UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA

ESTUDO DO METABOLOMA DE BIOFLUIDOS EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS E A SUA ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestra em Odontologia.

ELOÁ SOARES SILVA

SÃO PAULO

2021

UNIVERSIDADE PAULISTA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA

ESTUDO DO METABOLOMA DE BIOFLUIDOS EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS E A SUA ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestra em Odontologia, sob orientação do Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani.

ELOÁ SOARES SILVA

SÃO PAULO

2021

Silva, Eloá Soares.
Estudo do metaboloma de biofluidos em pacientes com diabetes mellitus e sua associação com a doença periodontal / Eloá Soares Silva. - 2022.
31 f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de PósGraduação em Odontologia, São Paulo, 2022.

Área de concentração: Clínica Odontológica Terapêutica à Pacientes Portadores de Necessidades Especiais .
Orientador: Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani.

1 . Metaboloma. 2. Biofluidos. 3. Metabólitos. 4. iomarcadores. 5. Diabetes mellitus . I. Giovani, Elcio Magdalena (orientador). II. Título.

Ficha elaborada pelo Bibliotecário Rodney Eloy CRB8-6450

ELOÁ SOARES SILVA

ESTUDO DO METABOLOMA DE BIOFLUIDOS EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS E A SUA ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Mestra em Odontologia.

Aprovado em:____/__/___

BANCA EXAMINADORA

_____-___/___/___
Prof. Dr. Elcio Magdalena Giovani
Universidade Paulista – UNIP

_____-___/___/___
Prof. Dr. Levy Anderson Alves
Universidade Paulista – UNIP

_____-___/___/___
Prof.ª Dr.ª Daniela Miranda Richarte de Andrade
Universidade de São Paulo – USP

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à Deus, aos meus pais Patricia e Gere, meus avós Sonia e Paulo, minha tia Nadia e ao meu noivo Luca.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Paulista – UNIP, à todos os professores e seus funcionários, que estão sempre dispostos a nos ajudar e comprometidos a fazer tudo dar certo.

Agradeço também o meu orientador, Professor Doutor Elcio Magdalena Giovani, por todos seus ensinamentos e paciência.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa concedida.

À equipe de professores das disciplinas de Pacientes Especiais e Clínica Integrada por toda a ajuda nesse processor. Especialmente à Professora Ruth Ydania Andia Merlin, Gilberto Araújo Noro Filho, Bruno Vieira Caputo.

Ao Professor Levy Anderson César Alves por todo auxílio prestado nesses dois anos e pela paciência de ensinar.

Aos meus colegas de mestrados que compartilharam esse desafio comigo e me ajudaram nessa jornada.

Ao laboratório de pesquisa da UNIP por ter concedido o freezer para o armazenamento das amostras.

Ao laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo pela análise das amostras.

Aos pacientes que foram meus voluntários e me ajudaram muito nesses processo.

Aos meus familiares, meu noivo e amigos pelo incentivo.

RESUMO

O metaboloma é o conjunto de todos os metabólitos de baixa massa molecular (até 1500 Da), presentes ou alterados em um sistema biológico. O estudo de metabólitos que compõe biofluidos como a saliva, por exemplo, tem se mostrado de grande valia para a identificação de possíveis biomarcadores responsáveis pela associação entre diversas patologias. O trabalho foi realizado em todo o período da pandemia (COVID-19), o que levou ao um menor número de partícipes e maiores dificuldades nas coletas das amostras, pois muitos pacientes tinham comorbidades e um alto risco de contaminação e não queriam se expor. O objetivo desse estudo foi identificar e interpretar o metaboloma de biofluídos (saliva e urina) de pacientes com diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM) e estabelecer uma possível associação com a doença periodontal. Trata-se de um estudo transversal, analítico e descritivo, no qual foram coletadas amostras de saliva e urina de 44 pacientes, divididos em quatro grupos, atendidos no Centro de Estudos e Atendimento a Pacientes Especiais (CEAPE-UNIP) e na Clínica integrada da Faculdade de Odontologia da Universidade Paulista, Campus Indianópolis, São Paulo. Os resultados mostraram que no caso da saliva o grupo 1 tem a maior área. Há diferenças estatísticas significativas entre G1 e G2 (p=0,005), sendo G1 maior que G2. A área de G2 é menor que G3 (p=0,0006), e menor que G4 (p<0,0001). Não há diferenças entre G3 e G4 (p=0,734), nem entre G1 e G3 (p=0,997), nem entre G1 e G4 (p=0,957). Já na urina, o grupo 1 tem a menor área. Há diferenças estatísticas significativas entre G1 e G2 (p=0,007), sendo G1 menor que G2. A área de G2 é menor que G3 (p=0,031), mas não difere estatisticamente de G4 (p=0,156). Não há diferenças entre G3 e G4 (p=0,871), nem entre G1 e G3 (p=0,997), nem entre G1 e G4 (p=0,957). Conclui-se,que, a partir da análise metabolômica foi possível distinguir o perfil metabolômico de Diabetes Mellitus com doença periodontal e sem doença periodontal; metabólitos de diversos grupos foram identificados e suas vias metabólicas participam de processos inflamatórios como a periodontia e foram encontrados metabólitos comuns entre DM e doença periodontal.

Palavras-chave: Metaboloma, Biofluídos, Metabólitos, Biomarcadores, Diabetes Mellitus.

ABSTRACT

The metabolome is the set of all metabolites of low molecular mass (up to 1500 Da), present or altered in a biological system. The study of metabolites that constitute biofluids such as saliva, for example, has proven to be of great value in identifying possible biomarkers responsible for the association between various diseases. The work was carried out throughout the period of the pandemic (COVID-19), which led to a smaller number of participants and greater difficulty in collecting samples, because many patients had comorbidities and a high risk of contamination contamination and did not want to be exposed. The aim of this study is to identify and interpret the metabolome of biofluids (saliva and urine) from patients diagnosed with Diabetes Mellitus (DM) and establish a possible association with periodontal disease. This is a cross-sectional, analytical, descriptive study, in which saliva and urine samples were collected from 44 patients, divided into four groups treated at the Center for Studies and Care of Special Patients (CEAPE-UNIP) and at the Integrated Clinic of the School of Dentistry of Paulista University, Indianópolis Campus, São Paulo. The results showed that in the case of saliva, group 1 has the largest area. There are significant statistical differences between G1 and G2 ($p=0.005$), with G1 being larger than G2. The area of G2 is smaller than G3 ($p=0.0006$), and smaller than G4 ($p<0.0001$). There are no differences between G3 and G4 ($p=0.734$), nor between G1 and G3 ($p=0.997$), nor between G1 and G4 ($p=0.957$). In urine, on the other hand, group 1 has the smallest area. There are significant statistical differences between G1 and G2 ($p=0.007$), with G1 being smaller than G2. The area of G2 is smaller than G3 ($p=0.031$), but does not differ statistically from G4 ($p=0.156$). There are no differences between G3 and G4 ($p=0.871$), nor between G1 and G3 ($p=0.997$), nor between G1 and G4 ($p=0.957$). It is concluded from this that from metabolomic analysis it was possible to distinguish the metabolomic profile of Diabetes Mellitus with periodontal disease and without periodontal disease; metabolites of various groups were identified and their metabolic pathways participate in inflammatory processes such as periodontal disease and common metabolites were found between DM and periodontal disease.

Keywords: metabolome, biofluids, metabolites, biomarkers, diabetes mellitus.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO **8**
CONCLUSÃO **10**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **11**
APÊNDICE A **18**
ANEXO A **26**

INTRODUÇÃO

A doença Diabetes é caracterizada por uma hiperglicemia, ou seja, alta taxa de glicose no sangue, causando assim três sintomas principais: polidipsia (sede excessiva), poliúria (aumento do volume urinário) e polifagia (fome excessiva). Outros sintomas também vistos são perda de peso ocasionando disfunção e falência de órgãos que ocorrem devido a uma deficiência na produção de insulina e resistência à sua ação periférica. (CHATTERJEE, KHUNTI, DAVIES, 2017; *AMERICAN DIABETES ASSOCIATION* ET AL, 2017; MAYER-DAVIS ET AL, 2017; COLE JB, FLOREZ JC, 2020).

O DM pode ser classificado em três principais tipos: o diabetes mellitus tipo I, que ocorre quando o pâncreas não consegue produzir a insulina essencial para à sobrevivência; o diabetes mellitus tipo II, que ocorre quando o organismo é incapaz de responder adequadamente à ação da insulina produzia; e o diabetes mellitus gestacional, que ocorre mediante diagnóstico de hiperglicemia na gravidez, porém ela se resolve pós-parto na maioria dos casos. (KATSAROU ET AL, 2017; DIRETRIZES SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2019-2020).

O Diabetes Mellitus (DM) é considerado um dos maiores problemas de saúde pública que causa grandes repercussões sociais e econômicas afetando também a qualidade de vida e a sobrevida de pacientes que são portadores dessa patologia. (DA PAZ ET AL., 2017; COLE JB, FLOREZ JC, 2020, CLOETE L, 2022)

É estimado que no ano de 2030, em nível mundial, mais de 550 milhões de pessoas serão acometidas por essa patologia, informação que reforça a importância do conhecimento das características clínicas apresentadas pelos portadores por profissionais da área da saúde, principalmente Cirurgiões Dentistas, para que assim possam oferecer tratamentos adequados em nível multiprofissional. (*IDF DIABETES ATLAS, 2021*)

Ao realizar o exame clínico do paciente portador de diabetes e, principalmente se o mesmo realiza um controle inadequado da glicemia, é possível observar diversas alterações em cavidade bucal como xerostomia, hálito cetônico, infecções oportunistas, doença periodontal e dificuldades de cicatrização profunda (ARTESE ET AL., 2015; COSTA ET AL., 2017; SANZ ET AL., 2018; CLOETE L, 2022).

Diante disso, é importante ressaltar a importância de uma anamnese detalhada obtendo informações sobre tipo de Diabetes, tratamentos prévios e os medicamentos utilizados pelo indivíduo bem como o conhecimento por parte do Cirurgião Dentista sobre a doença e suas características e consequências. (POUDEL ET AL., 2017; MAURI-OBRADORS ET AL., 2017 POUDEL ET AL., 2018; CERVINO ET AL. 2019).

O estudo de metabólitos que compõe biofluídos como a saliva, por exemplo, tem se mostrado de grande valia para a identificação de possíveis biomarcadores responsáveis pela associação entre diversas patologias. (LIU E LOCASALE, 2017; TRIVEDI, HOLLYWOOD, GOODACRE, 2017; MUTHUBHARATHI BC, GOWRIPRIYA T, BALAMURUGAN K, 2021).

Para isso, é utilizado ferramentas da engenharia metabólica como a metabolômica, que é um ramo da ciência que estuda de forma quantitativa os metabólicos (compostos de baixo peso molecular) presentes em uma célula viva ou organismo e que participam das reações necessárias para o crescimento, funcionalidade e manutenção do mesmo (PATTI ET AL, 2012; TRIFONOVA OP ET AL, 2021).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi identificar o perfil metabolômico salivar e de urina de pacientes com Diabetes Mellitus e verificar uma possível associação com a doença periodontal.

CONCLUSÃO

- Metabólitos do grupo dos ácidos carboxílicos e aminoácidos foram identificados e suas vias metabólicas sugerem participação em processos inflamatórios como a periodontia;
- A partir da análise metabolômica foi possível distinguir o perfil metabolômico de pacientes com Diabetes Mellitus com doença periodontal e sem doença periodontal;
- Foram encontrados metabólitos comuns entre DM e doença periodontal como aminoácidos que podem ser tanto mediadores inflamatórios quanto indicadores de DM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sonis ST, Fazio RC, Fang L. Princípios e Prática de Medicina Oral. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.
2. Oliver SG, Winsom MK, Kell DB, Bagazans F. Systematic funciona lanalyses of the yeast genome. Tibtech. 1998;16: 373-8.
3. Goldsmith P, et al. Metabonomics: a useful tool for the future surgeon. J Surg Res. 2010;160(1):122-32.
4. Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases. Nat RevNephrol. 2011;25(8):22-33.
5. Alves LAC. Estudo do metaboloma de biofluidos em pacientes pediátricos nefropatas e sua associação com a doença periodontal. 2016. Tese (Pós-Graduação em Ciências Odontológicas- Doutor em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
6. Lindhe J, Lang NP. Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara/Koogan, 2018. 1312 p.
7. Papapanou et al. J Periodontol. 2018;89(Suppl 1):S173–S182.
8. Grootveld M, Silwood CJL.1H NMR analysis as a diagnostic probe for human saliva. BiochemBiophys Res Commun. 2005;329(1):1-5.
9. Rochfort M. Metabolomicsreviewed: a new "omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research. J Nat Prod. 2005;68(12):1813-20.
10. Bertram HC, Eggers N, Eller N. Potential of human saliva for nuclear magnetic resonance-based metabolomics and for health-related biomarker identification. Anal Chem. 2009; 81(21): 9188-93.
11. Gayrard et al. Plasma and Urinary Amino Acid Metabolomic Profiling in Patients with Different Levels of Kidney Function Flore Duranton, Ulrika Lundin. CJASN January 2014, 9 (1) 37-45; DOI: https://doi.org/10.2215/CJN.06000613
12. Pussinen PJ, Paju S, Mantyla P, Sorsa T (2007) Serum microbial-andhost derived markers of periodontal diseases: a review. Curr Med Chem 14: 2402–2412.
13. Huang et al. Mass spectrometry-based metabolomic profiling identifies alterations in salivary redox status and fatty acid metabolism in response to

inflammation and oxidative stress in periodontal disease. FreeRadicBiol Med 70: 223-232, 2014. PMID: 24607715. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed. 2014.02.024

14. Navazesh M, Kumar SK. Universityof Southern California School of Dentistry. Measuring salivar flow: challenges and opportunities. J Am Dent Assoc.2008; 139 Suppl: 5S-40S.

15. Sussulini A. Metabolomics: From Fundamentals to ClinicalApplications. Ed. Springer, Suiça, 2017.

16. European urin alysis guidelines (ECLM). Scand J Clin LabInvest. 2000;60:1- 96.

17. Saude EJ, Sykes BD. Urine stability for metabolomic studies: effects of preparation and storage. Metabolomics. 2007; 3(1):19-27.

18. Gawron*et al*: Metabolomic Status ofThe Oral Cavity in Chronic Periodontitis in vivo *33*: 1165-1174 (2019)

19. Chamberlain, James J. et al. Diagnosis and management of diabetes: synopsis of the 2016 American Diabetes Association Standardsof Medical Care in Diabetes. Annals of internal medicine, v. 164, n. 8, p. 542-552, 2016.

20. Chatterjee, Sudesna; Khunti, Kamlesh; Davies, Melanie J. Type 2 diabetes. The Lancet, v. 389, n. 10085, p. 2239-2251, 2017.

21. Dimeglio, Linda A.; Evans-Molina, Carmella; Oram, Richard A. Type 1 diabetes. The Lancet, v. 391, n. 10138, p. 2449-2462, 2018.

22. Da paz, Alcieros Martins et al. Atendimento odontológico para pessoas com diabetes mellitus. Revista Científica da OARF, v. 1, n. 2, 2017.

23. O'malley, Eimer et al. The Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus Using a 75g Oral Glucose Tolerance Test: A Prospective Observational Study (March 4,2020). Available at SSRN: https://ssrn.com/abstract=3548766 or http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3548766

24. De freitas, Dhenner Hevilacio Fernandes. Avaliação do controle glicêmico por meio da A1c, glicemia média estimada e glicemia de jejum em pacientes diabéticos. RBAC, v. 51, n. 1, p. 70-5, 2019.

25. American Diabetes Association et al. 2. Classification and diagnosis of diabetes. Diabetes care, v. 40, n. Supplement 1, p. S11-S24, 2017.

26. Zhu, Yeyi; Zhang, Cuilin. Prevalence of gestational diabetes and risk of progression to type 2 diabetes: a global perspective. Current diabetes reports, v. 16, n. 1, p. 7, 2016.
27. Mayer-Davis, Elizabeth J. et al. Incidence trend softype 1 and type 2 diabetes among youths, 2002–2012. New England Journalof Medicine, v. 376, n. 15, p. 1419-1429, 2017.
28. Katsarou, Anastasia et al. Type 1 diabetes mellitus. Nature reviews Disease primers, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2017.
29. American Diabetes Association et al. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2019. Diabetes Care, v. 42, n. Supplement 1, p. S13-S28, 2019.
30. Diabetes control and complications trial (DCCT et al. Intensive diabetes treatmentand cardiovascular outcomes in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC study 30-year follow-up. Diabetes care, v. 39, n. 5, p. 686-693, 2016.
31. Skyler, Jay S. et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, andprognosis. Diabetes, v. 66, n. 2, p. 241-255, 2017.
32. Norhammar, Anna; mellbin, Linda; cosentino, Francesco. Diabetes: Prevalence, prognosisand management of a potent cardiovascular riskfactor. European jornal of preventive cardiology, v. 24, n. 3_suppl, p. 52-60, 2017.
33. Echouffo-tcheugui, Justin B. et al. Lifetime prevalence and prognosis of prediabetes without progression to diabetes. Diabetes care, v. 41, n. 7, p. e117-e118, 2018.
34. White, Neil H. et al. Effectof prior intensive therapy in type 1 diabetes on 10-year progression of retinopathy in the DCCT/EDIC: comparison of adults and adolescents. Diabetes, v. 59, n. 5, p. 1244-1253, 2010.
35. Davies, Melanie J. et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetes care, v. 41, n. 12, p. 2669-2701, 2018.
36. American diabetes association. 9. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. Diabetes care, v. 42, n. Supplement 1, p. S90-S102, 2019.

37. Evert, Alison B. et al. Nutrition therapy for adults with diabetes or prediabetes: a consensus report. Diabetes Care, v. 42, n. 5, p. 731-754, 2019.
38. Sievenpiper, John L. et al. Nutrition therapy. Canadian jornal of diabetes, v. 42, p. S64-S79, 2018.
39. Bell, Kirstine J. et al. Impact of fat, protein, and glycemic index on postprandial glucose control in type 1 diabetes: implications for intensive diabetes management in the continuous glucose monitoring era. Diabetes care, v. 38, n. 6, p. 1008-1015, 2015.
40. Edge, Julie et al. Analternative sensor-basedmethod for glucose monitoring in children and Young people with diabetes. Archives of disease in childhood, v. 102, n. 6, p. 543-549, 2017.
41. DANNE, Thomas et al. ISPAD ClinicalPractice Consensus Guidelines 2018: Insulin treatment in children and adolescentes with diabetes. Pediatric diabetes, v. 19, p. 115-135, 2018.
42. Datye, Karishma A. et al. Timing of meal insulin and its relation to adherence to therapy in type 1 diabetes. Journal of diabetes science and technology, v. 12, n. 2, p. 349-355, 2018.
43. Ryan, David K. et al. Early screening and treatment of gestational diabetes in high-risk women improves maternal and neonatal outcomes: A retrospective clinical audit. Diabetes research and clinical practice, v. 144, p. 294-301, 2018.
44. Murakami, Shinya et al. Dental plaque–induced gingival conditions. Journal of clinical periodontology, v. 45, p. S17-S27, 2018.
45. Nascimento, Gustavo G. et al. Does diabetes increase the risk of periodontitis? A systematic review and meta-regression analysis of longitudinal prospective studies. Acta diabetologica, v. 55, n. 7, p. 653-667, 2018.
46. Polak, David; Shapira, Lior. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. Journal of Clinical Periodontology, v. 45, n. 2, p. 150-166, 2018.
47. Graziani, Filippo et al. A systematic review and meta-analysis of epidemiologic observation alevidence on the effect of periodontitis on

diabetes An update of the EFP-AAP review. Journal of Clinical Periodontology, v. 45, n. 2, p. 167-187, 2018.

48. Costa, Katia L. et al. Influence of periodontal disease on changes of glycated hemoglobinlevels in patients with type 2 diabetes mellitus: a retrospective cohort study. Journal of periodontology, v. 88, n. 1, p. 17-25, 2017.
49. Sanz, Mariano et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. Diabetes Research and Clinical Practice, v. 137, p. 231-241, 2018.
50. Artese, Hilana Paula Carillo et al. Periodontal therapy and systemic inflammation in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. PloSone, v. 10, n. 5, p. e0128344, 2015.
51. Taboza, Zuila Albuquerque et al. Periodontitis, edentulism and glycemic control in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. BMJ Open Diabetes Research and Care, v. 6, n. 1, 2018.
52. Poudel, Prakash et al. Oral health knowledge, attitudes and care practices of people with diabetes: a systematic review. BMC public health, v. 18, n. 1, p. 577, 2018.
53. Poudel, Prakash et al. Knowledge and practices of diabetes care providers in oral health care and their potential role in oral health promotion: a scoping review. Diabetes Research and Clinical Practice, v. 130, p. 266-277, 2017.
54. Cervino, Gabriele et al. Diabetes: Oral health related quality of life and oral alterations. Bio Med research international, v. 2019, 2019.
55. Mauri-obradors, Elisabet et al. Oral manifestations of Diabetes Mellitus. A systematic review. Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal, v. 22, n. 5, p. e586, 2017.
56. Sabharwal, Amarpreet et al. The salivar microbiome of diabetic and non-diabetic adults with periodontal disease. Journal of periodontology, v. 90, n. 1, p. 26-34, 2019.

57. Canuto, Gisele AB et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. Química Nova, v. 41, n. 1, p. 75-91, 2018.
58. Johnson, Caroline H.; IVANISEVIC, Julijana; SIUZDAK, Gary. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. Nature reviews Molecular cellbiology, v. 17, n. 7, p. 451-459, 2016.
59. Dettmer, Katja; ARONOV, Pavel A.; HAMMOCK, Bruce D. Mass spectrometry-based metabolomics. Mass spectrometry reviews, v. 26, n. 1, p. 51-78, 2007.
60. Alves, Levy Anderson César. Estudo do metaboloma de biofluidos em pacientes pediátricos nefropatas e sua associação com a doença periodontal. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
61. Barnes, V. M. et al. Metabolomics reveals elevated macromolecular degradation in periodontal disease. Journal of dental research, v. 90, n. 11, p. 1293-1297, 2011.
62. Souza, Rafael Celestino de. Estudo do metaboloma salivar e sua associação com a doença periodontal em pacientes com síndrome de Down. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
63. Liu, Xiaojing; LOCASALE, Jason W. Metabolomics: a primer. Trends in biochemical sciences, v. 42, n. 4, p. 274-284, 2017.
64. Trivedi, Drupad K.; HOLLYWOOD, Katherine A.; GOODACRE, Royston. Metabolomics for the masses: The future of metabolomics in a personalized world. New horizons in translational medicine, v. 3, n. 6, p. 294-305, 2017.
65. Belstrøm, Daniel. The salivary microbiota in health and disease. Journalof Oral Microbiology, v. 12, n. 1, p. 1723975, 2020.
66. Nguyen, Trang et al. Host-microbeinteractions: Profiles in the transcriptome, the proteome, and the metabolome. Periodontology 2000, v. 82, n. 1, p. 115-128, 2020.
67. Almeida, Priscylla Tavares et al. Assistência nutricional e diabetes mellitus gestacional: uma revisão integrativa de literatura. Research, Society and Development, v. 9, n. 7, p. e640974592-e640974592, 2020.
68. Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. Nat RevNephrol. 2020

69. Cloete L. Diabetes mellitus: an overview of the types, symptoms, complications and management. Nurs Stand. 2022
70. Muthubharathi BC, Gowripriya T, Balamurugan K. Metabolomics: small molecules that matter more.MolOmics. 2021
71. Trifonova OP, Maslov DL, Balashova EE, Lokhov PG. Mass spectrometry-based metabolomics diagnostics - mythor reality?. *Expert RevProteomics*. 2021

APÊNDICE A

- Saliva

25 metabólitos mais representativos quanto a área em cada grupo
Obs.: a média se refere a área média do metabólito, e desvio padrão a seu desvio padrão.

Grupo G1

Metabólito	Média	DP
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	15067162	1309817
1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris[(trimethylsilyl)oxy]-	11063737	1732725
Bis(trimethylsilyl)monostearin	6109352	1549796
Hexadecanoicacid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propylester	4025228	1549796
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	3716044	1095871
Urea, N,N'-bis(trimethylsilyl)-	2978212	816814
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	2623670	2000778
Octadecanoicacid, trimethylsilylester	2563355	1549796
Glucose, pentakis-O-trimethylsilyl-	2187543	2000778
Glycine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	1674998	2450443
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	1583195	2450443
1-(3-Methylbutyl)-2,3,4,6-tetramethylbenzene	1468944	3465450
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	1350668	666926
l-Alanine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	950239	2000778
Nonylamine, 1-heptyl-N,N-dimethyl-	897445	3465450
3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionic acid	871694	2000778
Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl)-4-fluoro-	867488	2000778
GlucopyranosepentaTMS	791134	2000778
Disiloxane, hexamethyl-	754229	2000778
Hexadecanoicacid, trimethylsilylester	690825	1549796
Glycine	645509	3465450
Cyclopentene, 3,3-dimethyl-4-methylene-1,2-bis(trimethylsilyloxymethyl)-	619168	2000778
3,5-Di-t-butyl-4-hydroxybenzoic acid, ethyl ester	554499	2450443
L-Valine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	461439	2450443
D-Ribose, 2,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	434614	2000778

Tabela 6. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G1, $p<0.0001$ (ou seja, há diferenças estatísticas significativas).

Grupo G2

Metabólito	Média	DP
Phenol, bis(1,1-dimethylethyl)-	1893603	144825,2
Nonane, 2-methyl-	1282949	144825,2
Benzaldehyde, 3-methoxy-4-[(trimethylsilyl)oxy]-, O-methyloxime	864782	72412,6
1s,4R,7R,11R-1,3,4,7-Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-2-en-8-one	700434	102406,9
L-Glutamine, N2-(phenylacetyl)-	664029	64767,8
Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	452924	144825,2
Phenol, 2-methyl-	448789	59124,6
5,6-Dicarbadecaborane(12), 5,6-dimethyl-	446448	144825,2
Glycine, N-benzoyl-, methyl ester	329104	59124,6
Benzamide, N-methyl-	313068	59124,6
2,2,4,5,5-Pentamethyl-3-imidazoline-3-oxide	272317	144825,2
Formamide, N-octyl-	266672	144825,2
Benzeneacetamide	231593	83614,9
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,5.beta.)]-	227594	72412,6
1-(1-Methylpropyl)-2-thiohydantoin	227157	144825,2
Isopropylpent-4-enylamine	212575	144825,2
Piperazine, 1-methyl-	207878	144825,2
dl-Citrulline	176630	102406,9
1-Benzyl-1,2,3-triazole	174000	102406,9
1-Octanol, 2,2-dimethyl-	170566	144825,2
4-Nonenoic acid, methylester	168031	144825,2
1,7-Dimethylxanthine	165451	102406,9
Cyclopentancarboxamide, N,N-dimethyl-	163264	144825,2
BenzoicAcid	159454	102406,9
3-Ethoxy-2-cyclohexen-1-one	155574	102406,9

Tabela 7. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G2, $p<0.0001$.

Grupo G3

Metabólito	Média	DP
.beta.-D-Galactofuranose, 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	64909445	3638542
D-Fructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	50559713	2572838
Talose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	45271460	3638542
.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	43726768	2100713
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-glucopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	38610758	2572838
Hexopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	24080346	3638542
D-Glucopyranose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	15958348	2100713
Inosose-2, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, myo-	15513174	3638542
D-Ribofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	13662867	3638542
Maltose, octakis(trimethylsilyl)-	13546098	2572838
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	10854091	1097062
Dihydroxyacetonedimer, tetra(trimethylsilyl)-	7785312	3638542
D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	7544071	3638542
(.+/-.)-2,3-Butanediol diTMS	6635889	3638542
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	6302249	758688
.alpha.-L-Galactofuranose, 6-deoxy-1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	5392053	3638542
D-Turanose, heptakis(trimethylsilyl)-	5341013	1009150
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	4607213	2572838
Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, .alpha.-D-	4213623	2572838
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	4080467	813603
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	2836874	1375240
Ethanimidicacid, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	2836511	1819271
Ethylbis(trimethylsilyl)amine	2601776	3638542
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	2498879	1819271
2,6-Octadiene, 3,7-dimethyl-1-(hydroxydimethylsilyl)-1-(trimethylsilyl)-	2206954	3638542

Tabela 8. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G3, $p<0.0001$.

Grupo G4

Metabólito	Média	DP
D-Glucopyranose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	54130868	4002282
Talose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	43096150	4002282
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	41893070	4002282
D-Fructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	32580927	2830041
.beta.-D-Galactofuranose, 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	27413320	4002282
.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	26772088	2830041
D-Mannopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	21864900	4002282
Arabinofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	20942458	4002282
Maltose, octakis(trimethylsilyl)-	12848208	4002282
D-Fructose, 6-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.alpha.-D-glucopyranosyl]-1,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	11735572	4002282
D-Galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	9490839	1789875
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	9218777	1069655
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-glucopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	9125283	4002282
1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris[(trimethylsilyl)oxy]-	8596650	1033385
D-Turanose, heptakis(trimethylsilyl)-	7561628	2001141
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	6501577	1155359
Acrylic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	5871478	4002282
Hexadecanoicacid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propylester	5513926	1033385
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	4065195	743205
Bis(trimethylsilyl)monostearin	3612728	1069655
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	3550449	2310719
Glucose, pentakis-O-trimethylsilyl-	2902541	4002282
Ethanimidicacid, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	2629166	2830041
1H-Indole-3-methanamine, N,N-dimethyl-	2593132	4002282
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	2582950	1415021

Tabela 9. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G4, $p<0.0001$.

- Urina

25 metabólitos mais representativos quanto a área em cada grupo
Obs.: a média se refere a área média do metabólito, e desvio padrão a seu desvio padrão.

Grupo G1

Metabólito	Média	DP
1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris[(trimethylsilyl)oxy]-	10392156	990517
Hexadecanoicacid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propylester	7885756	990517
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	6420927	1715626
Bis(trimethylsilyl)monostearin	5576976	990517
Pentanoicacid, 5-[bis(trimethylsilyl)amino]-, trimethylsilylester	3685689	990517
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	3206812	648446
Octadecanoicacid, trimethylsilylester	2962582	990517
Urea, N,N'-bis(trimethylsilyl)-	2960057	571875
1H-Indole-3-methanamine, N,N-dimethyl-	2593132	1715626
Hexadecanoicacid, trimethylsilylester	1484829	990517
Ethanimidicacid, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	1345089	1715626
.beta.-Aminoisobutyricaciddi-TMS	1334334	1715626
Disiloxane, hexamethyl-	1179430	990517
L-Glutamine, N2-(phenylacetyl)-	1170830	1213131
l-Alanine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	1075032	990517
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	1073549	1213131
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	887582	1715626
Tetrasiloxane, decamethyl-	853289	767251
3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionic acid	849523	1213131
N-Ethyl-5-propyl-5-nonanamine	846508	1715626
Glycine, N,N'-1,2-ethanediylbis-	793785	1213131
L-Norvaline, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	776794	1715626
Glycine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	745736	990517
.beta.-L-Mannopyranose, 6-deoxy-1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	712734	700401
Neoisolongifolene, 8-bromo-	545194	1715626

Tabela 10. 25 metabólitos mais representativos no grupo G1, p=0.0007.

Grupo G2

Metabólito	Média	DP
.beta.-D-Galactofuranose, 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	64909445	5322333
D-Fructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	50559713	3763458
Talose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	45271460	5322333
.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	43726768	3072850
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-glucopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	38610758	3763458
Hexopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	24080346	5322333
D-Glucopyranose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	15958348	3072850
Inosose-2, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, myo-	15513174	5322333
D-Ribofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	13662867	5322333
Maltose, octakis(trimethylsilyl)-	13546098	3763458
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	12720555	1774111
Dihydroxyacetonedimer, tetra(trimethylsilyl)-	7785312	5322333
D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	7544071	5322333
l-Alanine, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	6709235	5322333
(.+/-.)-2,3-Butanediol diTMS	6635889	5322333
D-Turanose, heptakis(trimethylsilyl)-	5782752	1536425
.alpha.-L-Galactofuranose, 6-deoxy-1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	5392053	5322333
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	5384344	1422453
Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, .alpha.-D-	4213623	3763458
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	4080467	1190110
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	3826344	3072850
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	3050044	5322333
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	3048168	3763458
3,6-Dioxa-2,7-disilaoctane, 2,2,4,7,7-pentamethyl-	2687138	3072850
Ethylbis(trimethylsilyl)amine	2601776	5322333

Tabela 11. Os 25 metabólitos mais representatitivos no grupo G2, $p<0.0001$.

Grupo G3

Metabólito	Média	DP
.beta.-D-Galactofuranose, 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	64909445	3638542
D-Fructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	50559713	2572838
Talose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	45271460	3638542
.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	43726768	2100713
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-glucopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	38610758	2572838
Hexopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	24080346	3638542
D-Glucopyranose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	15958348	2100713
Inosose-2, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, myo-	15513174	3638542
D-Ribofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	13662867	3638542
Maltose, octakis(trimethylsilyl)-	13546098	2572838
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	10854091	1097062
Dihydroxyacetonedimer, tetra(trimethylsilyl)-	7785312	3638542
D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	7544071	3638542
(.+/-.)-2,3-Butanediol diTMS	6635889	3638542
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	6302249	758688
.alpha.-L-Galactofuranose, 6-deoxy-1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	5392053	3638542
D-Turanose, heptakis(trimethylsilyl)-	5341013	1009150
Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	4607213	2572838
Glucofuranoside, methyl 2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-, .alpha.-D-	4213623	2572838
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	4080467	813603
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	2836874	1375240
Ethanimidicacid, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	2836511	1819271
Ethylbis(trimethylsilyl)amine	2601776	3638542
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	2498879	1819271
2,6-Octadiene, 3,7-dimethyl-1-(hydroxydimethylsilyl)-1-(trimethylsilyl)-	2206954	3638542

Tabela 12. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G3, $p<0.0001$.

Grupo G4

Metabólito	Média	DP
D-Glucopyranose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-1,2,3,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	54130868	4002282
Talose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	43096150	4002282
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-galactopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	41893070	4002282
D-Fructose, 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	32580927	2830041
.beta.-D-Galactofuranose, 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	27413320	4002282
.beta.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	26772088	2830041
D-Mannopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	21864900	4002282
Arabinofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	20942458	4002282
Maltose, octakis(trimethylsilyl)-	12848208	4002282
D-Fructose, 6-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.alpha.-D-glucopyranosyl]-1,3,4,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	11735572	4002282
D-Galactose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	9490839	1789875
Propanoicacid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilylester	9218777	1069655
D-Glucose, 4-O-[2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-glucopyranosyl]-2,3,5,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	9125283	4002282
1,3,5-Triazine, 2,4,6-tris[(trimethylsilyl)oxy]-	8596650	1033385
D-Turanose, heptakis(trimethylsilyl)-	7561628	2001141
.alpha.-D-Glucopyranoside, 1,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-.beta.-D-fructofuranosyl 2,3,4,6-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	6501577	1155359
Acrylic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester	5871478	4002282
Hexadecanoicacid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propylester	5513926	1033385
Benzonitrile, 4-(2-methyl-1,3-dioxolan-2-yl)-	4065195	743205
Bis(trimethylsilyl)monostearin	3612728	1069655
2,4,6-Tri-t-butylbenzenethiol	3550449	2310719
Glucose, pentakis-O-trimethylsilyl-	2902541	4002282
Ethanimidicacid, N-(trimethylsilyl)-, trimethylsilylester	2629166	2830041
1H-Indole-3-methanamine, N,N-dimethyl-	2593132	4002282
L-Proline, 1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester	2582950	1415021

Tabela 13. Os 25 metabólitos de maior área no grupo G4, $p<0.0001$.

ANEXO A

UNIVERSIDADE PAULISTA - UNIP / VICE-REITORIA DE PESQUISA E PÓS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DO METABOLOMA DE BIOFLUÍDOS EM PACIENTES COM DIABETES MELLITUS E A SUA ASSOCIAÇÃO COM A DOENÇA PERIODONTAL
Pesquisador: Elcio Magdalena Giovani
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 44758620.7.0000.5512
Instituição Proponente: Universidade Paulista - UNIP / Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.622.119

Apresentação do Projeto:
As informações elencadas nos campos "Apresentação do projeto", "Objetivo da pesquisa" e "Avaliação dos riscos e benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1640866. de 15/03/21).
Resumo:
O metaboloma é o conjunto de todos os metabólitos de baixa massa molecular (até 1500 Da), presentes ou alterados em um sistema biológico. A
ciência metabolômica ainda é pouco explorada na odontologia, embora muitos estudos nos últimos anos vêm sendo realizados tentando relacionar
metaboloma com problemas bucais e doenças sistêmicas. O estudo de metabólitos que compõe biofluidos como a saliva, por exemplo, tem se
mostrado de grande valia para a identificação de possíveis biomarcadores responsáveis pela associação entre diversas patologias. O objetivo desse
estudo é identificar e interpretar o metaboloma de biofluidos (saliva e urina) de pacientes com diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM) e estabelecer
uma possível associação com a doença periodontal. O Diabetes Mellitus é uma doença crônica sistêmica causada por uma deficiência herdada ou
adquirida na produção de insulina pelo pâncreas. Serão coletados dados e amostras de pacientes atendidos no Centro de Estudos e Atendimento a

Endereço: Rua Dr. Bacelar, 1212 4º andar
Bairro: Vila Clementino **CEP:** 04.026-002
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5586-4086 **E-mail:** cep@unip.br

Pacientes Especiais (CEAPE-UNIP) e na Clínica integrada da Faculdade de Odontologia da Universidade Paulista, Campus Indianópolis, São Paulo.
É esperado que com esse estudo consiga-se identificar metabólitos comuns entre Diabetes Mellitus e doença periodontal e distinguir o perfil
metabólico de pacientes com Diabetes Mellitus e doença periodontal, de indivíduos clinicamente saudáveis.
Hipótese:
A possibilidade de através do metabólitos que compõem biofluídos como a saliva, identificar possíveis biomarcadores responsáveis pela
associação entre a doença periodontal e a Diabetes Mellitus.
Metodologia Proposta:
Estudo transversal, analítico e descritivo com 60 pacientes, divididos em 4 grupos da seguinte forma:Grupo 1 (G1): pacientes com
Diabetes Mellitus e sem doença periodontal (n=15)Grupo 2 (G2): pacientes com Diabetes Mellitus e com doença periodontal (n=15)Grupo 3
(G3): indivíduos sem diagnóstico de Diabetes Mellitus e sem doença periodontal (n=15)Grupo 4 (G4): indivíduos sem diagnóstico de Diabetes
Mellitus e com doença periodontal (n=15)
Serão coletados dados referentes ao gênero, idade, cor da pele, hábitos, doenças sistêmicas, doenças bucais, uso de medicações (todos os
grupos) e tipo e tempo de diagnóstico da patologia (DM) (G1 e G2).
Essas informações serão coletadas durante a anamnese, exame clínico e por meio dos prontuários dos pacientes, atendidos na Faculdade de
Odontologia da Universidade Paulista, Campus Indianópolis, São Paulo -SP.O exame bucal será realizado pelo próprio pesquisador, após
calibragem, utilizando equipamentos de proteção individual (EPI), preconizados pelas normas universais de biossegurança.
Profundidade clínica de sondagem (PS)Realizada com isolamento relativo, utilizando sonda milimetrada de 1 a 10 mm e iluminação artificial. A
sonda será introduzida na região da gengiva marginal e inserida de cada dente; a mensuração será anotada por sextante na ficha clínica
(periograma-ficha padrão UNIP).Serão consideradas as seguintes medidas: 3 mm (ausência de doença periodontal); 4 mm (com doença

periodontal).Calibração do examinador. O examinador responsável pelas medições será calibrado previamente ao exameinicial. Três pacientes
com periodontite crônica serão avaliados, com o intuito de coleta dos dados de PS, com intervalo de 24 horas entre as medições.
Todos os pacientes receberão informações sobre as coletas de urina e saliva e receberam um frasco estéril para coleta de urina. Estas
amostras serão coletadas na clínica da FOUNIP. Coleta da saliva Pacientes não poderão ter ingerido alimentos ou escovado os dentes 2 horas
antes da coleta. Permanecerão sentados, de forma ereta em ambiente arejado e calmo, e a saliva será coleta por expectoração e não
estimulada em tubo plástico descartável (Falcon®, Rio de Janeiro).(Navazesh M, et al, 2008).
Os tubos serão fechados e encaminhados para armazenamento à -80º C até o momento da análise. (Alves LAC, 2016; Sussulini A, 2017)
Os pacientes receberão instruções para que coletar um volume de urina entre 20 a 40 mL da primeira urina da manhã em frascos de coleta estéreis,
por ser mais concentrada. Todos receberão frascos adequados para o armazenamento da urina e esta será levada para o armazenamento a
–80º C o mais breve possível, para evitar que ocorra alterações da amostra coletada e perda das substâncias que deverão ser
analisadas.(European Urinalysis Guidelines (ECLM). 2000; Saude EJ, Sykes BD, 2007) Preparo e análise metabolômica das amostrasAs
amostras serão preparadas e analisadas no Laboratório de Controle e Simulação de Processos do Departamento de Engenharia Química da
Escola Politécnica da USP (EPUSP). A metodologia de análise da urina será desenvolvida no próprio laboratório da EPUSP, pela
equipe de químicos, engenheiros químicos e cirurgiões-dentistas envolvidos no estudo, e a metodologia de análise da saliva será
adaptada de BARNES et al., 2011.
Critério de Inclusão:
Pacientes com diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM)(grupos 1 e 2) com periodontite crônica (grupos 2 e 4), maior ou igual a quatro
milímetros de profundidade de sondagem clínica (PS), em uso de imunossupressores orais prescritos pelo médico.

Critério de Exclusão:
Pacientes que apresentarem Tratamento periodontal nos últimos 6 meses (grupos 2 e 4), gestantes, lactantes, pacientes que apresentaram
tosse, edemas em membros inferiores, febre, dispneia, pulsoterapia com prednisona (3 a 5 dias), HAS não controlada, desdentados totais.

Objetivo da Pesquisa:
Objetivo Primário:
Avaliar o mataboloma de biofluidosde pacientes diabéticos e estabelecer uma possível associação com a doença periodontal.
Objetivo Secundário:
Identificar e interpretar a atividade dos metabólitos (endógenos) na urina e saliva;
-Identificar possíveis biomarcadores relacionados com o desenvolvimento da doença periodontal e Diabetes Mellitus;
-Identificar possíveis metabólitos que sejam produzidos por microrganismos associados à doença periodontal e que poderiam potencializar a
Diabetes Mellitus
;-Promoção de saúde bucal-Orientação de higiene oral

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Riscos:
Baixo. Pacientes podem sentir se desconfortáveis no momento da coleta da saliva na cavidade oral e na coleta da urina.
Benefícios:
Através da identificação dos possíveis metabólitos que sejam produzidos por microrganismos associados à doença periodontal e que
poderiam potencializar a Diabetes Mellitus; orientar os Pacientes destes riscos, promovendo uma melhora da sua saúde bucal, assim como sua
saída Promoção de saúde bucal-Orientação de higiene oral

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Estudo clínico transversal, analítico e descritivo

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
apresentados

Recomendações:

verificar os parâmetros de avaliação clínico e diagnóstico de periodontite

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

sem pendência

Considerações Finais a critério do CEP:

AO TÉRMINO DA PESQUISA É OBRIGATORIA A ENTREGA DO RELATÓRIO FINAL.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1640866.pdf	15/03/2021 16:35:40		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	frm_termo_de_consentimento_TCLE_modificado.doc	15/03/2021 16:34:54	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoeloa.docx	15/03/2021 16:34:18	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Outros	frm_termo_de_autorizacao_para_pesquisa_em_prontuarioeloa.pdf	07/12/2020 13:55:16	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodeconscentimento.pdf	22/10/2020 16:08:07	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoeloa.pdf	22/10/2020 16:06:18	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	18/10/2020 21:02:49	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Intencaodepesquisa.pdf	18/10/2020 21:02:28	Elcio Magdalena Giovani	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetodepesquisa.pdf	18/10/2020 20:59:32	Elcio Magdalena Giovani	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 30 de Março de 2021

Assinado por:
Bettina Gerken Brasil
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Dr. Bacelar, 1212 4º andar
Bairro: Vila Clementino **CEP:** 04.026-002
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)5586-4086 **E-mail:** cep@unip.br