

Projeto de Pesquisa:

Influência da persistência de bactérias ativas no sucesso do tratamento endodôntico de sessão múltipla em pacientes com diabetes mellitus tipo 2:
Um estudo prospectivo longitudinal

Informações Preliminares**Responsável Principal**

CPF/Documento: 197.866.408-70	Nome: Rogério de Castilho Jacinto
Telefone: 1836362890	E-mail: rogerio.castilho@unesp.br

Instituição Proponente

CNPJ:	Nome da Instituição: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP
-------	--

Essa submissão de emenda é exclusiva do seu Centro Coordenador?

A emenda é exclusiva de seu Centro Coordenador, então as alterações realizadas em seu projeto, em virtude da emenda, NÃO serão replicadas nos Centros Participantes vinculados e nos Comitês de Ética das Instituições Coparticipantes, quando da sua aprovação.

É um estudo internacional? Não

Assistentes

CPF/Documento	Nome
098.134.479-82	NATALIA AMANDA GOMES

Equipe de Pesquisa

CPF/Documento	Nome
438.162.858-64	LUCAS GUILHERME LEITE DA SILVA
098.134.479-82	NATALIA AMANDA GOMES

Área de Estudo**Grandes Áreas do Conhecimento**

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

Propósito Principal do Estudo

- Clínico

Título Público da Pesquisa: Influência da persistência de bactérias ativas no sucesso do tratamento endodôntico de sessão múltipla em pacientes com diabetes mellitus tipo 2: Um estudo prospectivo longitudinal

Contato Público

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
098.134.479-82	NATALIA AMANDA GOMES	18991191135	natiemandagomes@gmail.com

Contato Científico: Rogério de Castilho Jacinto

Desenho de Estudo / Apoio Financeiro

Desenho do Estudo: Observacional

Condições de saúde ou problemas**Condição de saúde ou Problema**

Diabetes Mellitus

Descritores Gerais para as Condições de Saúde

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
E10	Diabetes mellitus insulino-dependente

Descritores Específicos para as Condições de

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
K04.5	Periodontite apical crônica

Desenho:

O objetivo deste estudo clínico será avaliar a carga bacteriana total de espécies de *E. faecalis*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum* e *C. Albicans* e por métodos moleculares baseados em DNA e RNA, em pacientes com DM2 em comparação a normoglicêmicos, antes e após o preparo químico-mecânico e avaliar os desfechos de: controle glicêmico, dor pós-operatória, melhora da qualidade de vida e a reparação de lesões periapicais por tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) pós-tratamento (6 meses). Serão recrutados 50 pacientes, seguindo os seguintes critérios de inclusão e exclusão: 18-80 anos, com diagnóstico de PA crônica. Os participantes serão alocados em dois grupos (n=25/grupo): DM2 com HbA1c = 6,5% e com diagnóstico de DM2 há mais de 1 ano e grupo controle normoglicêmicos com HbA1c < 5,7%, todos com diagnóstico de PA em pelo menos 1 dente. Um questionário estruturado será aplicado incluindo presença ou ausência de DM2, duração do DM2, presença de doença cardiovascular, ingestão específica das drogas metformina e estatina. Variáveis comportamentais e informações por meio do questionário de Qualidade de Vida Relacionada com Saúde Oral (OHIP-14) serão obtidos; após anamnese, todos os pacientes realizarão o exame sérico de hemoglobina glicada (HbA1c) e o exame TCFC no dia do início do tratamento e após 6 meses. Os indivíduos serão acompanhados em 2 semanas e 6 meses. Em cada visita, amostras de sangue serão coletadas e as análises clínicas e radiográficas da condição periapical serão coletadas. Serão realizadas coletas do interior do canal radicular: antes do preparo biomecânico (PQM) (S1), após o PQM (S2) e após a medicação intracanal (duas semanas) (S3). Ao final da sessão, a escala EVA será fornecida para avaliação da sintomatologia dolorosa apresentada nos períodos de 24hs, 48hs e 7 dias. A quantidade de células bacterianas totais e das espécies específicas será avaliada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real direcionada ao gene de RNA (qPCR). Aos 6 meses de acompanhamento, a volumetria da destruição óssea periapical será realizada por TCFC pelo software ITK snap. Como proposta adicional, será adicionado a coleta de saliva não estimulada dos pacientes para posteriores análises bioquímicas. coleta de saliva não estimulada será realizada em três momentos: antes, imediatamente após e seis meses após a obturação endodôntica. Após a coleta, as amostras serão devidamente identificados de acordo com o grupo e número da amostra e, por fim, armazenadas em freezer -80 °C até a realização das análises bioquímicas. Serão avaliados fluxo salivar, pH, capacidade tampão, proteína total, atividade de amilase, eletrólitos (Na⁺, Cl⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, PO₄³⁻), ácido úrico, e marcadores de estresse oxidativo, como TBARs (peroxidação lipídica), proteínas carboniladas e capacidade antioxidante total (FRAP).

Apoio Financeiro

CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
00.394.445/0074-59	MINISTERIO DA EDUCACAO		6108006161	Institucional Secundário

Palavra Chave

Palavra-chave

Necrose da Polpa Dentária
Qualidade de Vida
Diabetes Mellitus tipo 2
Periodontite apical
Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico
Saliva

Detalhamento do Estudo

Resumo:

Embora exista uma associação entre a periodontite apical crônica (PA) e pacientes com diabetes mellitus tipo 2 (DM2), os desfechos associados à diminuição da taxa de sucesso do tratamento endodôntico ainda continuam incertos e controversos. A persistência microbiana parece ser o fator limitante contribuinte para o fracasso do tratamento endodôntico impactando direta ou indiretamente no controle da dor e qualidade de vida. O objetivo deste estudo clínico será avaliar a carga bacteriana total de espécies de *E. faecalis*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *F. nucleatum* e *C. Albicans* γ por métodos moleculares baseados em DNA e RNA, em pacientes com DM2 em comparação a normoglicêmicos, antes e após o preparo químico-mecânico e avaliar os desfechos de: controle glicêmico, dor pós-operatória, melhora da qualidade de vida e a reparação de lesões periapicais por tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) póstratamento (6 meses). Serão recrutados 50 pacientes, seguindo os seguintes critérios de inclusão e exclusão: 18-80 anos, com diagnóstico de PA crônica. Os participantes serão alocados em dois grupos (n=25/grupo): DM2 com HbA1c = 6,5% e com diagnóstico de DM2 há mais de 1 ano e grupo controle normoglicêmicos com HbA1c $\leq$ 5,7%, todos com diagnóstico de PA em pelo menos 1 dente. Um questionário estruturado será aplicado incluindo presença ou ausência de DM2, duração do DM2, presença de doença cardiovascular, ingestão específica das drogas metformina e estatina. Variáveis comportamentais e informações por meio do questionário de Qualidade de Vida Relacionada com Saúde Oral (OHIP-14) serão obtidos; após anamnese, todos os pacientes realizarão o exame sérico de hemoglobina glicada (HbA1c) e o exame TCFC no dia do início do tratamento e após 6 meses. Os indivíduos serão acompanhados em 2 semanas e 6 meses. Em cada visita, amostras de sangue serão coletadas e as análises clínicas e radiográficas da condição periapical serão coletadas. Serão realizadas coletas do interior do canal radicular: antes do preparo biomecânico (PQM) (S1), após o PQM (S2) e após a medicação intracanal (duas semanas) (S3). Ao final da sessão, a escala EVA será fornecida para avaliação da sintomatologia dolorosa apresentada nos períodos de 24hs, 48hs e 7 dias. A quantidade de células bacterianas totais e das espécies específicas será avaliada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real direcionada ao gene de RNA (qPCR). Aos 6 meses de acompanhamento, a volumetria da destruição óssea periapical será realizada por TCFC pelo software ITK snap. A estatística será realizada de acordo com cada tipo de análise considerando o nível de significância de 5% (p <0,05). A saliva, por sua composição bioquímica e propriedades antioxidantes, tem emergido como fluido diagnóstico promissor, refletindo alterações metabólicas sistêmicas. O presente estudo visa comparar parâmetros bioquímicos e o estado redox salivar em indivíduos com periodontite apical crônica, com e sem DM tipo 2, bem como monitorar a resposta bioquímica à terapia endodôntica. A coleta de saliva não estimulada será realizada em três momentos: antes, imediatamente após e seis meses após a obturação endodôntica. Serão avaliados fluxo salivar, pH, capacidade tampão, proteína total, atividade de amilase, eletrólitos (Na γ , Cl γ , Mg $^{2\gamma}$, Ca $^{2\gamma}$, PO $_{4}^{3\gamma}$), ácido úrico, e marcadores de estresse oxidativo, como TBARs (peroxidação lipídica), proteínas carboniladas e capacidade antioxidante total (FRAP). Os dados serão tratados no software GraphPad Prism 10.0, com análise descritiva inicial e teste de normalidade (Shapiro-Wilk). O nível de significância adotado será de p < 0,05. Ao monitorar as alterações no perfil bioquímico salivar ao longo da terapia endodôntica, este estudo busca compreender não apenas os efeitos locais do tratamento, mas também sua potencial repercussão sistêmica, especialmente em pacientes diabéticos, nos quais a resolução de focos infecciosos crônicos pode contribuir para a modulação de processos inflamatórios e oxidativos sistêmicos.

Introdução:

Reconhecido como um grave problema de saúde pública, o Diabetes Mellitus (DM) destaca-se como uma epidemia global, cujas complicações impactam significativamente na qualidade de vida, longevidade e nos custos em saúde pública global com valores aprox. US\$850 bilhões/ano (Cho et al. 2018; American Diabetes Association, 2019). Em 2021, haviam cerca de 536,6 milhões de portadores de DM e estima-se mais de 693 milhões novos casos até 2045 em todo mundo (Cho et al., 2018). Já no Brasil, em 2017 era o 5º país com a maior prevalência autorreferida de diabéticos, contabilizando com 12,5 milhões de casos e estimativa de 20,3 milhões para 2045 (PNS, 2017). Recentemente, a possibilidade de uma associação entre a periodontite apical crônica (PA) e alterações sistêmicas, têm sido amplamente debatida pela medicina endodôntica (Segura-Egea et al., 2016; Cabanillas-Balsera et al., 2019; Cintra et al., 2021). Particularmente, nosso grupo de pesquisa ao investigar possíveis relações de causa-efeito da PA associada ao DM evidenciada por estudos experimentais e clínicos abriram horizontes para novos estudos (Processos FAPESP nº 2018/20887-3; nº 2019/24596-6 e 2019/14995-0), que hoje nos possibilitam ver esta infecção bucal como um fator agravante para distúrbios da homeostasia de órgãos, do metabolismo ósseo e níveis séricos (Cintra et al., 2013b; Cintra et al., 2014a; Cintra et al., 2014b; Cintra et al., 2014c; Azuma et al., 2017a; Bernardo et al., 2021; Loureiro et al., 2022). As infecções endodônticas são majoritariamente desencadeadas pela patogenicidade cumulativa de uma comunidade microbiana multiespécie e de seus subprodutos (Siqueira & Rôças, 2022). Apesar dos progressos da endodontia no que diz respeito à instrumentação do sistema de canais radiculares (SCR), as infecções endodônticas primárias e secundárias permanecem notavelmente prevalentes afetando diretamente o prognóstico do tratamento endodôntico (Siqueira & Rôças, 2022). Uma revisão sistemática com metanálise avaliou a frequência das infecções endodônticas em pacientes saudáveis e de alto risco, sob a hipótese de que a presença de que a PA, influencie negativamente sua prevalência (Tiburcio-Machado et al. 2021). Os dados dos estudos examinados, destacam que cerca 52% da população adulta mundial tem pelo menos um dente com PA. Nota-se que há um claro consenso na literatura, frente à dificuldade em tentar identificar os fatores que impactam o sucesso após o tratamento endodôntico, uma vez que, diversas variáveis vêm sendo apontadas, como a prevalência de PA pós-tratamento e a presença de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) associada à deficiência do processo de reparo (Segura-Egea et al., 2016; Cabanillas-Balsera et al., 2019). Estudos realizados a partir de análises de lesões periapicais persistentes em humanos, apontam para o consenso de que, não são apenas as etapas operatórias inerentes do tratamento endodôntico responsáveis pelo insucesso, como: controle asséptico inadequado, não localização de canais, instrumentação inadequada e infiltrações de restaurações temporárias ou permanentes, mas também o estado próinflamatório e a resposta do hospedeiro associada a doenças sistêmicas (Gupta et al., 2020; Cintra et al., 2021). Recentemente, uma revisão do tipo γ umbrella γ descreveu a associação entre DM e os resultados do tratamento endodôntico (Nagendrababu et al., 2020). Este modelo 5 de revisão abrange todas as revisões sistemáticas com ou sem metanálise, analisando estudos epidemiológicos que comparem a prevalência de PA em dentes tratados endodonticamente de indivíduos diabéticos e saudáveis (Aminoshariae et al., 2017; Segura-Egea et al., 2019; Jakovljevic et al., 2020). Seus resultados descrevem que 2 em cada 4 revisões, apontam que pacientes diabéticos apresentam maior prevalência de lesões periapicais e aumento na frequência

da perda dentária de dentes submetidos ao tratamento endodôntico (Nagendrababu et al., 2020). Em contrapartida, duas revisões sugerem uma associação positiva entre DM2 e a elevada percentagem de lesões periapicais, entretanto, devido qualidade dos estudos incluídos, a associação não pode ser suportada (Nagendrababu et al., 2020). Há quase 3 anos iniciamos a investigação da possível inter-relação entre a expressão diferencial de proteínas por análise proteômica em infecções endodônticas de pacientes com DM2 (Processo FAPESP nº 2019/14995-0; Loureiro et al., 2022). As proteínas desempenham funções efectoras, desta forma abordagens proteômicas que examinam a coleção e a abundância de proteínas presentes nas comunidades microbianas, ou seja, o metaproteoma, informam sobre os processos biológicos em andamento. Os resultados deste estudo são os primeiros a fornecer evidências de proteínas relacionadas à resposta imuno-inflamatória apresentavam expressão aumentada em pacientes com DM2. Identificamos 13 imunoglobulinas exacerbadas (até 5 vezes superior). As proteínas identificadas em pacientes com DM2 foram frequentemente associadas à presença de produtos de glicação avançada (AGEs) relacionando-se ao meio hiperglicêmico, induzindo a expressão de proteínas específicas (NGAL) e processos oxidativos e apoptóticos. Além disso, proteínas S100A8 e S100A9 apresentaram menores níveis de expressão no grupo DM2, evidenciando que a regulação negativa da proteína S100 pode indicar uma resposta imune deficiente, o que é consistente com a exacerbação induzida por uma infecção (Loureiro et al., 2022). Em concordância a nossos achados, uma recente revisão sistemática com metanálise, avaliando a associação entre DM2 e a persistência de PA em dentes tratados endodônticamente, destacou que subprodutos do DM2 podem se ligar diretamente a receptores toll-like promovendo o aumento de citocinas, como interleucina IL-1, modulando a atividade dos osteoblastos, afetando assim o metabolismo ósseo no tecido periapical e destruindo o equilíbrio do metabolismo ósseo (Liu et al. 2023). Todas essas reações adversas perpetuam a inflamação periapical e a destruição óssea, levando à persistência da PA em pacientes diabéticos tratados endodônticamente. Outra importante relação, diz respeito a deficiência de cicatrização em grandes lesões periapicais de pacientes com DM2. O estudo observacional retrospectivo de Martinho et al. (2021), avaliou o comprometimento da resposta angiogênica na diminuição do sucesso do tratamento endodôntico em pacientes com DM2. A hiperglicemia destaca-se como o principal precursor de complicações microvasculares, devido a alterações nas funções vasculares e imunológicas. De modo geral, no que diz respeito aos desfechos do tratamento endodôntico, estes mecanismos podem causar isquemia, desenvolvimento de necrose pulpar, desenvolvimento da PA e, assim, menor taxa de sucesso em pacientes com DM2 (Martinho et al., 2021). A melhor compreensão da complexidade microbiana das infecções do SCR pode contribuir para o aumento das taxas de sucesso através do desenvolvimento de protocolos específicos para o combate dessa infecção. No entanto, pouco se sabe sobre a microbiota persistente no SCR nas diferentes fases do tratamento endodôntico em pacientes com DM tipo 2 e sua influência no sucesso do tratamento. Alguns estudos investigaram a presença de dentes obturados com PA para avaliar o resultado do tratamento endodôntico em indivíduos diabéticos e controles saudáveis (Arya et al., 2017; Segura-Egea et al., 2019; Marotta et al. 2012.). Relatam-se taxas de reparo reduzidas e um atraso no processo de cicatrização em pacientes com DM (Arya et al., 2017; Segura-Egea et al., 2019; Marotta et al. 2012.). Além disso, a análise multivariada de um estudo retrospectivo relata que dentes obturados com lesões pré-operatórias em pacientes diabéticos foram em sua maioria classificados falhos em comparação com a indivíduos saudáveis (Fouad, 2003). Dentre os fatores com melhores evidências que alterem o prognóstico destacam-se um aumento na patogenicidade do perfil microbiano e a alta prevalência de *C. Albicans* em dentes com PA de pacientes com DM2 (Aldoss et al., 2023; de la Torre-Luna et al., 2020). A prevalência de cepas de *C. albicans* no interior do SCR é preocupante, uma vez que, associa-se um alto padrão de destruição em pacientes com DM (Segura-Egea et al., 2015). Como também, associa-se a uma possível repercussão sistêmica da PA em indivíduos diabéticos, uma vez que, a inflamação crônica ativa a resposta imune inata através do lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias gram-negativas anaeróbias podendo promover um aumento na resistência geral à insulina e alteração do controle metabólico (Segura-Egea et al., 2015). Em concordância a este achado, o estudo clínico de De la Torre-Luna et al., (2020), ao avaliar a prevalência de *C. albicans* na infecção endodôntica de pacientes com DM2, sugerem sua presença associada a uma resposta do hospedeiro deficiente devido ao DM, associando-se à maior frequência e gravidade da PA sugerindo por sua vez, a persistência da PA relatada por outros autores. Outra importante relação, diz respeito a alta prevalência, níveis e proporções de *E. faecalis* em dentes com PA, e de casos que com ausência de reparo periapical em indivíduos com DM (Tirukkolluru & Thakur, 2019). O ensaio clínico que avaliou a eficácia antimicrobiana de medicamentos intracanaís contra *E. faecalis* e *Streptococcus* spp. em pacientes com PA e DM2, são os pioneiros em demonstrar diferenças pós-instrumentação (S1) e pós-medicação intracanal (S2), descrevendo a porcentagens ativas de 11% a 60% para *E. faecalis* e *Streptococcus* spp. pós-instrumentação do SCR (Tirukkolluru & Thakur, 2019). Tirukkolluru & Thakur, (2019), são consistentes em reportar inconsistências existentes na literatura no que diz respeito à associação entre DM2 e os desfechos endodônticos principalmente por variações nos desenhos dos estudos, protocolos de desinfecção, soluções de irrigação, tempo de aplicação do medicamento, métodos de amostragem e meios de transporte utilizados. O modelo de Cardoso et al. (2017) ao associar TCFC para determinar o volume de destruição óssea periapical e correlacionando-o com os níveis de endotoxinas e a quantificação de carga microbiana encontradas na infecção endodôntica primária, parece ser capaz de responder um dos desfechos da relação bidirecional entre DM2 e PA. Seus dados 7 revelam uma correlação positiva entre níveis elevados de endotoxinas presentes na infecção do canal radicular e maior volume de destruição óssea (Cardoso et al., 2017). Devido à falta de melhores evidências científicas, diversos fatores de confundimento são apontados como fator de risco, dentre eles a influência do tratamento endodôntico perante o controle glicêmico do DM2. Embora vários estudos de intervenção tenham sugerido que o tratamento pode melhorar o controle glicêmico de pacientes com DM, nem todos os autores chegaram a um consenso e as evidências clínicas permanecem inconclusivas. Pérez Losada et al. (2020), avaliaram a associação entre a prevalência PA e controle glicêmico e não encontram maior prevalência de lesões em pacientes com hemoglobina glicada (HbA1c) aumentada. Por outro lado, pacientes diabéticos descompensados, foram associados a uma maior prevalência de PA e a um aumento na taxa de insucesso no tratamento endodôntico (Smadi, 2017). Como também, observou-se o tratamento endodôntico não foi capaz de melhorar os níveis de HbA1c $\leq$ 6,5% em pacientes com DM2 (Sánchez-Domínguez et al., 2015). A dor pós-operatória endodôntica é uma complicação frequentemente associada ao tratamento endodôntico, podendo ter um impacto na qualidade de vida dos pacientes e na sua 4 percepção subjetiva das opções de tratamento. Além disso, têm sido observado que pacientes com maior percentual de HbA1c podem não responder com precisão ao teste de sensibilidade pulpar. Uma das hipóteses reportadas pela literatura é de que, provavelmente a neuropatia diabética afete a recepção sensorial da infecção ou da inflamação bacteriana. Embora, a HbA1C seja um fator de risco independente para a neuropatia diabética, muitos pacientes diabéticos que sofrem de dor neuropática, apresentavam histórico de DM há mais de 5 anos e aumento nos parâmetros de HbA1C (Gonzalez Marrero et al., 2022). No entanto, melhores evidências científicas são necessárias para investigar a correlação entre DM e sensibilidade dentária. Têm crescido de forma consistente o número de evidências que associam as consequência dos sintomas de dor durante e pós-tratamento na qualidade de vida (QV) com o tratamento endodôntico nos últimos anos (Lakshmi et al., 2021; Shetty et al., 2023). A consequência destes sintomas na QV ou na rotina diária dos pacientes são importantes parâmetros para identificar o impacto das doenças e, em última análise determinar o benefício do tratamento para a vida dos pacientes. Na endodontia, diversos estudos consideraram os resultados da dor e dos sintomas durante atendimento como moduladores da QV, e cada vez mais atenção está sendo dada aos resultados de QV em estudos associados ao tratamento endodôntico e ensaios clínicos, seja como medida de resultado primário ou secundário (Shetty et al., 2023). No contexto das expectativas de um indivíduo, a ζ dor física ζ e ζ desconforto psicológico ζ são os piores parâmetros associados aos efeitos do pós-operatório. Pontuações mais altas também foram identificadas para dor física e desconforto psicológico em estudos que examinaram a associação entre fatores endodônticos e qualidade de vida, demonstrando que sintomas e dor pré e pós-operatória são as primeiras linhas de comunicação para alterações ao tratamento endodôntico (Lakshmi et al., 2021). A saliva, por sua vez, desempenha um papel essencial na manutenção da saúde bucal, envolvendo

em sua composição substâncias orgânicas e inorgânicas (de Freitas et al, 2023), que atuam: na constante hidratação da mucosa oral, fundamental para a integridade dos tecidos moles da cavidade bucal (Dawes et al., 2015); no sistema de tamponamento, composto por bicarbonato, fosfato e proteínas, na neutralização da acidez, protegendo os dentes contra a desmineralização e a progressão da cárie dentária (Gao et al., 2016); na presença de elevadas concentrações de cálcio e fosfato, reguladas por proteínas salivares, também contribuindo para os processos de remineralização e maturação do esmalte dentário (Humphrey & Williamson, 2001). Ademais, enfatizamos seu desempenho crucial na eliminação de patógenos e reparo tecidual (Alhajj and Babos, 2022, de Almeida et al., 2008). Nesse contexto, pacientes com DM, especialmente aqueles com controle glicêmico inadequado, frequentemente apresentam fluxo salivar reduzido (xerostomia) e pH salivar mais baixo, alterações que podem favorecer o desenvolvimento de infecções orais e complicar o processo de cicatrização após tratamentos dentários (Leite et al., 2014; AlMaweri et al., 2021). Um estudo conduzido com 150 indivíduos, incluindo pacientes com diabetes tipo I e II e controles saudáveis, demonstrou redução significativa do fluxo salivar nos grupos diabéticos em comparação aos controles, além de associação entre níveis elevados de hemoglobina glicada (HbA1c) e menor taxa de secreção salivar, evidenciando o impacto do descontrole glicêmico na função das glândulas salivares (Hoseini et al, 2017).

O estresse oxidativo, dano causado aos tecidos devido ao desequilíbrio entre espécies reativas de oxigênio (ROS) e a defesa oxidante, desempenha um papel importante na patogênese de muitas doenças sistêmicas e orais (Mirnic et al, 2022). O alto índice glicêmico, em exposição prolongada, está diretamente relacionado ao aumento da produção de ROS e consequentemente nos danos oxidativos provocados aos lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e na sinalização da insulina, favorecendo a progressão das complicações diabéticas (Bhatti et al, 2022). Os níveis de estresse oxidativo podem ser mensurados a partir de biomarcadores que representam subprodutos das ROS e biomoléculas (Albert-Garay et al, 2022). Recentemente uma análise bibliométrica evidenciou crescente interesse nas publicações científicas acerca da inter-relação entre os biomarcadores de estresse oxidativo, doença periodontal e DM, associando positivamente sua coexistência em 97,36% dos artigos analisados (Lobão, 2023). No entanto, ainda existe uma lacuna específica da literatura na investigação quanto à relação entre estresse oxidativo salivar e lesões endodônticas em pacientes com DM tipo II.

A saliva tem se consolidado como uma ferramenta promissora para o diagnóstico não invasivo de diversas condições sistêmicas e orais, principalmente por sua coleta ser simples, indolor e bem tolerada pelos pacientes. Diferentemente de outros fluidos biológicos, a saliva pode ser obtida sem necessidade de procedimentos invasivos, o que a torna especialmente útil em estudos clínicos e epidemiológicos de grande escala. Além disso, sua composição rica em biomarcadores γ como proteínas, ácidos nucleicos, metabólitos e enzimas γ reflete o estado fisiológico e patológico do organismo, permitindo não apenas o monitoramento da saúde bucal, mas também a identificação precoce de alterações sistêmicas, como a diabetes mellitus (Rao et al., 2009). Em particular, a análise dos indicadores de estresse oxidativo pode fornecer insights valiosos sobre os efeitos da hiperglicemia crônica na resposta inflamatória local e no processo de cicatrização tecidual. Assim, ao comparar os níveis de dano oxidativo salivar entre indivíduos normoglicêmicos e diabéticos com periodontite apical (PA) crônica, espera-se compreender melhor os mecanismos bioquímicos mediados pelas espécies reativas de oxigênio (EROs) e sua possível influência na prevalência, severidade e reparo das lesões endodônticas. Apesar dos avanços na compreensão da relação entre doenças sistêmicas e condições inflamatórias orais, ainda são escassas as investigações que associam longitudinalmente o perfil bioquímico salivar ao processo de reparo apical em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 submetidos à terapia endodôntica. A maioria dos estudos disponíveis limita-se a avaliações transversais ou centradas na periodontite, não contemplando as alterações oxidativas e metabólicas em casos de necrose pulpar e PA. Dessa forma, o presente projeto propõe uma abordagem original ao monitorar, em diferentes fases do tratamento endodôntico, as alterações no microambiente salivar de pacientes com e sem diabetes, utilizando biomarcadores não invasivos para elucidar mecanismos inflamatórios e de estresse oxidativo associados à resposta terapêutica. Tal estratégia não apenas amplia o conhecimento sobre a interface entre saúde sistêmica e endodontia, como também pode contribuir para o desenvolvimento de novas ferramentas de monitoramento clínico baseadas em saliva. A hipótese nula deste estudo é que não há diferenças nos parâmetros bioquímicos salivares e nos marcadores do estado redox salivar entre indivíduos normoglicêmicos com PA crônica e indivíduos com DM tipo II com PA crônica, nos diferentes momentos de avaliação, a saber: antes do tratamento endodôntico (T0), imediatamente após a obturação dos canais radiculares (T1) e após 6 meses de preservação (T2).

Hipótese:

De acordo com a literatura publicada até o momento, observa-se, um predomínio de estudos experimentais e observacionais transversais e diferentes fatores de viés. De um modo geral, a temporalidade, verificada através de estudos longitudinais têm sido pouco explorada, apoiando a fraca associação como fator de risco entre a infecção endodôntica e o DM2, o que pode explicar a inconsistência nos resultados de ensaios clínicos que investigaram a associação entre a prevalência de PA e diabetes a uma grande variabilidade e inconsistências nos desfechos secundário (Pérez-Losada et al., 2020; Segura-Egea et al., 2019; Loureiro et al., 2022). De acordo com as informações anteriores, e da escassez de comprovações científicas sólidas, até o momento nenhum estudo in vivo foi realizado para identificar a influência da persistência de lesões periapicais em pacientes com DM2 e com PA e relacioná-los quanto à redução do perfil microbiano dor pós-operatória, controle glicêmico, qualidade de vida e regressão da lesão periapical por TCFC. Ademais, hipótese nula deste estudo é que não há diferenças nos parâmetros bioquímicos salivares e nos marcadores do estado redox salivar entre indivíduos normoglicêmicos com PA crônica e indivíduos com DM tipo II com PA crônica, nos diferentes momentos de avaliação, a saber: antes do tratamento endodôntico (T0), imediatamente após a obturação dos canais radiculares (T1) e após 6 meses de preservação (T2).

Objetivo Primário:

Comparar a carga e o perfil microbiano de canais radiculares de dentes com periodontite apical crônica em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, ou não diabéticos antes e após o preparo químico mecânico e medicação intracanal; comparando desfechos de dor pós-operatória, controle glicêmico, qualidade de vida e regressão da lesão periapical por TCFC nos 2 grupos. avaliar os padrões bioquímicos salivares e marcadores do estado redox salivar em pacientes diabéticos com PA crônica em comparação a pacientes normoglicêmicos e monitorar os efeitos do tratamento endodôntico no perfil bioquímico da saliva comparando pacientes com e sem diabetes por meio da análise longitudinal.

Objetivo Secundário:

a) Monitorar carga bacteriana total e o perfil microbiano específico - E. faecalis, P. gingivalis, T. forsythia, T. denticola, F. nucleatum e C. albicans - pelo método de reação em cadeia de polimerase em tempo real - RTqPCR em pacientes com DM2 em comparação a normoglicêmicos; b) Avaliar a relação entre DM2 e a prevalência de PA antes e após 6 meses da obturação utilizando tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC); c) Comparar a persistência de lesões periapicais quanto à redução de UFC/mL, e a volumetria da lesão periapical (VLP) após 6 meses; d) Avaliar a dor pós endodôntica pela escala visual analógica de dor (EVA) e a qualidade de vida pós-operatória imediata (OHIP-14), em pacientes com DM2 em comparação a normoglicêmicos; e) Avaliar a possível relação do tratamento endodôntico no controle glicêmico de pacientes com DM2 em comparação em pacientes com DM2 em comparação a normoglicêmicos; f) Correlacionar o controle glicêmico com a persistência de periodontite apical em pacientes com DM2, em comparação a normoglicêmicos após 6 meses.

a) Investigar as propriedades bioquímicas salivares por meio da determinação do fluxo salivar, pH e capacidade tamponante, além da quantificação do conteúdo de proteína total e atividade da amilase de pacientes com PA crônica com e sem diabetes;

b) Avaliar o estado redox salivar de pacientes com PA crônica com e sem diabetes por meio da análise do dano oxidativo aos lipídios pelo ensaio de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), dano oxidativo a proteínas por carbonilação pela reação com 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH) e capacidade antioxidante total não-enzimática pelo método FRAP (α ferric reducing - antioxidant power).

c) Monitorar os efeitos do tratamento endodôntico no perfil bioquímico da saliva comparando pacientes com e sem diabetes, antes, imediatamente após e 6 meses após o tratamento o tratamento endodôntico em duas sessões.

e) Avaliar se a remoção do foco infeccioso endodôntico promove modulação de biomarcadores salivares sistêmicos relacionados à inflamação e ao estresse oxidativo em pacientes com DM2, indicando possível impacto terapêutico sistêmico do tratamento odontológico

Metodologia Proposta:

Serão recrutados 50 pacientes. Os participantes serão alocados em dois grupos (n=50/grupo): DM2 com HbA1c = 6,5% e com diagnóstico de DM2 há mais de 1 ano e grupo controle normoglicêmicos com HbA1c < 5,7%, todos com diagnóstico de PA em pelo menos 1 dente. Um questionário estruturado será aplicado incluindo presença ou ausência de DM2, duração do DM2, presença de doença cardiovascular, ingestão específica das drogas metformina e estatina. Variáveis comportamentais e informações por meio do questionário de Qualidade de Vida Relacionada com Saúde Oral (OHIP-14) serão obtidos; após anamnese, todos os pacientes realizarão o exame sérico de hemoglobina glicada (HbA1c) e o exame TCFC no dia do início do tratamento e após 6 meses. Os indivíduos serão acompanhados em 2 semanas e 6 meses. Em cada visita, amostras de sangue serão coletadas e as análises clínicas e radiográficas da condição periapical serão coletadas. Serão realizadas coletas do interior do canal radicular: antes do preparo biomecânico (PQM) (S1), após o PQM (S2) e após a medicação intracanal (duas semanas) (S3). Ao final da sessão, a escala EVA será fornecida para avaliação da sintomatologia dolorosa apresentada nos períodos de 24hs, 48hs e 7 dias. A quantidade de células bacterianas totais e das espécies específicas será avaliada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real direcionada ao gene de RNA (qPCR). Aos 6 meses de acompanhamento, a volumetria da destruição óssea periapical será realizada por TCFC pelo software ITK snap. A estatística será realizada de acordo com cada tipo de análise considerando o nível de significância de 5% (p < 0,05). A coleta de saliva não estimulada será realizada em três momentos: antes, imediatamente após e seis meses após a obturação endodôntica. Serão avaliados fluxo salivar, pH, capacidade tampão, proteína total, atividade de amilase, eletrólitos (Na⁺, Cl⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, PO₄³⁻), ácido úrico, e marcadores de estresse oxidativo, como TBARS (peroxidação lipídica), proteínas carboniladas e capacidade antioxidante total (FRAP). Os procedimentos endodônticos seguirão protocolo padronizado em duas sessões, incluindo instrumentação recíproca, irrigação ativada por ultrassom com NaOCl 2,5% e medicação intracanal com hidróxido de cálcio. As análises serão conduzidas por métodos colorimétricos padronizados em espectrofotometria UV-Vis. Os dados serão tratados no software GraphPad Prism 10.0, com análise descritiva inicial e teste de normalidade (Shapiro-Wilk).

Critério de Inclusão:

1. Homens e Mulheres, de 18 a 80 anos com PA confirmada por radiografia intraoral; 2. Os dentes incluídos devem apresentar radiolucidez apical nas radiografias, não responderão ao teste de vitalidade pulpar ou foram previamente tratados endodônticamente, com ou sem outros sinais e sintomas; 3. Pacientes pré-diabéticos e diabéticos cujos níveis de HbA1c estejam entre 5,5-9%.

Critério de Exclusão:

1. Consumo de imunossupressores; 2. Distúrbios hereditários da coagulação (hemofilia A ou B ou doença de Von Willebrand); 3. Uso de antibióticos por pelo menos 3 meses antes do estudo; 4. Gravidez; 5. Doença Hepática e Renal Crônica; 6. Histórico de traumatismo dentário; 7. Dente Fraturado; 8. Dente Perfurado; 9. Reabsorção radicular interna; 10. Casos de retratamento de canais calcificados; 11. Rizogênese Incompleta; 12. Indivíduos que adquiriram alguma condição sistêmica que interfira com o tratamento; 13. Canais previamente tratados.

Riscos:

A participação neste estudo envolve um risco mínimo. Os participantes serão submetidos a coleta de saliva antes do tratamento endodôntico e a coleta do biofilme microbiano (bactérias) de dentro do dente (que será tratado o canal) que não são invasivas e a de sangue que é uma técnica invasiva. No entanto, embora a coleta de sangue possa gerar desconforto, ansiedade e algumas complicações, ela será realizada por um profissional competente, treinado e apto a manejar as possíveis complicações relacionadas com ela.

Benefícios:

A principal terapia empregada será o tratamento endodôntico (forma mais comum de tratamento da infecção endodôntica, não existindo tratamento alternativo), que será o principal benefício direto que os participantes receberão do estudo. Além disso, os participantes receberão informações sobre como realizar higiene oral e sua importância para a saúde bucal e geral, bem como acompanhamento e orientação frente a importância da adesão e motivação do paciente no sucesso da terapia endodôntica em pacientes com diabetes mellitus tipo 2.

Metodologia de Análise de Dados:

A hipótese de nulidade a ser testada estatisticamente é a de que não existe nenhuma diferença entre os grupos experimentais para os desfechos primários e secundários. O indivíduo será considerado a unidade de análise e todos os parâmetros clínicos serão agregados através do cálculo de médias. Diferenças entre os grupos experimentais serão comparadas através de Análises de Variância para variáveis contínuas e Testes de Qui-quadrado para variáveis categóricas. Comparações ao longo do tempo em cada grupo experimental serão realizadas através do teste t pareado. Todos os testes levaram em consideração um α=5%. Para as análises salivares, os dados serão organizados em planilhas eletrônicas e analisados com o auxílio do software GraphPad Prism 10.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). Inicialmente, será realizada análise descritiva (médias, desvios-padrão, medianas, intervalos

interquartis) e verificação da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para variáveis com distribuição normal, será aplicado o teste t de Student para comparações entre dois grupos independentes (DM2 vs. controle) e a ANOVA de medidas repetidas para comparações intra-grupo ao longo do tempo (prétratamento, pós-obturação e 6 meses). Caso os dados não atendam aos pressupostos de normalidade, serão empregados testes não paramétricos equivalentes, como o teste de Mann-Whitney U e o teste de Friedman, com pós-testes de Dunn.

Associações entre biomarcadores e variáveis clínicas serão exploradas por correlação de Pearson ou Spearman, conforme a distribuição dos dados. Para uma abordagem mais robusta, será empregada análise multivariada por regressão linear múltipla, visando investigar o impacto do tratamento endodôntico nos parâmetros bioquímicos salivares, ajustando os modelos para potenciais fatores de confusão, como idade, sexo, índice de massa corporal, tempo de diagnóstico do diabetes e controle glicêmico (HbA1c). As análises multivariadas serão conduzidas no software IBM SPSS Statistics (versão 29.0 ou superior), que permite a modelagem estatística com controle de covariáveis contínuas e categóricas. Essa abordagem permitirá identificar preditores independentes de resposta bioquímica e oxidativa. O nível de significância adotado será de 5% ($p < 0,05$).

Desfecho Primário:

Após anamnese, todos os pacientes realizarão o exame sérico de hemoglobina glicada (HbA1c) e o exame TCFC no dia do início do tratamento e após 6 meses. Os indivíduos serão acompanhados em 2 semanas e 6 meses. Em cada visita, amostras de sangue e saliva serão coletadas e as análises clínicas e radiográficas da condição periapical serão coletadas. Serão realizadas coletas do interior do canal radicular: antes do preparo biomecânico (PQM) (S1), após o PQM (S2) e após a medicação intracanal (duas semanas) (S3). As amostras serão coletadas de ao menos um dente dos participantes em apenas canais largos e retilíneos (diâmetro inicial mínimo de arquivo K tamanho 15). Antes da coleta da amostra do canal radicular, uma lima K estéril será introduzida com instrumentação mínima para confirmar o acesso ao canal radicular (Loureiro et al., 2022). As coletas serão realizadas da seguinte forma: Coleta Inicial - 1ª Coleta/S1 ; antes do PQM, 2ª coleta/S2 ; após PUI , 3ª coleta/S3após MIC ; 14 dias. Para a coleta de amostras do canal radicular 4 cones de papel absorventes estéreis (Dentsply Maillefer Ind. E Com. Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil) serão introduzidos, individualmente, no interior do canal radicular respeitando-se o comprimento de trabalho e permanecendo nesta posição por 60 segundos para todos os grupos. O primeiro cone de papel introduzido no canal radicular será armazenado em tubo tipo eppendorf (2mL) estéril contendo . Os cones serão armazenados em 1 mL de RNA Ladder e imediatamente armazenadas a -80 °C para posterior processamento molecular (RT-PCR). A saliva coletada será armazenada em microtubos e levadas ao freezer -80 °C até o momento das análises bioquímicas.

A quantidade de células bacterianas totais e das espécies específicas será avaliada por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real direcionada ao gene de RNA (qPCR). A extração de DNA será realizada com o MasterPure kit de purificação (Epicentre, Madison, WI, EUA) de acordo com as instruções do fabricante.

Desfecho Secundário:

Um questionário estruturado será aplicado incluindo presença ou ausência de DM2, duração do DM2, presença de doença cardiovascular, ingestão específica das drogas metformina e estatina. Variáveis comportamentais e informações por meio do questionário de Qualidade de Vida Relacionada com Saúde Oral (OHIP-14) serão obtidos. Cada paciente receberá instruções sobre como utilizar o questionário para avaliação numérica e verbal, antes do início do tratamento e após o tratamento em um intervalo de tempo definido de 15 dias e 6 meses pós-tratamento. A qualidade de vida pós-operatória (POQoL) incluiu pontuações de resposta em uma escala Likert de 5 pontos codificada como 0 = Nunca; 1 = Quase nunca; 2 = Ocasionalmente; 3 = Frequentemente; 4 = Muitas vezes.

Ao final da 1ª sessão do tratamento, será fornecida uma escala analógica visual analógica de dor (EVA) A escala EVA foi adaptada com faces de Wong-Baker a fim de facilitar a compreensão dos pacientes, embora os mesmos tenham sido orientados a indicar numericamente os níveis a intensidade de dor, quando presente, nos períodos após a finalização do tratamento e 6 meses de pós-operatório.

Tamanho da Amostra no 50

Países de Recrutamento		
País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	50

Outras Informações

Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

Detalhamento:

Os participantes responderão a um questionário estruturado, o qual incluirá informações a respeito dos dados demográficos, socioeconômicos, histórico médico detalhado, presença ou ausência de DM2, duração do DM2, presença de doença cardiovascular, lista de medicamentos, ingestão específica das drogas metformina e estatina e variáveis comportamentais como fumo e consumo de álcool. Essas entrevistas serão conduzidas pelo pesquisador responsável.

Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

50

Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
¿ Grupo Controle	25	Indivíduos não diabéticos com HbA1c ¿ 5,7% diagnosticados com pelo menos um dente com PA.
¿ Grupo DM2	25	Indivíduos diabéticos com HbA1 = 6,5% e com diagnóstico de DM2 há mais de 1 ano, com pelo menos um dente com PA.

O Estudo é Multicêntrico no Brasil?

Não

Propõe dispensa do TCLE?

Não

Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Sim

Justificativa:

As amostras serão congeladas a -80 para futuras análises.

Cronograma de Execução

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
5. Redação	10/10/2026	10/04/2027
6. Análise Estatística	10/08/2025	10/01/2027
8. Incorporação da metodologia da coleta da saliva e análises bioquímicas salivares	10/05/2026	10/01/2027
7. Encaminhamento para publicação	10/04/2027	10/06/2027
2.Submissão do Projeto ao CEP	22/10/2024	01/11/2024
4. Tabulação dos Dados	10/08/2025	10/01/2027
3. Levantamento de dados	01/11/2024	30/12/2026
1. Autorização para a realização da pesquisa	22/10/2024	01/11/2024

Orçamento Financeiro

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R\$)
Análise Sérica - Exame de Hemoglobina Glicada	Custeio	R\$ 2.000,00
Total em R\$		R\$ 2.000,00

Bibliografia:

Abushouk S, Lundy F, Linden G, Abdel Hamid MM, Ibrahim Y, El Karim I. Quantitative Analysis of Candidate Endodontic Pathogens and Their Association with Cause and Symptoms of Apical Periodontitis in a Sudanese Population. Eur Endod J. 2021 Apr;6(1):50-55. Aldoss A, Alghofaily M, Alsalleeh F. Bacterial quantity and interleukin-17 expression in necrotic teeth with apical periodontitis from type II diabetic patients. Int Endod J. 2023 Jul;56(7):881-895. Albert-Garay JS, Riesgo-Escovar JR, Salceda R. High glucose concentrations induce oxidative stress by inhibiting Nrf2 expression in rat Müller retinal cells in vitro. Sci Rep. 2022 Jan 24;12(1):1261. doi:10.1038/s41598-022-05284-x. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1978;52:302¿10. doi:10.1016/s0076-6879(78)52032-6. Aminoshariae A, Kulild JC, Mickel A, Fouad AF. Association between systemic diseases and endodontic outcome: a systematic review. J Endod. (2017) 43:514¿9. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. Diabetes Care. 2019; 42(1): 13-28 Arya S, Duhan J, Tewari S, Sangwan P, Ghalaut V & Aggarwal S. (2017) Healing of apical periodontitis after nonsurgical treatment in patients with type 2 Diabetes. Journal of Endodontics, 43, 1623¿1627. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Prieto AKC, et al. Diabetes increases interleukin-17 levels in periapical, hepatic, and renal tissues in rats. Ach Oral Biol. 2017a; 83:230-235. Bernardo Érnica, Loureiro C, Ribeiro APF, Andrade, j. g. de; rodrigues, g. w. l. jacinto, r. de c. research, society and development, [s. l.], v. 10, n. 12, p. e142101220135,

2021. Bordagaray MJ, Fernández A, Garrido M, Astorga J, Hoare A, Hernández M. Systemic and Extraradicular Bacterial Translocation in Apical Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Mar 19;11:649925. Borgo Sarmento E, Helena Teixeira de Lima Ribeiro Andrade R, Cristina Gomes C, Ramôa Pires F, Bastos Valente MI, Mafrá Moreno A, Orsini M, Carvalho Ferreira D, Souza Gonçalves L, Armada L. Proinflammatory Cytokine Expression in Apical Periodontitis from Diabetic Patients. *Int J Dent*. 2023 Feb 10;2023:4961827. Buonavoglia A, Latronico F, Pirani C, Greco MF, Corrente M, Prati C. Symptomatic and asymptomatic apical periodontitis associated with red complex bacteria: clinical and microbiological evaluation. *Odontology*. 2013 Jan;101(1):84-8. Cabanillas-Balsera, D., Martín-González, J., Montero-Miralles, P., Sanchez-Dominguez, B., Jimenez-Sanchez, M.C. & Segura-Egea, J.J. (2019) Association between diabetes and nonretention of root filled teeth: a systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, 52, 297-306. Cardoso FG, Ferreira NS, Martinho FC, Nascimento GG, Manhães LR Jr, Rocco MA, et al. Correlation between Volume of Apical Periodontitis Determined by Cone-beam Computed Tomography Analysis and Endotoxin Levels Found in Primary Root Canal Infection. *J Endod*. 2015 Jul;41(7):1015-9. doi: 10.1016/j.joen.2015.02.005. Cardoso FG, Chung A, Martinho FC, Camargo CH, Carvalho CA, Gomes BP, et al. Investigation of Bacterial Contents From Persistent Endodontic Infection and Evaluation of Their Inflammatory Potential. *Braz Dent J*. 2016 Jul-Aug;27(4):412-8. Cintra LTA, da Silva Facundo AC, Prieto AK, et al. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endodon*. 2014a; 40:1139-1144. Cintra LTA, Facundo ACS, Valentim D, et al. Effect of oral infections on serum creatinine levels in diabetic rats. *International Journal of Diabetology & Vascular Disease Reseach*. 2013b; 1:1-6. Cintra LTA, Samuel RO, Azuma MM, et al. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clinical Oral Investigation*. 2014b; 18:2123-2128. Cintra LTA, Samuel RO, Facundo AC, et al. Relationships between oral infections and blood glucose concentrations or HbA1c levels in normal and diabetic rats. *Int Endodon J*. 2014c; 47:228-237. Cintra LTA, Gomes MS, da Silva CC, Faria FD, Benetti F, Cosme-Silva L, Samuel RO, Pinheiro TN, Estrela C, González AC, Segura-Egea JJ. Evolution of endodontic medicine: a critical narrative review of the interrelationship between endodontics and systemic pathological conditions. *Odontology*. 2021 Oct;109(4):741-769. Chiu CJ, Rabbani N, Rowan S, Chang ML, Sawyer S, Hu FB. (2018) Studies of advanced glycation end products and oxidation biomarkers for type 2 diabetes. *BioFactors*, 44, 281-288. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 138: 271-281. De la Torre-Luna R, Domínguez-Pérez RA, Guillén-Nepita AL, Ayala-Herrera JL, Martínez-Martínez RE, Romero-Ayala ME, Pérez-Serrano RM, Vázquez-Garcidueñas MS. Prevalence of *Candida albicans* in primary endodontic infections associated with a higher frequency of apical periodontitis in type two diabetes mellitus patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Jan;39(1):131-138. Dumanı A, Yoldas O, Yilmaz S, Koksall F, Kayar B, Akcimen B, Seydaoglu G. Polymerase chain reaction of *enterococcus faecalis* and *candida albicans* in apical periodontitis from Turkish patients. *J Clin Exp Dent*. 2012 Feb 1;4(1):e34-9. Estrela C, Bueno MR, Azevedo BC, Azevedo JR, Pécora JD. A new periapical index based on cone beam computed tomography. *J Endod*. 2008 Nov;34(11):1325-1331. doi: 10.1016/j.joen.2008.08.013. Epub 2008 Sep 17. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, vol. 26, pp. S5-S20, 2003. Fouad AF. Diabetes mellitus as modulating factor of endodontic infections. *J Dent Educ*. 2003; 67:459-67. Gambarini G, Piasecki L, Miccoli G, Gaimari G, Nardo DD, Testarelli L. Cone-beam computed tomography in the assessment of periapical lesions in endodontically treated teeth. *Eur J Dent*. 2018 Jan-Mar;12(1):136-143. Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. *J Endod*. 2008 May;34(5):537-40. Gonzalez Marrero Y, Kobayashi Y, Ihsan MS, Pilch LA, Chen L, Jiang S, Ye Y, Fine DH, Falcon CY, Falcon PA, Hirschberg CS, Shimizu E. Altered Prevalence of Pulp Diagnoses in Diabetes Mellitus Patients: A Retrospective Study. *J Endod*. 2022 Feb;48(2):208-212. Gudac J, Hellén-Halme K, Machiulskiene, V. Prognostic validity of the Periapical and Endodontic Status Scale for the radiographically assessed 2-year treatment outcomes in teeth with apical periodontitis: a prospective clinical study. *BMC Oral Health*. 2021, 21, 354. Gupta A, Aggarwal V, Mehta N, Abraham D, Singh A. Diabetes mellitus and the healing of periapical lesions in root filled teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2020 Nov;53(11):1472-1484. Jakovljevic A, Duncan HF. Diabetes Mellitus May Negatively Influence the Outcome of Conventional Nonsurgical Root Canal Treatment. *J Evid Based Dent Pract*. 2020 Sep;20(3):101467. Kozarov E, Sweier D, Shelburne C, Progulske-Fox A, Lopatin D. Detection of bacterial DNA in atheromatous plaques by quantitative PCR. *Microbes Infect*. 2006 Mar;8(3):687-93. Liu X, He G, Qiu Z, Chen F, Wang J, Huang Z, Zhang P, Zhang J, Zhong L, Ding C, Chen X. Diabetes mellitus increases the risk of apical periodontitis in endodontically-treated teeth: a meta-analysis from 15 studies. *J Endod*. 2023 Jul 26;S0099-2399(23)00429-6. Loureiro C, Buzalaf MAR, Pessan JP, Ventura TMO, Pelá VT, Ribeiro APF, Jacinto RC. Proteomic analysis of infected root canals with apical periodontitis in patients with type 2 diabetes mellitus: A cross-sectional study. *Int Endod J*. 2022 Sep;55(9):910-922. Marotta, P.S., Fontes, T.V., Armada, L., Lima, K.C., Rôças, I.N. & Siqueira, J.F., Jr. (2012) Type 2 diabetes mellitus and the prevalence of apical periodontitis and endodontic treatment in an adult Brazilian population. *Journal of Endodontics*, 38, 297-300. Martinho JP, Coelho A, Oliveiros B, Pires S, Abrantes AM, Paulo S, Carvalho AC, Carriho E, Paula A, Carvalho L, Seça R, Botelho MF, Marto CM, Spagnuolo G, Matafome P, Ferreira MM. Impairment of the angiogenic process may contribute to lower success rate of root canal treatments in diabetes mellitus. *Int Endod J*. 2021 Oct;54(10):1687-1698. Nagendrababu V, Segura-Egea JJ, Fouad AF, Pulikkotil SJ, Dummer PMH. Association between diabetes and the outcome of root canal treatment in adults: an umbrella review. *Int Endod J*. 2020 Apr;53(4):455-466. doi: 10.1111/iej.13253. Epub 2019 Dec 19. PMID: 31721243. Pérez-Losada FL, López-López J, Martín-González J, Jané-Salas E, Segura-Egea JJ, Estrugo-Devesa A. Apical periodontitis and glycemic control in type 2 diabetic patients: Cross-sectional study. *J Clin Exp Dent*. 2020 Oct 1;12(10):e964-e971. Pinheiro ET, Candeiro GT, Teixeira SR, Shin RC, Prado LC, Gavini G, Mayer MP. RNA-based Assay Demonstrated *Enterococcus faecalis* Metabolic Activity after Chemomechanical Procedures. *J Endod*. 2015 Sep;41(9):1441-4. Rudranaik S, Nayak M, Babshet M. Periapical healing outcome following single visit endodontic treatment in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Exp Dent*. 2016 Dec 1;8(5):e498-e504. Segura-Egea JJ, Martín-González J, Cabanillas-Balsera D, Fouad AF, Velasco-Ortega E, López-López J. Association between diabetes and the prevalence of radiolucent periapical lesions in root-filled teeth: systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2016 Jul;20(6):1133-41. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J*. 2022 May;55 Suppl 3:512-530. Shelburne CE, Prabhu A, Gleason RM, Mullally BH, Coulter WA. Quantitation of *Bacteroides forsythus* in subgingival plaque comparison of immunoassay and quantitative polymerase chain reaction. *J Microbiol Methods*. 2000 Jan;39(2):97-107. Shetty V, Yelke S, Wahjuningrum DA, Luke AM, Testarelli L, Giardino L, Pawar AM. Post-Operative Quality of Life after Single-Visit Root Canal Treatment Employing Three Different Instrumentation Techniques-An Institutional Randomized Clinical Trial. *J Clin Med*. 2023 Feb 15;12(4):1535. Stys LPA, Böttcher DE, Scarparo RK, Gonçalves Waltrick SB, de Figueiredo JAP, Gomes MS, Campos MM. Serum levels of inflammatory markers and HbA1c in patients with type 2 diabetes and apical periodontitis: Preliminary findings. *Aust Endod J*. 2022 Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen: Ecological differences between the untreated and root-filled root canals. *Endod Topics*. 2003; 6:3-28. Tibúrcio-Machado CS, Michelin C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*. 2021 May;54(5):712-735. Ugur Aydin, Z., Ocak, M.G., Bayrak, S., Goller Bulut, D. & Orhan, K. (2021) The effect of type 2 diabetes mellitus on changes in the fractal dimension of periapical lesion in teeth after root canal treatment: a fractal analysis study. *International Endodontic Journal*, 54, 181-189. Wang S, Wang X, Bai F, Shi X, Zhou T, Li F. Effect of endodontic treatment on clinical outcome in type 2 diabetic patients with apical periodontitis. *Heliyon*. 2023 Feb 22;9(3):e13914. Ye L, Cao L, Song W, Yang C, Tang Q, Yuan Z. Interaction between apical periodontitis and systemic disease (Review). *Int J Mol Med*. 2023 Jul;52(1):60. Smadi L. Apical Periodontitis and Endodontic Treatment in Patients with Type II Diabetes Mellitus: Comparative Cross-sectional Survey. *J Contemp Dent Pract*. 2017;18:358-362. Zimmet, P., Alberti, K.G., Magliano, D.J. & Bennett, P.H. (2016) Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies. *Nature Reviews. Endocrinology*, 12, 616-622.

Arquivo Anexos:

Tipo	Arquivo
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_2336718.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx
Outros	Emenda.pdf
Cronograma	Cronograma.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_pesquisa.docx
Outros	Questionarios_outros.docx
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Solicitacao_assinada_pelo_pesquisador_responsavel.pdf
Comprovante de Recepção	PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_2749886.pdf

Finalizar

Manter sigilo da íntegra do projeto de pesquisa: Sim

Prazo: 3 anos

Justificativa da Emenda:

A presente emenda tem como objetivo a incorporação da metodologia de coleta de saliva e análise de parâmetros bioquímicos salivares ao projeto de pesquisa previamente aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa. A inclusão dessa metodologia fundamenta-se no crescente reconhecimento da saliva como um fluido biológico não invasivo, capaz de refletir alterações metabólicas sistêmicas e o estado redox do organismo. Dessa forma, a análise salivar permitirá complementar os dados já previstos no estudo, ampliando a compreensão das possíveis interações entre a periodontite apical crônica, o diabetes mellitus tipo 2 e a resposta ao tratamento endodôntico. Ressalta-se que a coleta de saliva é um procedimento simples, indolor, não invasivo e amplamente utilizado em pesquisas clínicas, não acarretando riscos adicionais aos participantes nem interferindo nos procedimentos clínicos previamente estabelecidos. A emenda proposta não altera os objetivos principais do estudo, os critérios de inclusão e exclusão, nem o delineamento clínico previamente aprovado, consistindo apenas em um aprimoramento metodológico que agrega valor científico à pesquisa. Dessa forma, a modificação visa aumentar a robustez e a relevância dos achados, sem impactar negativamente a segurança, o bem-estar ou os direitos dos participantes envolvidos. Ademais, foram feitas modificações no TCLE incorporando, na natureza da pesquisa, a coleta salivar. Um item de cronograma foi acrescentado à plataforma, elucidando as datas propostas da ação após aprovação ética. Por fim, foi feita a solicitação do acréscimo de membro de pesquisa, responsável pelas coletas salivares.