

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/03/2028.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



François Isnaldo Dias Caldeira

**Investigação de IRS-2 e SOD-1 em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2
e Periodontite submetidos a tratamento periodontal**

Araraquara

2024



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



François Isnaldo Dias Caldeira

**Investigação de IRS-2 e SOD-1 em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2
e Periodontite submetidos a tratamento periodontal**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração - Periodontia.

Orientadora: Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga

Araraquara

2024

C146i

Caldeira, François Isnaldo Dias

Investigação de IRS-2 e SOD-1 em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 e Periodontite submetidos a tratamento periodontal /
François Isnaldo Dias Caldeira. -- Araraquara, 2024

96 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga

1. Periodontite. 2. Diabetes Mellitus Tipo 2. 3. Proteínas substratos
do receptor de insulina. 4. Superóxido dismutase. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

François Isnaldo Dias Caldeira

Investigação de IRS-2 e SOD-1 em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 e Periodontite submetidos a tratamento periodontal

Comissão julgadora

Dissertação apresentada à banca para obtenção do título de Mestre em Odontologia com área de concentração em Periodontia

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga

2º Examinador: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

3º Examinador: Prof. Dr. Leandro Araújo Fernandes

Araraquara, 07 de março de 2024.

DADOS CURRICULARES

François Isnaldo Dias Caldeira

NASCIMENTO: 17 de janeiro de 1997. Rio Piracicaba, Minas Gerais, Brasil.

FILIAÇÃO: José Isnaldo Caldeira

Maria Auxiliadora Ribeiro Dias Caldeira.

Descrição da Carreira Profissional

2012-2014: Ensino Médio pela Escola Estadual Professor Antônio Fernandes Pinto, Rio Piracicaba, Minas Gerais, Brasil;

2013-2015: Técnico em Segurança do Trabalho pelo Centro Educacional Roberto Porto (CERP-MG), João Monlevade, Minas Gerais, Brasil;

2016-2020: Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Alfenas, Universidade Federal de Alfenas (FOA-UNIFAL/MG, Alfenas, Minas Gerais, Brasil.

2021-2022: Especialização em Saúde Pública pela Faculdade de Tecnologia e Ciências do Norte do Paraná, Paranavaí, Paraná, Brasil.

2022- Atual: Pós-Graduação em Odontologia, Nível Mestrado, Área de Periodontia. Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr-UNESP).

Dedico esta dissertação a meus familiares, em especial minha mãe, Maria Auxiliadora, meu pai, José Isnaldo, e a minha irmã, Franciele Caldeira. O apoio e estímulo vindo de vocês foi fundamental para minha persistência e foco no desenvolvimento deste trabalho. Obrigado por cada momento e alegria que temos juntos, e por me mostrar que valeria a pena. Ao Governo Federal brasileiro pela criação do Sistema de Seleção Unificada (SiSU) e o sistema de cotas, que possibilitaram a minha formação de Cirurgião-dentista.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por guiar todos os meus passos.

Aos meus pais, por serem minha inspiração e por sempre se dedicarem ao meu ensino. À minha irmã, pelo apoio em minha carreira profissional.

À minha Orientadora, Profa. Dra. Raquel Mantuaneli Scarel-Caminaga, por toda dedicação, carinho, paciência e ensinamento durante o Mestrado. Muito obrigado por me incentivar a me tornar um grande pesquisador. Sua luta como pesquisadora brasileira e mulher me inspira.

Aos meus amigos de Pós-graduação, em especial, Luan, Catarina, Milena e Renata. Aos amigos que o mestrado me proporcionou, em especial, Lucas, Taisa, Diego, Isa, Suleima, Lamis, Marcela, Marcelo, Tici e Carlinha. Além disso, os meus amigos Patrique, Thaisa, Alice e Roseli.

Aos professores da UNIFAL-MG pelo carinho, dedicação e ensinamentos proferidos. Minha eterna gratidão Suzane, Dani Lima, Larissa, Manu e Leandro por se tornarem grandes amigos e uma inspiração para mim.

A professora Silvana Orrico pela ajuda na condução desse estudo. Ao Celio Caminaga pela ajuda na realização dos testes da SOD.

Aos meus amigos do laboratório LGM-Foar por todo o companheirismo nessa etapa tão importante de minha vida.

Agradeço a todos os professores das disciplinas de Pós-Graduação pelas aulas ministradas durante o mestrado. Aos funcionários da FOAr/UNESP.

A CAPES: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

A FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2022/11382-0, Bolsa de Mestrado; e Processo nº 2020/12788-5,

Auxílio à Pesquisa) pelo apoio financeiro essencial para a realização dessa pesquisa.

“O impossível não é um fato, impossível é uma opinião.”
Muhammad Ali*

* Muhammad Ali. 1942-2016. Louisville (Estados Unidos)

Caldeira FID. Investigação de IRS-2 e SOD-1 em pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 e Periodontite submetidos a tratamento periodontal [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

As interações entre Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), Dislipidemia e Periodontite (P) são influenciadas pela disfunção da resposta imune e pelo aumento do estresse glico-oxidativo. A proteína Substrato 2 do Receptor de Insulina (IRS-2) é de grande importância na via de sinalização da insulina, servindo como uma molécula adaptadora de quinases que participam da transdução do sinal da insulina. No contexto do DM2, a Superóxido Dismutase (SOD) atua como uma das principais enzimas antioxidantes para controlar o estresse glico-oxidativo. O objetivo deste estudo longitudinal é investigar se a expressão gênica e proteica de IRS-2 e SOD é modulada pelo tratamento periodontal. Foram investigados 156 indivíduos, divididos em 5 grupos com pelo menos 30 indivíduos em cada grupo: DM2_Descompensado+P; DM2_Compensado+P; DM2_Sem_P; Periodontite e Controle. Cada participante teve seu perfil glicêmico, lipídico e periodontal examinado antes e após o término do tratamento periodontal básico e/ou cirúrgico dependendo do grupo e das necessidades de cada paciente. A expressão dos genes *IRS2* e *SOD1* foi investigada nos leucócitos, na ocasião da realização do exame bioquímico. Dos pacientes que tiveram indicação de tratamento cirúrgico, um pequeno fragmento de tecido gengival que seria descartado, foi obtido para avaliação histológica, estereométrica e imunohistoquímica para quantificar células imunomarcadas com IRS-2. A atividade enzimática de SOD foi avaliada na saliva por meio da espectrofotometria. Níveis mais elevados de mRNA de *SOD1* foram encontrados em pacientes Controle, tanto no início quanto no final do estudo. Por outro lado, níveis mais altos de mRNA de *IRS2* foram observados em pacientes com Periodontite no início do estudo, mas não houve diferença estatisticamente significativa nessa expressão no final do estudo. Em relação à atividade enzimática de SOD (U/ml) na saliva, foram observados menores níveis em indivíduos com DM2_Compensado+P. A concentração da atividade de SOD (U/g) na saliva foi significativamente maior de pacientes com Periodontite e DM2_Descompensado+P. Uma correlação foi observada entre as expressões gênicas de *IRS2* e *SOD1*. A análise imunohistoquímica para IRS-2 apresentou um grande infiltrado inflamatório composto por células polimorfonucleares marcadas imunopositivamente nos grupos DM2+P. Conclui-se que este estudo fornece evidências sobre as mudanças nos níveis transcricionais e traducionais de *SOD1* e *IRS2* em pacientes com T2DM e periodontite, com influência da terapia periodontal não cirúrgica.

Palavras-chave: Periodontite. Diabetes Mellitus tipo 2. Proteínas substratos do receptor de insulina. Superóxido dismutase.

Caldeira FID. Investigation of IRS-2 and SOD-1 in patients with type 2 Diabetes Mellitus and Periodontitis undergoing periodontal treatment [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

The interactions between Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Dyslipidemia, and Periodontitis are influenced by immune response dysfunction and increased glyco-oxidative stress. Insulin Receptor Substrate 2 (IRS-2) protein is crucial in the insulin signaling pathway, serving as an adaptor molecule for kinases involved in insulin signal transduction. In the context of T2DM, Superoxide Dismutase (SOD) acts as one of the main antioxidant enzymes to control glyco-oxidative stress. The aim of this longitudinal study is to investigate whether the gene and protein expression of IRS-2 and SOD is modulated by periodontal treatment. A total of 156 individuals were investigated, divided into 5 groups with at least 30 individuals in each group: T2DM_poorlyC+p; T2DM_wellC+P; T2DM_without_P; Periodontitis; and Control. Each participant had their glycemic, lipid, and periodontal profiles examined before and after the completion of basic and/or surgical periodontal treatment depending on the group and individual needs. The expression of *IRS2* and *SOD1* genes was investigated in leukocytes at the time of biochemical examination. For patients who required surgical treatment, a small gingival tissue fragment that would otherwise be discarded was obtained for histological, stereometric, and immunohistochemical evaluation to quantify IRS-2 immunolabeled cells. SOD enzymatic activity was assessed in saliva using spectrophotometry. Higher mRNA levels of *SOD1* were found in Control patients, both at the beginning and end of the study. Conversely, higher levels of *IRS2* mRNA were observed in patients with Periodontitis at the study's outset, but there was no statistically significant difference in expression at the study's end. Regarding SOD enzymatic activity in saliva (U/mL), lower levels were observed in individuals with T2DM_wellC+P. The concentration of SOD (U/g) in saliva was significantly higher in patients with Periodontitis and T2DM_poorlyC+P. A correlation was observed between *IRS2* and *SOD1* gene expressions. Immunohistochemical analysis for IRS-2 showed a significant inflammatory infiltrate composed of immunopositively marked polymorphonuclear cells in the T2DM+P groups. In conclusion, this study provides evidence of changes in transcriptional and translational levels of SOD1 and IRS2 in patients with T2DM and periodontitis, with influence from non-surgical periodontal therapy.

Keywords: Periodontitis. Diabetes Mellitus, type 2. Insulin receptor substrate proteins. Superoxide dismutase.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Via de sinalização da Insulina e importância das moléculas	
IRS-2 e SOD-1	17
2 PROPOSIÇÃO	24
2.1 Objetivos específicos.....	24
3 PUBLICAÇÃO	25
3.1 Publicação 1	25
4 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
APÊNDICE.....	81
ANEXO	96

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica crônica não transmissível (DMCNT) e um problema de saúde mundial¹. É reconhecido como um distúrbio metabólico caracterizado pela hiperglicemia persistente². A diminuição na eficácia das ações da insulina nos tecidos alvo é compreendida como resistência à insulina. Esse baixo aporte de glicose intracelular pode carregar prejuízos no controle do metabolismo de lipídios, proteínas e de carboidratos³. É frequente que o DM2 esteja presente em um indivíduo que se encontre não diagnosticado por anos, porque a hiperglicemia desenvolve-se gradualmente e não é severa o suficiente para o indivíduo notar sintomas clássicos do diabetes causados pela hiperglicemia, como a desidratação ou perda de peso não intencional⁴.

O DM2 é uma doença complexa e multifatorial, cuja etiologia envolve uma variedade de componentes⁵⁻⁷. Dentre esses, está a rápida mudança no estilo de vida⁸ impulsionada pela globalização⁹. Isso se reflete diretamente nos hábitos alimentares, nos quais as pessoas estão adotando cada vez mais dietas ricas em carboidratos e açúcares proveniente de alimentos ultraprocessados^{10,11}. A adoção de um estilo de vida sedentário tem corroborado de maneira significativa para o aumento da prevalência do sobrepeso e da obesidade¹² em todo mundo e, esses fatores têm contribuído para aumentar as chances de desenvolver o DM2¹³. Além disso, a vasta literatura tem apontado que fatores modificáveis como o consumo excessivo de álcool, privação do sono¹⁴ e condições psicossociais¹⁵ têm contribuído para a sua progressão, uma vez que o DM2 é uma doença desafiadora e que afeta adversamente a qualidade de vida dos indivíduos^{11,14}.

Em 2019, a *International Diabetes Federation* estimou que até 2045, cerca de 700 milhões de pessoas serão afetados pelo DM2¹⁶, marcando um aumento notável em relação à prevalência de 211 milhões registrado em 1990¹⁷. Os índices globais apontam que as maiores taxas de pessoas acometidas pelo DM2 virão de países que estão passando pela transição econômica de baixa renda para média renda⁷. Analisando o perfil epidemiológico dessa DMCNT, observa-se que aproximadamente 10% da população mundial adulta se encontra acometida pelo DM2¹⁸. Além disso, estudos têm apontado aumento de 20% de indivíduos com DM2 em nações desenvolvidas, nos países em desenvolvimento econômico esse índice sobe para 69%^{18,19}. Esses dados são corroborados pelo estudo do *NCD Risk Factor*

Collaboration, que utilizou informações de 751 estudos populacionais envolvendo 146 países e mais de quatro milhões de pacientes, estimando um aumento significativo no número de casos de DM2 a cada ano em todo mundo²⁰.

Os custos associados ao tratamento do DM2 foram estimados em 850 bilhões de dólares, com boa parte desse montante direcionado ao tratamento de suas complicações²¹. Numa perspectiva nacional, os gastos anuais com o DM2 e outras doenças crônicas custaram para o Sistema Único de Saúde²² cerca de 3,45 bilhões de reais²³.

Um controle metabólico eficaz do DM2 desempenha um papel fundamental na prevenção ou no atraso do surgimento de suas complicações agudas e crônicas²⁴. O termo “controle metabólico” refere-se ao alcance de níveis adequados de determinados marcadores biológicos. No contexto do DM2, a porcentagem de hemoglobina glicada (HbA1c) é considerada o padrão-ouro para indicar um bom controle do metabolismo glicêmico, o qual é definido como inferior a 7% de HbA1c para um indivíduo com DM2, e para um indivíduo sem DM2 (normoglicêmico) deve ser $\leq 5,6\%$, conforme as diretrizes da *American Diabetes Association (ADA,2021)*²⁵. Para pacientes com DM2 alcançarem um controle metabólico eficaz, são utilizados antidiabéticos orais, insulina ou ambos²⁶. Além disso, a incorporação de atividades físicas regulares²⁷, hábitos alimentares saudáveis^{10,11} e o constante monitoramento da glicemia são consideradas etapas fundamentais para alcançar um bom controle metabólico no DM2.

A hiperglicemia desempenha um papel crucial na regulação negativa da captação de glicose, especialmente quando há altas concentrações de glicose extracelular^{28,29}. Esse feedback negativo, desencadeado pela hiperglicemia, envolve cinco mecanismos específicos que são:

- ❖ Aumento da via do poliol: desvio da glicose para o sorbitol;
- ❖ Aumento da formação intracelular dos produtos finais de glicação avançada (AGEs): reação não enzimática da glicose e de outros compostos de glicação derivados da glicose e do aumento da oxidação de ácidos graxos;
- ❖ Aumento da expressão do receptor para AGEs e seus ligantes de ativação;
- ❖ Aumento da ativação da proteína quinase C (PKC): ativação excessiva e persistente das isoformas de PKC. Essa via de ativação está associada à lesão tecidual induzida por espécies reativas de oxigênio medidas pelo DM;

- ❖ Aumento do fluxo da via hexosamina: aumento do fluxo de frutose-6-fosfato na via da hexosamina³⁰.

Além disso, há superestimulação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), produção de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, formação de espécies reativas de nitrogênio (RNS) e espécies reativas de oxigênio (ROS)³¹⁻³⁵. Essas moléculas estão presentes em diversas patologias associadas ao DM2, além de favorecer menor resistência do hospedeiro às infecções e maior severidade da Periodontite^{36,37}.

Por outro lado, quando indivíduos com DM2 apresentam um pobre controle metabólico, com valores superiores a 7% de HbA1c, podem surgir complicações que englobam alterações macrovasculares, como acidente vascular cerebral, infarto agudo do miocárdio, disfunção endotelial, doença vascular periférica e aterosclerose. Além disso, há mudanças microvasculares que podem levar à neuropatia, retinopatia e nefropatia, que são consideradas doenças silenciosas e assintomáticas em seus estágios iniciais. Quando não tratadas adequadamente, essas condições podem acarretar alta taxa de mortalidade populacional³⁸⁻⁴².

As complicações do DM2 estão intimamente ligadas ao controle metabólico deficiente⁴. A dislipidemia é caracterizada como uma disfunção metabólica que pode levar a mudanças nos níveis circulantes de lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicerídeos, ácidos graxos e lipoproteína de alta densidade (HDL)^{38,43}. Esta comorbidade, em associação com pobre controle metabólico no DM2, pode levar a diversas complicações e agravos como, por exemplo, aumento do LDL, triglicerídeos e a redução do HDL no sangue⁴⁴.

A dislipidemia, pode ser modulada por fatores ambientais (DM2, obesidade e sedentarismo), genéticos (dislipidemias primárias ou familiares) ou a interação de ambos⁴⁵. Segundo dados estimados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a estimativa global do número de adultos (idade \geq 25 anos) com níveis elevados de colesterol total foi de aproximadamente 39%⁴⁵; estimativas globais apontam um crescimento acentuado no número de incapacidade e mortes precoces causadas por doenças metabólicas, de forma isolada ou combinada⁴⁶.

A Periodontite é uma doença inflamatória crônica caracterizada por uma resposta inflamatória dos tecidos periodontais e perda dos tecidos de suporte, em resposta à presença de uma microbiota disbiótica. Suas principais características clínicas incluem a presença de sangramento gengival, perda do nível de inserção

clínica, presença de bolsas periodontais e a destruição do osso alveolar. A Periodontite é considerada uma das principais causas de perda dentária na população adulta⁴⁷⁻⁴⁹.

De acordo com Page e Kornman⁵⁰, a Periodontite é um processo que se inicia e se perpetua devido à atuação de grupos bacterianos específicos. O fator etiológico primordial dessa condição é a adesão de microrganismos à superfície dentária⁵¹. Essa coagregação é desencadeada pela presença de microrganismos levemente virulentos que, quando associados aos patógenos microbianos específicos, como as bactérias Gram-negativas anaeróbicas⁵², (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e outras espiroquetas⁵³), têm a capacidade de perpetuar uma resposta imunológica inflamatória no hospedeiro.

Apesar de essenciais na patogênese da Periodontite, as bactérias sozinhas são insuficientes para que a doença ocorra⁵³. Atualmente, diversas evidências científicas têm demonstrado a importância do sistema imune para as Periodontites⁵². A função primordial desse sistema é proteger o hospedeiro contra microrganismos invasores. Quando há um desequilíbrio na resposta por aumento do número e virulência dos patógenos ou por deficiência da resposta imune ou superexpressão, mediadores pró-inflamatórios tais como interleucina (IL)1 Beta, IL-6, IL-10, proteína C reativa (PCR)⁵⁴, TNF- α e metaloproteinases (MMP) podem perpetuar as injúrias teciduais, que podem culminar com a perda do elemento dental⁵¹.

Nas últimas duas décadas, a Periodontite tem ganhado destaque como a sexta complicação associada ao DM⁵⁵. Além disso, foi estabelecido que a Periodontite apresenta maior extensão e gravidade em indivíduos portadores de DM2 em comparação àqueles que não possuem a doença^{56,57,58}. Vários estudos têm revelado uma relação significativa entre o DM e a Periodontite, com efeitos observados nos parâmetros clínicos⁵⁹, bioquímicos⁶⁰ e moleculares^{61,62}.

Sabe-se que o colágeno perfaz cerca de 30% das proteínas do organismo, e que glicação e AGEs são ligadas ao colágeno por meio de reações não enzimáticas⁶³. Os AGEs, elevados nos indivíduos com DM2, atuam inibindo a proliferação, diferenciação e síntese de colágeno, o que resulta em uma redução na quantidade de colágeno presente nos tecidos gengivais⁶⁴. Tais alterações dificultam o processo de cicatrização e contribuem para o notável dano tecidual do periodonto em pacientes com Periodontite e DM2. Além disso, é importante destacar que pacientes com hiperglicemia exibem um desequilíbrio nas taxas de Osteoprotegerina (OPG)⁶⁵ e do

Fator Nuclear Kappa- β (NF- κ B)⁶⁶, prejudicando assim, o processo de reparação tecidual e neoformação óssea.

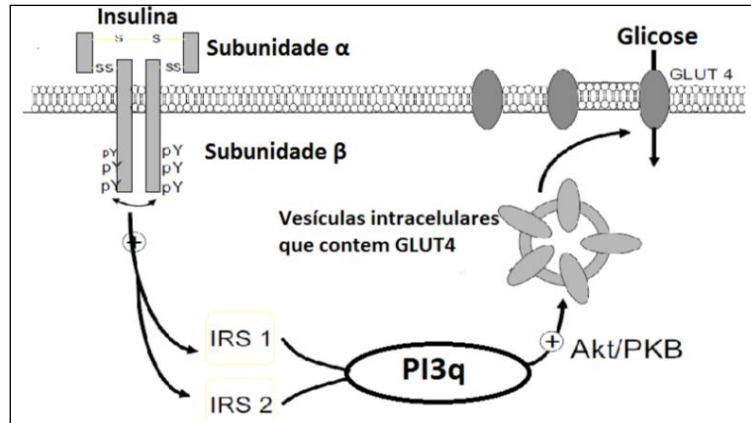
Essas considerações ressaltam a importância dos pacientes com DM2 realizarem consultas periódicas para avaliação da sua saúde oral. Isso torna-se fundamental para diagnosticar, prevenir e tratar complicações associadas ao DM2, como por exemplo, a Periodontite⁶⁷. Diversos estudos intervencionais^{22,68,69} destacaram a significativa influência do tratamento periodontal básico sobre as condições de saúde bucal e a melhoria nos níveis de HbA1c. Essa intervenção não apenas demonstrou a capacidade de reduzir os níveis séricos de HbA1c, mas também se equiparou à eficácia da inclusão de um segundo medicamento para o controle glicêmico. Essas descobertas ressaltam a importância do cuidado periodontal como um componente relevante para a saúde, evidenciando sua contribuição positiva para o controle metabólico em paralelo ao tratamento convencional da diabetes⁷⁰.

1.1 Via de sinalização da Insulina e importância das moléculas IRS-2 e SOD-1

Para compreender a importância das moléculas enfocadas neste estudo é necessário revisar os principais mecanismos do metabolismo glicêmico. A via de sinalização da insulina está representada na Figura 1. A insulina liga-se ao seu receptor específico (IR, *Insulin Receptor*) nas duas subunidades alfa, de modo que ocorrerá a fosforilação intracelular no receptor beta do IR. Este receptor IR tem atividade quinase intrínseca, pois é acoplado a uma enzima do tipo tirosina-quinase; ou seja, uma das subunidades do receptor está ligada a uma enzima que faz a fosforilação de um resíduo de tirosina. Esta fosforilação é feita pelo receptor e no próprio receptor (autofosforilação). A ligação da insulina induz a autofosforilação do resíduo de tirosina, ativando o receptor que inicia vias bioquímicas intracelulares através das proteínas denominadas Substrato do Receptor de Insulina (IRS-1 e IRS-2)⁷¹. As IRS1 e IRS-2 ativam duas importantes vias, a via da Proteína Quinase Ativada por Mitógenos (MAPK) e a via da *Fosfatidilinositol-3-quinase* (PI3K). Dentre as ações importantes da PI3K está o aumento da síntese de proteínas e glicogênio (papel anabólico)⁷¹, e a ativação da proteína-quinase B (PKB, também chamada de AKT) que leva à translocação de vesículas contendo Transportadores de Glicose tipo 4 (GLUT-4) para a membrana. Quando na membrana plasmática, esses canais oferecem uma

passagem para a glicose⁷¹, aumentando a permeabilidade da membrana à glicose e diminuindo sua concentração no meio extracelular (papel hipoglicemiante)⁷².

Figura 1- Fosforilação intracelular de resíduos de tirosina da subunidade beta do receptor de insulina



Processo fisiológico da autofosforilação do resíduo de tirosina do Receptor de Insulina (IR) que ativa IRS-1 e IRS-2, as quais ativam PI3K que, por meio de AKT promovem a translocação de vesículas GLUT4 para a membrana plasmática para captação da glicose para o meio intracelular.

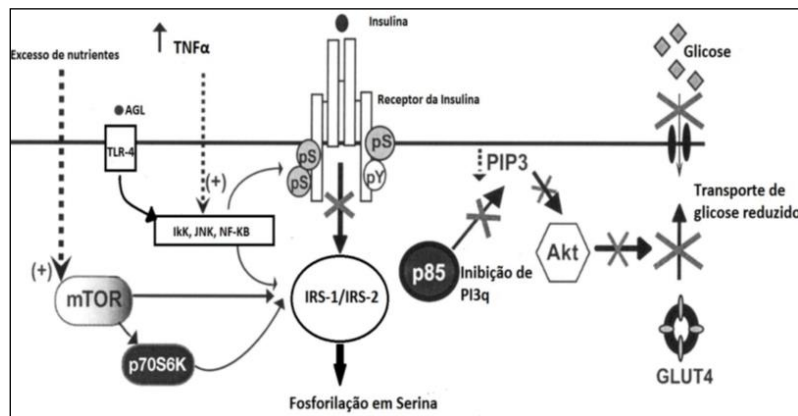
Fonte: Adaptado de Freitas et al.⁷².

A proteína IRS-2 é composta por 1339 aminoácidos, e tem aproximadamente 170 kDa, sendo ela encontrada preferencialmente no citosol celular, quando comparada com a proteína IRS-1 que está concentrada na membrana intracelular. Como demonstrado na Figura 1, o IRS-2 é uma importante proteína da via de sinalização da insulina, servindo como uma molécula adaptadora de quinases que participam do mecanismo de transdução do sinal da insulina⁷³.

Na Figura 2 evidencia-se a regulação negativa da sinalização da insulina, onde a obesidade e o excesso de nutrientes, principalmente as gorduras (AGL, ácidos graxos livres), são grandes percussores que ativam vias inflamatórias como JNK, I κ K/ikKB/NF- κ B e mTOR/S6K1, os quais ativam proteínas quinases de serina/treonina. Uma vez ativadas, elas fosforilam o receptor de insulina (IR) em um resíduo de serina ou treonina, resultando em inativação da capacidade tirosina-quinase. Em outras palavras, quando ocorre a ativação exacerbada de quinases de serina, é inibida a fosforilação dos resíduos de tirosina, diminuindo a translocação de vesículas contendo GLUT4 do citoplasma para a membrana da célula, assim diminuindo a captação de glicose, gerando resistência insulínica⁷². O TNF- α induz

resistência à insulina ativando diferentes proteínas quinases, incluindo *c-Jun N-terminal quinase* (JNK), *Mitogen activated protein kinase-p38* (p38 MAPK) e *Inhibitor of nuclear factor κ B kinase* (IKK), as quais aumentam a fosforilação da serina de IRS-1, que interrompe a cascata de sinalização da insulina, levando à resistência à insulina⁷⁴⁻⁷⁶.

Figura 2- Mecanismos de resistência à insulina



Regulação negativa da sinalização da insulina, em que ocorre ativação de proteínas quinases de serina que culminam na diminuição da captação de glicose.

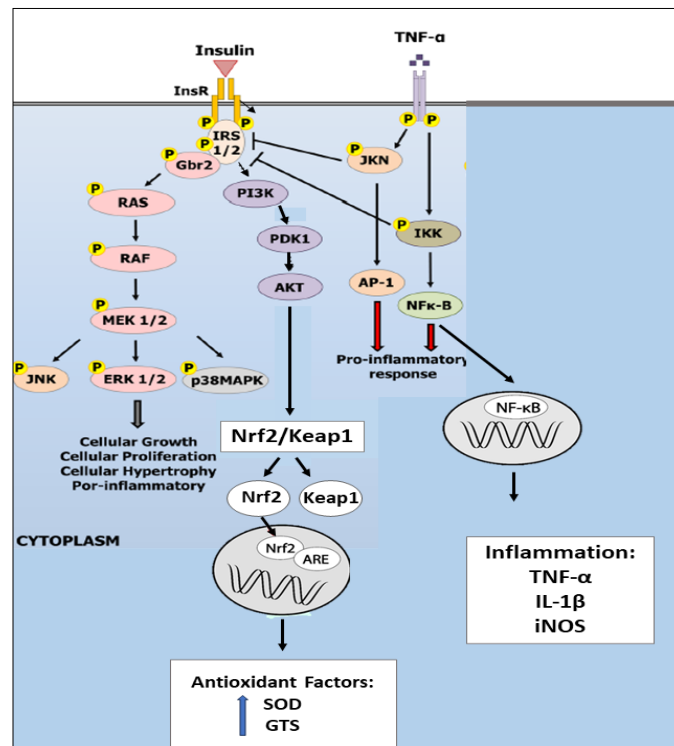
Fonte: Adaptado de Freitas et al.⁷²

Apesar da alta homologia que existe entre os Substratos do Receptor de Insulina IRS-1 e IRS-2, como os domínios PH (*pleckstrin homology*) e PTB (*phosphotyrosine binding*), a literatura ainda é escassa quando a temática é direcionada especificamente ao IRS-2. Um estudo com camundongos geneticamente modificados indicaram que IRS-1 e IRS-2 desempenham diferentes funções celulares nos tecidos efetores. Por exemplo, IRS-1 desempenha importante papel na captação da glicose e no crescimento somático com a participação do Fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1)⁷⁷. IRS-2 tem um domínio que é importante para controlar a extensão da fosforilação da tirosina⁷³. IRS-2 tem sido descrito como um importante regulador da homeostase da glicose e responsável por participar no controle do metabolismo⁷⁸.

A interação, ou *crosstalk* (um ou mais componentes de uma via de transdução de sinal que se afetam mutuamente) entre IRS-1 e IRS-2 desempenha um papel fundamental na efetiva transdução do sinal da insulina, resultando em um funcionamento adequado das funções metabólicas e mitogênicas⁴³. A Figura 3

representa a via metabólica da sinalização da insulina em indivíduos normoglicêmicos. Quando a insulina se liga ao seu receptor (InsR), desencadeia a fosforilação dos resíduos de tirosina de IRS-1 e IRS-2, ativando a via PI3K-AKT. Esta, por sua vez, estabelece um feedback positivo por meio da sinalização Nrf2-Keap1 (*NF-E2-related factor 2* e *Kelch-like ECH-associated protein*)⁷⁹, que ativa a produção de enzimas antioxidantes, como a Superóxido Dismutase (SOD), que atuam na detoxificação do ambiente intracelular (Figura 3). No entanto, em pacientes com resistência à insulina, que apresentam níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , ocorre a inibição da fosforilação de resíduos de tirosina de IRS1/IRS2, resultando na interrupção da sinalização de insulina (Figura 3). Isso resulta na inibição da ativação da via PI3K-AKT, de modo a serem ativadas as vias de sinalização JNK-AP-1 e IKK-NF- κ B, que aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), e citocinas pró-inflamatórias, inclusive retro-alimentando TNF- α ^{43,79}.

Figura 3- Via de sinalização da insulina e sua interação com o sistema antioxidante em pacientes normoglicêmicos, indicada pela ligação da insulina ao seu receptor



Alternativamente, pacientes com resistência à insulina, indicada pela ligação de TNF- α , tem bloqueio da ativação de IRS-1 e IRS-2, menor produção de proteínas do sistema anti-oxidante e maior produção de mediadores inflamatórios.

Fonte: Adaptado pelo autor a partir das imagens disponíveis nos estudos de Ghafouri-Fard et al.⁷⁹ e Silva-Boghossian; Dezone⁴³.

As ROS são geradas de forma contínua pelas células em condições fisiológicas e são consideradas produtos normais do metabolismo celular^{80,81}. Durante a fagocitose, há uma liberação aumentada desses radicais livres, especialmente como parte da resposta bactericida. No entanto, em locais onde ocorre inflamação crônica, como na Periodontite, observa-se uma produção elevada de ROS, que ultrapassa suas funções fisiológicas e contribui para danos inflamatórios nos tecidos do hospedeiro⁸⁰.

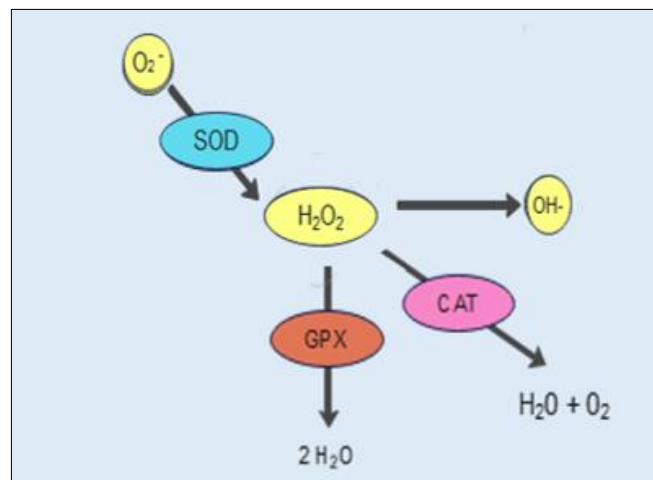
Nesse contexto, as ROS desempenham papéis cruciais na patogênese da Periodontite quanto do DM2. O estresse oxidativo gerado em resposta a essas doenças, seja de forma isolada e/ou combinada, resulta em prejuízos significativos para o sistema de defesa antioxidante, além de promover a produção excessiva de ROS^{82,83}. As ROS exercem diversas funções biológicas, incluindo a peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) na membrana plasmática e peroxidação lipídica. Além disso, elevados níveis de ROS podem acarretar severos danos às macromoléculas como a perda da homeostase celular, destruição da membrana plasmática e morte celular^{82,83}.

Diante desse cenário, importantes enzimas antioxidantes atuam no processo de detoxificação do meio intracelular e participam no processo de homeostase. Dentre as mais potentes enzimas antioxidantes está a SOD. Superóxido dismutases são um conjunto de enzimas capazes de catalisar os radicais superóxidos como o $O_2^{\cdot-}$ (ânion radical superóxido) reduzindo-os em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O sistema de defesa enzimático inclui importantes enzimas antioxidantes que estão envolvidas no controle do estresse oxidativo: o H_2O_2 tem seus níveis regulados pela ação subsequente das enzimas Catalase (CAT) e Glutathione-Peroxidase (GPx), as quais detoxificam H_2O_2 em H_2O ³³ (Figura 4).

SOD-1 desempenha um papel crucial como uma molécula chave na primeira linha de defesa antioxidante⁸⁴. Ela é amplamente produzida por neutrófilos, que constituem um dos primeiros componentes do sistema de defesa, atuando na resposta imune inata. Isso ocorre devido à infiltração de neutrófilos nos tecidos conjuntivos para combater infecções microbianas. Foi demonstrado que neutrófilos circulantes possuem SOD-1 armazenada em vesículas, sendo liberada para o espaço extracelular quando essas células são ativadas⁸⁵. Na tentativa de debelar os danos oxidativos provocados pelos ROS, enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPX são ativadas como mecanismo de compensação ao estresse oxidativo⁷⁶⁻⁸⁶. Prejuízos na

ação de antioxidantes como SOD e menor expressão de IRS-2 foram reportadas em modelo animal de diabetes gestacional, sendo este modelo importante para compreender a resistência à insulina presente no contexto do DM2. A menor concentração de IRS-2 e AKT-1 e níveis reduzidos de GLUT-4 do início ao fim da gestação das ratas diabéticas, demonstraram resistência à insulina, além da hiperlipidemia que também ocorreu nos animais⁷⁴.

Figura 4- Via de sinalização do sistema antioxidante mediada por SOD, GPX, CAT



Fonte: Adaptado pelo autor a partir das imagens disponíveis nos estudos de Singh et al.³³.

Na Periodontite, evidências científicas têm associado as espécies reativas de oxigênio (EROs) ou ROS à destruição do tecido conjuntivo que suporta os dentes. O radical hidroxila pode desencadear a peroxidação lipídica que, por sua vez, leva à destruição do osso alveolar. Além disso, o peróxido de hidrogênio presente no meio intracelular estimula a fosforilação do NF-κB facilitando o influxo de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, o TNF-α e IL-6 que são consideradas moléculas-chave na progressão da Periodontite⁸⁷. Além disso, a produção e liberação excessiva de IL-6 e TNF-α também é resultado do estresse oxidativo e alterações inflamatórias causadas pela hiperglicemia.

Mediante o importante papel biológico de IRS-2 e SOD-1 no metabolismo glicêmico e oxidativo do DM2 e Periodontite, e considerando a inter-relação entre tais patologias, surge a hipótese que IRS-2 e SOD-1 apresentem-se alteradas em pacientes afetados por ambas as patologias. Além disso, supõe-se que após o tratamento periodontal tais moléculas se expressem em níveis que sejam associados

à normalidade, o que demonstraria seu papel relacionado à homeostase tecidual. Desta maneira seria possível verificar se IRS-2 e SOD-1 seriam modulados pelo tratamento periodontal.

4 CONCLUSÃO

Em resumo, este estudo forneceu evidências sobre as mudanças nos níveis transcricionais e traducionais de *SOD1* e *IRS2* em pacientes com T2DM e periodontite, com influência da terapia periodontal não cirúrgica. Além disso, foi observada uma melhoria nos parâmetros clínicos periodontais após o tratamento (grupos DM2_compensado+P e Periodontite), com correlações significativas entre parâmetros físicos, bioquímicos e periodontais. Ademais, foram identificadas diferenças na expressão gênica de *SOD1* e *IRS2* entre os grupos estudados, juntamente com variações na atividade enzimática de SOD. A análise imuno-histoquímica também evidenciou um padrão inflamatório característico nos grupos de pacientes com T2DM e periodontite, e a imunomarcagem diminuiu conforme a condição inflamatória do tecido. Esses achados corroboram a importância de identificar possíveis marcadores que possam atuar como alvos terapêuticos para o manejo conjunto dessas condições clínicas.

REFERÊNCIAS*

1. Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2019-2020. São Paulo: Clannad Ed.; 2019 [acesso em 10 dez 2023]. Disponível em: <https://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/02/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-2020.pdf>.
2. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Oxidative stress: pathogenetic role in diabetes mellitus and its complications and therapeutic approaches to correction. *Bull Exp Biol Med.* 2021; 171(2): 179-89.
3. DeFronzo RA, Ferrannini E, Zimmet P, Alberti G, editors. International textbook of diabetes mellitus. New Jersey: John Wiley & Sons; 2015.
4. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, Bannuru RR, Brown FM, Bruemmer D et al. Classification and diagnosis of diabetes: standards of care in diabetes-2023. *Diabetes Care.* 2023; 46(Suppl 1): S19-S40.
5. Care D. Standards of medical care in diabetes 2019. *Diabetes Care.* 2019; 42(Suppl 1): S124-38.
6. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes.* 2017; 66(2): 241-55.
7. Cefalu WT, Berg EG, Saraco M, Petersen MP, Uelman S, Robinson S. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care.* 2019; 42: S13-S28.
8. Leiva AM, Martinez MA, Petermann F, Garrido-Mendez A, Poblete-Valderrama F, Diaz-Martinez X et al. Risk factors associated with type 2 diabetes in Chile. *Nutr Hosp.* 2018; 35(2): 400-7.
9. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol.* 2018; 14(2): 88-98.
10. Yancy Jr WS, Dunbar SA, Boucher JL, Cypress M, Evert AB, Franz MJ et al. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. *Diabetes Care.* 2013; 36(11): 3821-42.
11. Basdeki ED, Karatzi K, Arnaoutis G, Makrilakis K, Liatis S, Cardon G et al. A lifestyle pattern characterised by high consumption of sweet and salty snacks, sugar sweetened beverages and sedentary time is associated with blood pressure in families at risk for type 2 diabetes mellitus in Europe: the Feel4Diabetes Study. *J Hum Nutr Diet.* 2023; 36(4): 1564-75.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014; 105(2): 141-50.
13. Mensah GA, Mokdad AH, Ford E, Narayan KM, Giles WH, Vinicor F, et al. Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: emerging epidemics and their cardiovascular implications. *Cardiol Clin.* 2004; 22(4): 485-504.
14. Bani-Issa W, Al-Shujairi AM, Patrick L. Association between quality of sleep and health-related quality of life in persons with diabetes mellitus type 2. *J Clin Nurs.* 2018; 27(7-8): 1653-61.
15. Dias LS, Nienov OH, Goelzer Neto CF, Schmid H. Unsteady walking as a symptom in type 2 diabetes mellitus: independent association with depression and sedentary lifestyle and no association with diabetic neuropathy. *Braz J Med Biol Res.* 2018; 51(5): e6605.
16. International Diabetes Federation. *Idf diabetes atlas.* Belgium, 2019 [acesso em 10 dez 2023]. Disponível em: https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2019/07/IDF_diabetes_atlas_ninth_edition_en.pdf.
17. Banach M, Surma S, Reiner Z, Katsiki N, Penson PE, Fras Z, et al. Personalized management of dyslipidemias in patients with diabetes-it is time for a new approach (2022). *Cardiovasc Diabetol.* 2022; 21(1): 263.
18. Al Mansour MA. The Prevalence and Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus (DMT2) in a Semi-Urban Saudi Population. *Int J Environ Res Public Health.* 2019; 17(1).
19. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 87(1): 4-14.
20. Collaboration NCDRF. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *Lancet.* 2016; 387(10027): 1513-30.
21. Jeong E, Park N, Kim Y, Jeon JY, Chung WY, Yoon D. Temporal trajectories of accompanying comorbidities in patients with type 2 diabetes: a Korean nationwide observational study. *Scientific reports.* 2020; 10(1): 1-10.
22. Rabelo MS, Gomes GH, Foz AM, Stadler AF, Cutler CW, Susin C, et al. Short-term effect of non-surgical periodontal treatment on local and systemic cytokine levels: Role of hyperglycemia. *Cytokine.* 2021; 138:155360.
23. Nilson EAF, Andrade R, de Brito DA, de Oliveira ML. Costs attributable to obesity, hypertension, and diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018. *Costos atribuibles a la obesidad, la hipertension y la diabetes en el Sistema Unico de Salud de Brasil, 2018.* *Rev Panam Salud Publica.* 2020; 44:e32.
24. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas.* Belgium, 2015 [acesso em 10 dez 2023]. Disponível em: <https://diabetesatlas.org/atlas/seventh-edition/>

25. American Diabetes A. Improving Care and Promoting Health in Populations: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021; 44(Suppl 1): S7-S14.
26. Oliveira REM, Icuma TR, Ueta J, Franco LJ. Use and access to medications for type 2 diabetes mellitus in elderly: a population-based household survey. *Cien Saude Colet*. 2021; 26(suppl 3): 5081-8.
27. Gizaw AT, Abamecha Ababulgu F, Abebe Gebretsadik L, Kiros Abraha G. The effect of psychometric variables in predicting physical activity behavior among diabetes mellitus type-2 patients. *J Multidiscip Healthc*. 2017; 10: 59-64.
28. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010; 107(9): 1058-70.
29. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. Polyol pathway and RAGE: a central metabolic and signaling axis in diabetic complications. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2010; 5(1): 65-75.
30. Zhang C, Gu L, Xie H, Liu Y, Huang P, Zhang J, et al. Glucose transport, transporters and metabolism in diabetic retinopathy. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2023; 1870(3): 166995.
31. Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*. 2006; 440(7086): 944-8.
32. Smith SR, Bai F, Charbonneau C, Janderova L, Argyropoulos G. A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes*. 2003; 52(7): 1611-8.
33. Singh PP, Mahadi F, Roy A, Sharma P. Reactive oxygen species, reactive nitrogen species and antioxidants in etiopathogenesis of diabetes mellitus type-2. *Indian J Clin Biochem*. 2009; 24(4): 324-42.
34. Ahmed N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005; 67(1): 3-21.
35. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JEB. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes care*. 2006; 29(6): 1420-32.
36. Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Mel'nikova TI, Porozov YB, Terentiev AA. Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ALEs and AGEs) in aging and age-related diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019.
37. Domínguez MAM, González MdLZ, Muñiz ERZ, Varela VAM, Nájera CAI, Robledo NSF, et al. Inflammation and atherogenic markers in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clín Investig Arterioscler (English Edition)*. 2022.
38. Mauri-Obradors E, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, Viñas M, López-López J. Oral manifestations of Diabetes Mellitus. A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017; 22(5): e586.

39. Khadka R, Tian W, Hao X, Koirala R. Risk factor, early diagnosis and overall survival on outcome of association between pancreatic cancer and diabetes mellitus: Changes and advances, a review. *Int Surg J.* 2018; 52: 342-6.
40. Spallone V. Update on the impact, diagnosis and management of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: what is defined, what is new, and what is unmet. *Diabetes Metab J.* 2019; 43(1): 3-30.
41. Bain SC, Klufas MA, Ho A, Matthews DR. Worsening of diabetic retinopathy with rapid improvement in systemic glucose control: a review. *Diabetes Obes Metab.* 2019; 21(3): 454-66.
42. Bahia LR, Araujo DV, Schaan BD, Dib SA, Negrato CA, Leão MPS, et al. The costs of type 2 diabetes mellitus outpatient care in the Brazilian public health system. *Value in health.* 2011; 14(5): S137-S40.
43. Silva-Boghossian CM, Dezone RS. What Are the Clinical and Systemic Results of Periodontitis Treatment in Obese Individuals? *Curr Oral Health Rep.* 2021; 8(3): 48-65.
44. Ayoobi F, Salari Sedigh S, Khalili P, Sharifi Z, Hakimi H, Sardari F, et al. Dyslipidemia, diabetes and periodontal disease, a cross-sectional study in Rafsanjan, a region in southeast Iran. *BMC Oral Health.* 2023; 23(1): 549.
45. Pirillo A, Casula M, Olmastroni E, Norata GD, Catapano AL. Global epidemiology of dyslipidaemias. *Nat Rev Cardiol.* 2021; 18(10): 689-700.
46. Rubin R. Profile: Institute for Health Metrics and Evaluation, WA, USA. *Lancet.* 2017; 389(10068): 493.
47. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018; 89: S173-S82.
48. Beck JD, Papapanou PN, Philips KH, Offenbacher S. Periodontal medicine: 100 years of progress. *J Dent Res.* 2019; 98(10): 1053-62.
49. Marchetti E, Monaco A, Procaccini L, Mummolo S, Gatto R, Tetè S, et al. Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome. *Nutrition & metabolism.* 2012; 9(1): 1-13.
50. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* 1997; 14: 9-11.
51. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2014; 64(1): 57-80.
52. Isola G, Santonocito S, Lupi SM, Polizzi A, Sclafani R, Patini R, et al. Periodontal Health and Disease in the Context of Systemic Diseases. *Mediators Inflamm.* 2023; 2023: 9720947.

53. Li C, Yu R, Ding Y. Association between Porphyromonas Gingivalis and systemic diseases: Focus on T cells-mediated adaptive immunity. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 1026457.
54. Cruz-Avila J, Hernandez-Perez E, Gonzalez-Gonzalez R, Bologna-Molina R, Molina-Frechero N. Periodontal Disease in Obese Patients; Interleukin-6 and C-Reactive Protein Study: A Systematic Review. *Dent J (Basel).* 2022; 10(12): 225.
55. Løe H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes care.* 1993; 16(1): 329-34.
56. Chávarry NGM, Vettore MV, Sansone C, Sheiham A. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis. *Oral Health Prev Dent.* 2009; 7(2): 107-127.
57. Baeza M, Morales A, Cisterna C, Cavalla F, Jara G, Isamitt Y, et al. Effect of periodontal treatment in patients with periodontitis and diabetes: systematic review and meta-analysis. *J Appl Oral Sci.* 2020; 28: e20190248.
58. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, Bissada NF, Bouchard P, Cortellini P, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: consensus report of workgroup 3 of the 2017 world workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: S219-S29.
59. Wang TF, Jen IA, Chou C, Lei YP. Effects of periodontal therapy on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus and periodontal disease: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2014; 93(28): e292.
60. Sgolastra F, Severino M, Pietropaoli D, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of periodontal treatment to improve metabolic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Periodontol.* 2013; 84(7): 958-73.
61. Chen S, Gao X, Song J. Oxidative stress-related biomarkers in chronic periodontitis patients with or without type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res.* 2023; 58(4): 780-90.
62. Artese HP, Foz AM, Rabelo Mde S, Gomes GH, Orlandi M, Suvan J, et al. Periodontal therapy and systemic inflammation in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0128344.
63. Gautieri A, Redaelli A, Buehler MJ, Vesentini S. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. *Matrix Biol.* 2014; 34: 89-95.
64. Alshahrani AA. Effect of type 2 diabetes mellitus in adults undergoing fixed orthodontic treatment on proinflammatory chemokine profile and levels of advanced glycation in gingival crevicular fluid. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022; 26(22): 8351-7.

65. Badiger AB, Gowda TM, Chandra K, Mehta DS. Bilateral Interrelationship of Diabetes and Periodontium. *Curr Diabetes Rev.* 2019; 15(5): 357-62.
66. Abdel-Megeed RM, El Newary SA, Kadry MO, Ghanem HZ, El-Shesheny RA, Said-Al Ahi HAH, et al. Hyssopus officinalis exerts hypoglycemic effects on streptozotocin-induced diabetic rats via modulating GSK-3beta, C-fos, NF-kappaB, ABCA1 and ABGA1 gene expression. *J Diabetes Metab Disord.* 2020; 19(1): 483-91.
67. McKenna SJ. Dental management of patients with diabetes. *Dent Clin North Am.* 2006; 50(4): 591-606.
68. Geisinger ML, Michalowicz BS, Hou W, Schoenfeld E, Gelato M, Engebretson SP, et al. Systemic inflammatory biomarkers and their association with periodontal and diabetes-related factors in the diabetes and periodontal therapy trial, a randomized controlled Trial. *J Periodontol.* 2016; 87(8): 900-13.
69. Rovai ES, Souto ML, Ganhito JA, Holzhausen M, Chambrone L, Pannuti CM. Efficacy of local antimicrobials in the non-surgical treatment of patients with periodontitis and diabetes: A systematic review. *J Periodontol.* 2016; 87(12): 1406-17.
70. Chapple IL, Genco R, working group 2 of the joint EFPAAPw. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the joint EFP/AAP workshop on periodontitis and systemic diseases. *J Periodontol.* 2013; 84(4 Suppl): S106-12.
71. Nicolau L. Resistência Insulínica [acesso em 15 dez 2023] disponível em: <https://lucasnicolau.com/?cv=1&id=10&v=publicacoes2016>
72. Freitas MC, Ceschini FL, Ramallo BT. Resistência à insulina associado à obesidade: efeitos anti-inflamatórios do exercício físico. *Rev Brasil Ciênc Movim.* 2014; 22(3): 139-47.
73. Zhang J, Sun TQ. IRS-2 and its involvement in diabetes and aging. *Vitamins & Hormones.* 2009; 80: 389-407.
74. Abdul Aziz SH, John CM, Mohamed Yusof NIS, Nordin M, Ramasamy R, Adam A, et al. Animal model of gestational diabetes mellitus with pathophysiological resemblance to the human condition induced by multiple factors (nutritional, pharmacological, and stress) in rats. *Biomed Res Int.* 2016; 9704607.
75. Liu Y, Zeng Y, Miao Y, Cheng X, Deng S, Hao X, et al. Relationships among pancreatic beta cell function, the Nrf2 pathway, and IRS2: A cross-sectional study. *Postgrad Med.* 2020; 132(8): 720-6.
76. Sarah Eckstein S, Weigert C, Lehmann R. Divergent roles of IRS (insulin receptor substrate) 1 and 2 in liver and skeletal muscle. *Curr. Med. Chem.* 2017; 24(17): 1827-52.
77. Ochiai T, Sano T, Nagayama T, Kubota N, Kadowaki T, Wakabayashi T, et al. Differential involvement of insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2 in brain

- insulin signaling is associated with the effects on amyloid pathology in a mouse model of alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2021; 159: 105510.
78. DeVito-Moraes AG, Marques VDD, Caperuto LC, Ibuki FK, Nogueira FN, Francisci CE, et al. Initial steps of insulin action in parotid glands of male wistar rats. *Cell Biochem Biophys.* 2022; 80(1): 89-95.
 79. Ghafouri-Fard S, Bahroudi Z, Shoorei H, Hussen BM, Talebi SF, Baig SG, et al. Disease-associated regulation of gene expression by resveratrol: Special focus on the PI3K/AKT signaling pathway. *Cancer Cell Int.* 2022; 22(1): 298.
 80. Bastos AS. Avaliação da correlação entre peroxidação lipídica e o perfil de marcadores inflamatórios em pacientes com Diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia e periodontite crônica. 2012 [acesso em 20 de jan 2024] disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/6b6ec873-bebe-4332-9271-e10d817b9283/content>.
 81. Luqman S, Rizvi SI. Protection of lipid peroxidation and carbonyl formation in proteins by capsaicin in human erythrocytes subjected to oxidative stress. *Phytother Res.* 2006; 20(4): 303-6.
 82. Li X, Sun X, Zhang X, Mao Y, Ji Y, Shi L, et al. Enhanced oxidative damage and Nrf2 downregulation contribute to the aggravation of periodontitis by diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: 9421019.
 83. Buranasin P, Kominato H, Mizutani K, Mikami R, Saito N, Takeda K, et al. Influence of reactive oxygen species on wound healing and tissue regeneration in periodontal and peri-implant tissues in diabetic patients. *Antioxidants (Basel).* 2023; 12(9): 1787.
 84. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford university press, USA; 2015.
 85. Iversen MB, Gottfredsen RH, Larsen UG, Enghild JJ, Praetorius J, Borregaard N, et al. Extracellular superoxide dismutase is present in secretory vesicles of human neutrophils and released upon stimulation. *Free Radic Biol Med.* 2016; 97: 478-88.
 86. Esteghamati A, Larijani B, Aghajani MH, Ghaemi F, Kermanchi J, Shahrami A, et al. Diabetes in Iran: prospective analysis from first nationwide diabetes report of national program for prevention and control of diabetes (NPPCD-2016). *Sci Rep* 2017; 7(1): 1-10.
 87. Araújo AAd, Pereira AdSBF, Medeiros CACXd, Brito GAdC, Leitão RFdC, Araújo LdS, et al. Effects of metformin on inflammation, oxidative stress, and bone loss in a rat model of periodontitis. *PLoS one.* 2017; 12(8): e0183506.