62.

SIUDIKIENE J, MACHIULSKIENE V, NYVAD B, TENOVUO J, NEDZELSKIENE I. Dental caries and salivary status in children with type 1 diabetes mellitus, related to the metabolic control of the disease. **Eur J Oral Sci**; 114(1):8-14. 2006.

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.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diagnóstico e Tratamento do Diabetes tipo 1. **Pronunciamento oficial da SBD**. 2012.

SÖDERSTRÖM U, ÅMAN J, HJERN A. Being born in Sweden increases the risk for type 1 diabetes – a study of migration of children to Sweden as a natural experiment. **Acta Pædiatrica**; 101:73–77.2012.

SOGA, T., M. SUGIMOTO, M. HONMA, M. MORI, K. IGARASHI. Serum metabolomics reveals gamma-glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease. **J Hepatol**, v.55, n.4, p.896-905. 2011.

STANISLAW DEJA *ET AL*. ¹H NMR-based metabolomics studies of urine reveal differences between type 1 diabetic patients with high and low HbA_{1c} values. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**.

STRECKFUS, C. F. e W. P. DUBINSKY. Proteomic analysis of saliva for cancer diagnosis. **Expert Rev Proteomics**, v.4, n.3, p.329-32. 2007.

SILWOOD, C. J., E. LYNCH, *ET AL*. ¹H and (¹³C) NMR spectroscopic analysis of human saliva. **J Dent Res** 81(6): 422-427. 2002.

STRECKFUS CF, BIGLER LR, ZWICK M. The use of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry to detect putative breast cancer markers in saliva: a feasibility study. **J Oral Pathol Med** 2006;35:292-300.

SUHRE K, MEISINGER C, DÖRING A, ALTMAIER E, BELCREDI P, *ET AL*. (2010) Metabolic Footprint of Diabetes: A Multiplatform Metabolomics Study in an Epidemiological Setting. **PLoS ONE** 5(11): e13953.

SUNG J, WANG Y, CHANDRASEKARAN S, WITTEN DM, PRICE ND. Molecular signatures from omics data: from chaos to consensus. **Biotechnology journal** 2012;7:946-57.

SWANLJUNG O., MEURMAN JH., TORKKO H., SANDHOLM L., KAPRIO E. & MAENPAA J. Caries and saliva in 12-18-year-old diabetics and controls. *Scand J Dent Res*, Vol. 100, No.6, (1992). (dec), pp. (310- 313).

TAKAHASHI N, WASHIO J, MAYANAGI G. Metabolomics of supragingival plaque and oral bacteria. *Journal of Dental Research* 2010;89:1383-8.

TAGELSIR A *ET AL*. Dental caries and dental care level (restorative index) in children with diabetes mellitus type 1. *Int J Paediatr Dent*. 2011 Jan;21(1):13-22.

TWETMAN S *ET AL*. Caries incidence in young type 1 diabetes mellitus patients in relation to metabolic control and caries-associated risk factors. *Caries Res*. 2002 Jan-Feb;36(1):31-529.

THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *J Pediatr* 1994; 125:177-188.

THE INTERNATIONAL DENTAL FEDERATION: Oral Health and Diabetes Symposium. 2007; available at: <http://www.idf.org/guidelines/diabetes-and-oral-health>.

THEPWONGSA I, KIRBY C, PAUL C, PITERMAN L. Management of type 2 diabetes: Australian rural and remote general practitioners' knowledge, attitudes, and practices. *Rural and Remote Health* 14: 2499. (Online) 2014. Available: <http://www.rrh.org.au>.

VASCONCELOS A, SOARES MS, ALMEIDA PC, AND SOARES TC. Comparative study of the concentration of salivary and blood glucose in type 2 diabetic patients. *Journal of Oral Science*, Vol. 52, No. 2, 293-298, 2010.

VERGNES JN. Treating periodontal disease may improve metabolic control in diabetics. *Evid Based Dent*. 2010;11(3):73-4.

YAN *ET AL*. Systematic comparison of the human saliva and plasma proteomes. *Proteomics Clin Appl*. Jan 1 2009;3(1):116-134.

WYSOCKI GP, DALEY TD. Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1987 Jan;63(1):68-70.

WONG, D. Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *JADA*;137:313-321. 2006.

WONG DT. Salivary Diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *J Am Dent Assoc*. Mar 2006;137(3):313-321.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Screening for Type 2 Diabetes Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation meeting. Geneva: **World Health Organization**, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 4th ed. Geneva: WHO; 1997. **Oral Health Surveys Basic Methods**; pp. 760–871.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Part 1: Diagnosis and classification and its complications of diabetes mellitus. Geneva. 1999 (2003).

WORLD MEDICAL ASSOCIATION. **WMA Declaration of Helsinki** – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 2013.

ZHANG L, XIAO H, KARLAN S, ZHOU H, GROSS J, ELASHOFF D, *ET AL*. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. **PLoS One** 2010;5:e15573.

ZHANG A., SUN H., WANG X. Saliva Metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis and treatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 168(6):1718-1727.2012.

ZHANG, A., H. SUN, *ET AL*. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. **Analyst** 137(2): 293-300. 2012.

ZUPPI C, MESSANA I, TAPANAINEN P, KNIP M, VINCENZONI F, GIARDINA B, NUUTINEN M. Proton nuclear magnetic resonance spectral profiles of urine from children and adolescents with type 1 diabetes. **Clin Chem.** 2002;48(4):660-2.

6 ANEXOS

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
(HUCFF/ UFRJ)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PERFIL METABÓLICO SALIVAR E CONDIÇÕES DE SAÚDE BUCAL EM CRIANÇAS COM DIABETES MELLITUS TIPO 1

Pesquisador: Livia Roberta Piedade de Oliveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 18575813.4.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 482.780

Data da Relatoria: 28/11/2013

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

- 1) De acordo com o item VII.13.d, da Resolução CNS n.º 466/12, o pesquisador deverá apresentar relatórios anuais (parciais ou finais, em função da duração da pesquisa).
- 2) Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa, ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada.

RIO DE JANEIRO, 07 de Dezembro de 2013

Assinador por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

ANEXO 2 – TCLE – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado responsável

A Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro está realizando um estudo sobre saúde bucal de crianças com diabetes mellitus tipo 1 e também crianças saudáveis. Para isso, será realizada uma entrevista com o responsável pela criança a fim de preencher um formulário. Nas crianças com diabetes mellitus tipo 1 será feita uma consulta ao prontuário médico da criança no IPPMG. Em todas as crianças serão feitos exames da cavidade bucal e coleta de saliva, que será realizada de forma simples com a criança acomodada no colo da mãe. O dentista vai examinar como está a boca da criança e observar todos os dentes. Depois vai coletar saliva usando um coletor parecido com um algodão que ficará dentro da boca da criança até conseguirmos um pouco de saliva.

Os responsáveis receberão instrução de higiene bucal para a criança, assim como uma escova e pasta de dente sem flúor. Os exames e a instrução de higiene serão realizados na Clínica de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia da UFRJ, que fica próxima ao IPPMG. Caso seja necessário, serão realizadas fotografias, sempre preservando o anonimato do paciente.

A coleta dos dados não trará qualquer prejuízo para a saúde dos participantes, sendo estas informações mantidas em sigilo e usadas apenas pelos pesquisadores. Os dados ficarão sob a guarda da pesquisadora responsável durante 5 anos. A participação da criança é voluntária. Caso o responsável pela criança e/ou o próprio paciente desista de participar do trabalho, os autores se comprometem a não utilizar seus dados, bastando para tanto, informar a autora deste trabalho.

Aqueles pacientes que, durante o exame da cavidade bucal, apresentarem necessidade de tratamento odontológico serão agendados para atendimento na Clínica de Odontopediatria da FO/UFRJ.

Qualquer dúvida ou informação poderá ser fornecida pela pesquisadora responsável, Dra. Livia Oliveira, através do telefone (21)2562-2101. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/HUCFF/UFRJ – R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, n.º 255 – Cidade Universitária/Ilha do Fundão - Sala 01D-46/1º andar - pelo telefone 2562-2480, de segunda a sexta-feira, das 8 às 15 horas, ou através do e-mail: cep@hucff.ufrj.br; Caso seja de interesse do participante, os resultados lhes serão enviados tão logo

a pesquisa seja concluída. Além disso, estes ficarão disponíveis na biblioteca do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ localizado na Cidade Universitária, Ilha do Fundão – Rio de Janeiro, RJ.

CONSENTIMENTO

Eu, _____,
responsável pelo (a) menor, _____,
acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.

Eu discuti com a Dra Livia Oliveira sobre a minha decisão quanto a participação do(a) _____ nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento odontológico quando necessário. Concordo voluntariamente com a participação do meu filho(a)/ente neste estudo, ciente de que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na ultima folha.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 2013.

Assinatura do Responsável

RG do Responsável

Livia Roberta Piedade de Oliveira
Mestranda em Odontopediatria – FO/UFRJ
Pesquisadora responsável

ANEXO 3

PRONTUÁRIO DOS PACIENTES DO GD E GS – ESTUDO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

Data: ___/___/___

Nome: _____ Cód: _____

Endereço: _____

_____ CEP: _____ Tel: () _____

Tel (rec): _____ Data de nascimento: ___/___/___ Sexo: () Fem () Masc

Filiação: _____

Condição Sistêmica

1. IPPMG no.: _____
2. Apresenta algum comprometimento sistêmico? () Não () Sim Qual? _____
3. Em caso de diabetes mellitus tipo 1, em que idade foi diagnosticada a doença? _____
4. Etiologia: _____
5. Condição médica: _____
6. Há histórico de ocorrência de complicações relacionadas à diabete? () Não () Sim Qual? _____
7. Costuma apresentar algum dos seguintes sintomas? poliúria, polidipsia, vista turva, perda de peso, glicosúria, cetonúria Frequência: _____
8. Valores de glicemia e de hemoglobina glicada: _____
9. Histórico familiar: _____
10. Tipo de tratamento: _____
11. Início do tratamento (idade): _____
12. Faz uso de insulina? () Não () Sim
13. Data da primeira aplicação de insulina: _____
14. Medicação (e posologia): _____
15. Sintomas durante a hiperglicemia: _____
16. Sintomas durante a hipoglicemia: _____
17. Data do último exame de sangue: _____
18. Data da próxima consulta: _____

Hábitos Alimentares

19. Aleitamento natural; aleitamento artificial _____ Horário: _____
20. Legumes, verduras, arroz, feijão, massas, carne, frango, peixe
21. Pão, bolo, biscoito doce, biscoito salgado, biscoito recheado, pizza, sanduíche/hambuguer salgadinho, fruta
22. Bala, chocolate, pirulito, chiclete, _____ Frequência: _____
23. Iogurte, leite, suco, refrigerante
24. Outros: _____

Hábitos higiênicos

1. A criança costuma fazer higiene bucal? () Não () Às vezes () Sim Frequência: _____
2. Como é realizada a higiene bucal da criança? () Escova () Gaze () Dedeira () Fio dental () Pasta de dente (sem flúor, infantil com flúor, infantil sem flúor) () bochechos _____
3. Quem faz a higiene bucal da criança? () A própria () Responsável () Outros _____
4. Com que idade começou a fazer a higiene bucal da criança? _____
5. Já recebeu orientação sobre higiene bucal da criança? () Não () Sim Por quem? _____ Quando? _____
6. Alguém te recomendou levar seu filho ao dentista? () nunca () sim Quem? () médico () enfermeiro () professor () conhecido () outros _____
7. Já recebeu da equipe médica algum tipo de orientação quanto a saúde bucal? () Não () Sim Qual? _____ Quem? _____

História Odontológica

8. A criança já foi ao dentista? () Não () Sim
9. Com que idade foi a primeira consulta dentária? _____
10. Qual foi o motivo da visita ao dentista? () Convite da pesquisadora () Dor de dente () Problemas de gengiva () Limpeza () Dentes manchados () Cárie () Extrair dente () Flúor () Outros
11. Tipo de tratamento odontológico já realizado? () não sabe () restauração () remoção de tártaro () limpeza () extração dentária () curativo () tratamento de canal () flúor () cirurgia
12. Qual a última vez que foi ao dentista? _____
13. Você costuma falar para o dentista que a criança tem diabetes? () Não () Sim
14. Já houve alguma intercorrência durante o tratamento odontológico? () Não () Sim Qual? _____
15. Com que idade começaram a *nascer os dentes de leite*? _____
16. A criança se queixa de sensação de boca seca? () Não () Sim

EXAME BUCAL

Fluxo salivar: _____ mL/min

Data: ___/___/___

Índice de Placa

	D	V	M	P		M	V	D	P
55					65				
54					64				
53					63				
52					62				
51					61				
	D	V	M	L		M	V	D	L
85					75				
84					74				
83					73				
82					72				
81					71				

Índice de Cálculo

	D	V	M	P		M	V	D	P
55					65				
54					64				
53					63				
52					62				
51					61				
	D	V	M	L		M	V	D	L
85					75				
84					74				
83					73				
82					72				
81					71				

Índice de cárie

55		65	
54		64	
53		63	
52		62	
51		61	
85		75	
84		74	
83		73	
82		72	
81		71	

OBSERVAÇÕES: _____

ANEXO 4 – QUESTIONÁRIO DO ESTUDO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE ODONTOPEDIATRIA

Prezado(a) colega,

Com a intenção de estudar a conduta de cirurgiões-dentistas e acadêmicos de odontologia em relação ao tratamento de pacientes diabéticos, solicito sua colaboração no sentido de responder este questionário que apresentará contribuição fundamental para o estudo. Sua participação é voluntária e a não adesão não acarretará em punição alguma.

Antecipadamente agradeço a colaboração.

Caroline Ida Iuliano Renda – Graduanda em Odontologia – FO/UFRJ

Lívia Oliveira – Mestranda em Odontopediatria – FO/UFRJ

Profa. Dra. Carla Martins – Profa. Auxiliar do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia - FO/UFRJ

Profa. Dra. Ivete Pomarico Ribeiro de Souza – Profa. Titular do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia – FO/UFRJ

1. **Idade:** _____ anos
2. **Sexo:** () feminino () masculino
3. **Ocupação:**
 Cirurgião-dentista Tempo de formado? _____
 Acadêmico Período: _____
4. Possui alguma **especialidade**?
 Não () Sim Qual? _____
5. **Local de trabalho:**
 Consultório particular () Serviço público () Faculdade
6. **Atende** pacientes com necessidades especiais?
 Sim () Não () Às vezes
7. Já atendeu paciente com alguma das patologias abaixo? Caso positivo, marque a(s) alternativa(s).
 Cardiopatia () Infecção respiratória () Alergia () Asma
 Bronquite () Doença renal () HIV+ () Hepatite
 Febre reumática () Diabetes () Autismo () Síndromes
8. Você seria capaz de reconhecer características bucais específicas do diabetes?
 Não () Sim. Quais?
 Alto índice de cárie () Baixo índice de cárie () Gengivite () cálculo
 Hiperplasia gengival () língua geográfica () halitose () erosão dental
9. Qual a sua conduta frente a um paciente com diabetes?
 Normal, trata como qualquer outro paciente.
 Busca maior detalhes sobre a doença durante a anamnese.
 Entra em contato com o médico do paciente.
 Recusa-se a atender pacientes com comprometimento sistêmico, preferindo encaminhar para outro profissional.

10. Você tem preferência por algum horário para o atendimento de paciente com diabetes? () Não () Sim
Caso positivo, qual o horário? () Manhã () Tarde () Noite
11. Você acredita que há, em caso de procedimentos cirúrgicos simples em pacientes diabéticos insulino- dependentes, necessidade de algum cuidado especial?
() Não, nenhum cuidado especial é necessário.
() Sim, orientar o paciente a não tomar sua dose de hipoglicemiante diário antes do procedimento cirúrgico.
() Sim, pedir ao paciente para ficar em jejum.
() Sim, diminuir a dose do hipoglicemiante diário do paciente em 50% após a cirurgia, devido à dificuldades de alimentação do paciente.
() Sim, solicitar ao endocrinologista e nutricionista parecer sobre possíveis alterações na dose do hipoglicemiante diário.
12. Qual(is) tipo(s) de situação(ões) de emergência você acredita que possa acontecer decorrente do atendimento de paciente com diabetes?
() Não sei () Nenhuma () Tontura () Pressão alta
() Falta de ar () Hipoglicemia () Alergia () Hiperglicemia
13. Quais sinais indicam que o paciente está apresentando **hipoglicemia** durante o atendimento?
() Não sei () Nenhum, não é possível diagnosticar a hipoglicemia clinicamente.
() Tontura () dor de cabeça () sonolência () agitação
() Irritação () vômito () hipotensão () Desmaio
14. O que fazer caso o paciente apresente **hipoglicemia**?
() Interromper o atendimento e aguardar até o paciente melhorar.
() Levar o paciente para o hospital.
() Oferecer açúcar para o paciente.
() Oferecer sal para o paciente.
() Oferecer leite ou água para o paciente.
15. Quais sinais indicam que o paciente está apresentando **hiperglicemia** durante o atendimento?
() Não sei () Nenhum, não é possível diagnosticar a hiperglicemia clinicamente
() Tontura () dor de cabeça () sonolência () agitação
() Irritação () vômito () dor no estomago () hipotensão
() Desmaio
16. O que fazer caso o paciente apresente **hiperglicemia**?
() Interromper o atendimento e aguardar até o paciente melhorar.
() Levar o paciente para o hospital.
() Oferecer açúcar para o paciente.
() Oferecer sal para o paciente.
() Oferecer leite ou água para o paciente.