

Isadora Yumi Takahashi

Influência da diabetes na calcificação pulpar: Uma revisão sistemática e metanálise

Brasília

2024

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Isadora Yumi Takahashi

Influência da diabetes na calcificação pulpar: Uma revisão sistemática e metanálise

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Taia Maria Berto Rezende

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Ribeiro Garcia

Dissertação apresentada  
como requisito parcial para a  
obtenção do título de mestre  
em ciências da saúde pelo  
programa de pós-graduação  
da Universidade de Brasília

Brasília

2024

## AGRADECIMENTOS

À orientadora **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Taia Maria Berto Rezende** pela orientação e por me dar oportunidade de participar do grupo de pesquisa.

À **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Garcia** pela co-orientação. Seu apoio neste trabalho foi fundamental.

Aos meus pais **Adarlene Aparecida Garcia Takahashi e Carlos Hideo Takahashi** por tudo o que fizeram por mim para que eu tivesse todas as oportunidades que tive na vida, amor, carinho e dedicação que tiveram, eu amo vocês.

Aos meus irmãos **Jorge, Felipe e Estela** amo vocês.

Ao meu afilhado **Pedro Lucca** e minha amiga **Mariana Cardoso**, vocês são luz e obrigada por sempre me apoiarem em tudo.

Aos amigos do grupo **Larissa, Danilo, Jade e Thais**, vocês sempre estiveram comigo em diversos momentos e eu só tenho a agradecer.

À minha psicóloga **Renata**, por ter me ensinado coisas valiosas que eu vou levar ao longo da vida, sempre muito paciente comigo.

Ao **Rogério** pelo carinho e treinos pesados que me ensinaram sobre persistência e dedicação.

À todos que cruzaram meu caminho ao longo dessa caminhada e estiveram comigo eu agradeço de coração. Foi o momento que eu mais cresci na minha vida e aprendi o que é ser resiliente.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, pela oportunidade.

À CAPES, CNPq e FAPDF pelo auxílio financeiro.

Obrigada.

*“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.”*

*Isaac Newton*

## Resumo

Diabetes mellitus é um grupo de doenças metabólicas crônicas caracterizadas pela hiperglicemia, que pode levar a diversas complicações sistêmicas e orais. Dentre estas, alterações orais no qual a calcificação pulpar em pacientes diabéticos está presente. A calcificação pulpar pode complicar os procedimentos de canal radicular e afetar o prognóstico da terapia endodôntica. Esta revisão sistemática teve como objetivo avaliar a influência do diabetes mellitus na presença de calcificações pulpares. Este estudo seguiu as diretrizes do PRISMA e foi registrado na base de dados PROSPERO (CRD42023460959). Foi realizada uma busca abrangente nas bases de dados *PubMed*, *Embase*, *Lilacs*, *Web of Science* e *Google Scholar* entre 10 de julho de 2023 e 5 de setembro de 2023, utilizando termos relacionados a diabetes mellitus, hiperglicemia, complicações do diabetes e calcificação pulpar. Foram incluídos estudos que investigaram a influência do diabetes na calcificação pulpar, incluindo estudos *in vivo*, *in vitro* e observacionais com grupos controle. Dois revisores independentes fizeram a triagem dos títulos, resumos e textos completos dos estudos identificados. A qualidade dos estudos incluídos foi avaliada utilizando as ferramentas JBI, SYRCLE e QUIN. Uma metanálise foi realizada com três estudos observacionais transversais para avaliar a prevalência de calcificação pulpar em pacientes diabéticos em comparação com grupos de controle, utilizando a razão de chances (*odds ratio*) como medida de associação. A seleção dos estudos ocorreu em duas fases. Na primeira fase, 2.297 artigos foram identificados nas bases de dados selecionadas. Após a remoção das duplicatas, 2.232 artigos foram avaliados pelos títulos e resumos, resultando na seleção de 14 artigos para leitura completa. Desses, 5 foram excluídos,

culminando em 9 artigos incluídos na síntese qualitativa. Dos desenhos estudos incluídos, 3 eram *in vitro*, 1 *in vivo*, 1 abrangia análises *in vitro e in vivo*, e 4 eram observacionais. A análise evidenciou que os pacientes diabéticos apresentam maior prevalência de calcificações pulpares comparados aos não diabéticos. A metanálise, que incluiu 3 estudos, revelou que pacientes diabéticos têm 5,19 vezes mais chances de desenvolver calcificações pulpares (OR=5,19; CI=95% 3,70-7,28; I<sup>2</sup>=68%, p=0,05). Conclui-se que o diabetes mellitus aumenta significativamente o risco de calcificação pulpar em pacientes diabéticos, indicando a necessidade de um manejo endodôntico cuidadoso nessa população.

**Palavras-chave:** diabetes mellitus, calcificação pulpar, revisão sistemática.

## Abstract

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia, which can lead to various systemic and oral complications. Among the oral alterations, pulp calcification in diabetic patients is present. Pulp calcification can complicate root canal procedures and affect the prognosis of endodontic therapy. This systematic review aimed to evaluate the influence of diabetes mellitus on the presence of pulp calcifications. This study followed the PRISMA guidelines and was registered in the PROSPERO database (CRD42023460959). A comprehensive search was conducted in the databases PubMed, Embase, Lilacs, Web of Science, and Google Scholar between July 10, 2023, and September 5, 2023, using terms related to diabetes mellitus, hyperglycemia, diabetes complications, and pulp calcification. Studies investigating the influence of diabetes on pulp calcification, including *in vivo*, *in vitro*, and observational studies with control groups, were included. Two independent reviewers screened the titles, abstracts, and full texts of the identified studies. The quality of the included studies was assessed using the JBI, SYRCLE, and QUIN tools. A meta-analysis was conducted with three cross-sectional observational studies to assess the prevalence of pulp calcification in diabetic patients compared to control groups, using the odds ratio as a measure of association. The study selection occurred in two phases. In the first phase, 2.297 articles were identified in the selected databases. After removing duplicates, 2.232 articles were evaluated by titles and abstracts, resulting in the selection of 14 articles for full-text reading. Of these, 5 were excluded, culminating in 9 articles included in the qualitative synthesis. Among the included studies, 3 were *in vitro*, 1 was *in vivo*, 1 encompassed both *in vitro* and *in vivo* analyses,

and 4 were observational. The analysis showed that diabetic patients have a higher prevalence of pulp calcifications compared to non-diabetics. The meta-analysis, which included 3 studies, revealed that diabetic patients have a 5.19 times higher risk of developing pulp calcifications (OR=5.19; CI=95% 3.70-7.28; I<sup>2</sup>=68%, p=0.05). It is concluded that diabetes mellitus significantly increases the risk of pulp calcification in diabetic patients, indicating the need for careful endodontic management in this population.

**Keywords:** diabetes mellitus, pulp calcification, systematic review.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma das etapas realizadas na revisão sistemática. Adaptado do PRISMA.

Figura 2 - Análise de risco de viés dos estudos incluídos: (A) *Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews* para estudos transversais. (B) *The QUIN Tool* para estudos *in vitro*. (C) *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies* para estudos *in vivo*.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados epidemiológicos dos países com maior prevalência de diabéticos ao redor do mundo.

Tabela 2 - Detalhamento do acrônimo PICOT.

Tabela 3 - Razão de exclusão de artigos lidos na fase 2.

Tabela 4 - Tabela de extração de dados dos estudos *in vitro*.

Tabela 5 - Tabela de extração de dados dos estudos *in vivo*.

Tabela 6 – Tabela de extração de dados dos estudos observacionais.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGEs - produtos finais da glicação avançada

CI - intervalo de confiança

DDP-4 - inibidor da dipeptidil peptidase 4

IDF - federação internacional de diabetes

IL - interleucinas

JBI - instituto Joanna Briggs

LDL - lipoproteína de baixa densidade

OR - *odds ratio* – razão de chances

PICOT - P: população; I: intervenção/exposição; C: grupo de comparação; O: desfecho (do inglês *outcome*); e T: tipo de desenho do estudo

ppAR - *peroxisome proliferator-activated receptor*

PRISMA - *preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses*

PROSPERO - *international prospective register of systematic reviews*

SGLT2 - inibidores do cotransportador sódio-glicose 2

TNF- $\alpha$  - fator de necrose tumoral alfa

VEGF - fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Etiologia e epidemiologia Diabetes (Mundial/Brasil).....	12
2.1.1 Etiologia do Diabete (Mundial/Brasil).....	12
2.1.2 Epidemiologia do Diabetes (Mundial/Brasil).....	13
2.2 Alterações sistêmicas presentes no diabetes e formas de controle.....	14
2.3 Alterações pulpares presentes no paciente diabético.....	20
2.4 Calcificação pulpar.....	23
2.5 Relação entre diabetes mellitus e calcificações pulpares.....	24
3. OBJETIVOS.....	27
3.1 Objetivo geral.....	27
3.2 Objetivos específicos.....	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Critérios de elegibilidade.....	28
4.2 Estratégia de busca e seleção dos artigos.....	29
4.3 Coleta de dados.....	30
4.4 Análise de risco de viés.....	31
4.5 Metanálise.....	31
5. RESULTADOS.....	33
5.1 Seleção dos estudos.....	32
5.2 Coleta de dados.....	36
Tabela 4 - Tabela de extração de dados dos estudos <i>in vitro</i> .....	36
Tabela 5 -Tabela de extração de dados dos estudos <i>in vivo</i> .....	37
Tabela 6 – Tabela de extração de dados dos estudos observacionais.....	38
5.3 Análise de risco de viés.....	39
5.4 Metanálise.....	40
6. DISCUSSÃO.....	41
7. CONCLUSÃO.....	49

<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>50</b>
----------------------------	-----------

## 1. Introdução

Diabetes mellitus é uma doença de origem metabólica e de caráter crônico que possui a hiperglicemia como característica principal. Sendo originada a partir de defeitos na produção de insulina, ação ou em ambos os defeitos (1-4). De acordo com a última classificação da Associação Americana de Diabetes de 2021, o diabetes pode ser classificado da seguinte forma: diabetes tipo 1, relacionado à destruição das células beta-pancreáticas; diabetes tipo 2, atrelado ao estilo de vida, causando resistência insulínica; e diabetes gestacional, exclusiva do período de gravidez, no qual algumas mulheres podem desenvolver essa condição (2,3). Além dessas categorias principais, existem tipos específicos de diabetes devido a outras causas. Isso inclui defeitos genéticos na função das células beta-pancreáticas, como diabetes mitocondrial, diabetes neonatal transitório ou permanente, e diabetes de início na maturidade dos jovens (MODY - *Mature Onset Diabetes of the Young*). Defeitos genéticos na ação da insulina também podem resultar em diabetes, como a síndrome de resistência à insulina tipo A. O diabetes também pode estar relacionado a doenças do pâncreas exócrino, como pancreatite, e associado a endocrinopatias, como acromegalia. O diabetes secundário a drogas é outra categoria, envolvendo medicamentos como glicocorticoides, agonistas beta-adrenérgicos e pentamidina. Finalmente, várias síndromes genéticas, incluindo síndrome de *Down*, síndrome de *Turner* e síndrome de *Klinefelter*, estão associadas ao desenvolvimento de diabetes (4).

O diabetes tipo 2 apresenta um grande impacto global com aumento significativo em sua prevalência, sendo considerado uma preocupação de saúde pública, responsável por consequências socioeconômicas significativas (2). A diabetes pode evoluir para uma série de comorbidades como neuropatia, nefropatia, retinopatia, doenças cardiovasculares e cicatrização prejudicada (2,3).

Todas essas complicações à longo prazo afetam o sistema imune tornando o paciente mais vulnerável a infecções (7, 8). Na polpa dental, também ocorrem complicações, pois se trata de um tecido altamente innervado e vascularizado. O paciente diabético pode apresentar mudanças nas estruturas

pulpaes, como angiopatias, espessamento do lúmen da membrana basal e acúmulo de depósitos ateromatosos nos vasos sanguíneos (1,2,8). Em virtude dessas alterações vasculares, as calcificações pulpaes podem estar presentes. Clinicamente, há também alterações relacionadas à região do periápice como a presença de periodontite apical (8).

Em virtude das alterações vasculares nestes pacientes, as calcificações pulpaes podem estar presentes (8). Dessa forma, esta revisão sistemática visa reunir e analisar criticamente estudos clínicos e experimentais *in vitro* e *in vivo* que investigam a influência do diabetes na calcificação pulpar. Espera-se que os dados obtidos possam orientar a prática clínica e o desenvolvimento de diretrizes específicas para o manejo endodôntico de pacientes diabéticos.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Etiologia e epidemiologia Diabetes (Mundial/Brasil)**

#### **2.1.1 Etiologia do Diabetes (Mundial/Brasil)**

Diabetes mellitus é uma doença crônica caracterizada pela hiperglicemia resultado de uma condição metabólica complexa gerada a partir de defeitos na produção da insulina, ação ou ambos (1-9). Em 2021, a Associação Americana de Diabetes (ADA) revisou a classificação do diabetes, abrangendo três tipos principais: o diabetes tipo 1, resultante da destruição autoimune das células produtoras de insulina no pâncreas; o diabetes tipo 2, ligado à resistência à insulina e frequentemente associado ao estilo de vida; e o diabetes gestacional, que surge durante a gravidez. Além desses, há outras formas menos prevalentes, englobando defeitos genéticos que impactam a produção ou ação da insulina, como o diabetes mitocondrial, neonatal e MODY. Doenças pancreáticas, como a pancreatite, endocrinopatias, como a acromegalia, certos medicamentos e síndromes genéticas, como *Down*, *Turner* e *Klinefelter*, também podem desencadear o diabetes (4).

#### **2.1.2 Epidemiologia do Diabetes (Mundial/Brasil)**

Atualmente, o Diabetes tipo 2 é o responsável por 90% dos casos contribuindo para a diminuição da qualidade de vida dos pacientes acometidos pela doença (10). Globalmente, o número de pessoas com diabetes tem quadruplicado nas últimas 3 décadas, se tornando a nona maior causa de morte, onde 1, em cada 11 adultos ao redor do mundo apresenta Diabetes (5,6). Segundo o atlas preparado pela Federação Internacional de Diabetes (IDF), em 2022, houve cerca de 536,6 milhões de adultos diabéticos com idade e China, Índia, Estados Unidos e Paquistão (5). Diversas razões estão relacionadas a este índice como o envelhecimento da população, desenvolvimento econômico, urbanização, estilos de vida não saudáveis, incluindo hábitos alimentares e sedentarismo (6). Em adição, como a Diabetes leva a impactos na qualidade de vida do paciente, devido a comorbidades associadas, ela diminui sua



produtividade em idade ativa perante o mercado de trabalho, levando a uma série de impactos econômicos (3,4,6).

Com relação ao diabetes tipo 1, segundo o mesmo atlas da IDF (2022), anualmente há uma estimativa de 96.000 novos casos do Diabetes tipo 1 diagnosticados em crianças e adolescentes no Reino Unido. Os países com maior incidência de crianças diagnosticadas foram: Finlândia, Sardenha, Suécia, Kuwait, podendo ser diagnosticada em qualquer idade, sendo raro nos primeiros anos de vida. Na maior parte das vezes é diagnosticada após a puberdade entre 15-29 anos. Com relação ao gênero, apesar de pequena diferença, há uma maior incidência entre pessoas do gênero masculino (5). O Brasil, segundo o IDF-ATLAS, apresenta aproximadamente 588.800 casos de diabetes, sendo o terceiro país com mais casos de diabetes tipo 1, sendo que há uma estimativa de aproximadamente 5.025.300 de casos não notificados. Isso demonstra uma necessidade urgente de construção de políticas públicas para obter uma notificação mais acurada (5).

Essa subnotificação ressalta a importância do diagnóstico precoce, especialmente considerando que o diabetes muitas vezes se inicia de forma assintomática e apenas com o passar dos anos os sinais e sintomas começam a aparecer. Durante o estágio inicial, conhecido como pré-diabetes, níveis mais elevados de glicose no sangue podem ser detectados, representando o momento ideal para a intervenção. Os sinais e sintomas que surgem à medida que a doença progride incluem fome, sede, urina em excesso, perda de peso, fraqueza, fadiga, náusea, vômito e dificuldade de cicatrização (1,3).

O diabetes tipo 2, ao contrário do tipo 1, muitas vezes apresenta diagnóstico tardio devido à sua lenta progressão e a sua apresentação quase assintomática. Estima-se que cerca de 50% das pessoas ao redor do mundo com idade entre 20 e 70 anos apresentam a doença, apesar do não conhecimento da mesma (3). Segundo o IDF-ATLAS, nos Estados Unidos aproximadamente 37,3 milhões de adultos com mais de 18 anos de idade apresentam diabetes, totalizando 11,3% da população, dos quais apenas 28,7 milhões tem o diagnóstico (8,7% da população). Estes números geram um impacto econômico grande de aproximadamente 327 bilhões de dólares com os

custos da população diabética direta ou indiretamente. Estes custos não incluem somente os gastos médicos com esta população, mas também uma estimativa relacionada a custos diretos com a produtividade reduzida dessas pessoas devido a morbidade e mortalidade (5).

Tabela 1 - Dados epidemiológicos dos países com maior prevalência de diabéticos ao redor do mundo (5).

País	População total de diabéticos	Número de mortes relacionadas a diabetes	População de diabéticos tipo 1	Referências
China	140 milhões	54.600	56.000	(5)
Índia	74 milhões	647.831	229.400	(5)
Estados Unidos	31 milhões	669.384	157.900	(5)
Paquistão	19 milhões	400.000	5.600	(5)
Brasil	16 milhões	214.175	92.400	(5)
México	13 milhões	184.384	14.000	(5)
Indonésia	10 milhões	273.711	8.600	(5)
Alemanha	9,5 milhões	151.463	35.100	(5)
Egito	8,9 milhões	122.684	12.200	(5)
Bangladesh	8,4 milhões	75.617	5.900	(5)

## 2.2 Alterações sistêmicas presentes no diabetes e formas de controle

Diabetes mellitus é um grupo de doenças metabólicas crônicas com uma patogênese complexa afetando diversos órgãos no corpo podendo levar a uma série de consequências. Essas complicações do diabetes podem ser divididas em micro e macrovasculares. As complicações microvasculares incluem danos ao sistema nervoso (neuropatia); danos ao sistema renal (nefropatia) e danos aos olhos (retinopatia). As complicações macrovasculares incluem doença cardiovascular, acidente vascular cerebral e aterosclerose (1,9). Outro fator também presente na diabetes é a dislipidemia que é o nível elevado de triglicérides e colesterol (especificamente o LDL). É considerada uma alteração lipídica que liga a diabetes ao risco cardiovascular destes pacientes (12,13).

A aterosclerose consiste em um acúmulo de gordura na parede interna das artérias que formam placas com o tempo e que invadem o lúmen das artérias, conseqüentemente impedindo o fluxo sanguíneo (levando a isquemia em várias partes do corpo). A progressão da doença aterosclerótica é denominada doença vascular periférica afetando vasos sanguíneos dos membros inferiores, principalmente em artérias maiores, como a aorta abdominal. Assim, desta forma a formação desta placa de gordura é um processo lento e gradual gerando uma estenose vascular (estreitamento dos vasos sanguíneos) e uma dilatação vascular frequente. A dilatação ocorre para conseguir que o sangue chegue até o órgão alvo. Por isso, a circulação colateral fica prejudicada. Não se consegue um suprimento sanguíneo ideal para a área. Sem sangue, o fluxo de oxigênio é comprometido, o que leva à isquemia. A isquemia está intimamente ligada à dificuldade de cicatrização dos pacientes diabéticos.

Todas essas complicações à longo prazo devido à exposição crônica, lenta e progressiva à altas concentrações de glicose tornam o paciente mais susceptível a doenças como osteomielite, úlceras no pé que podem gerar amputações, se não tratadas e disfunção sexual (4). Estas complicações podem ocorrer de forma episódica, podendo ser tratadas ou de forma progressiva, começando de forma leve, mas com o tempo resultam em danos ao órgão e perda de função geralmente irreversível (1).

O diabetes também está associada à um aumento de marcadores inflamatórios presentes já na fase de pré-diabetes no qual o paciente apresenta um estado inflamatório crônico produzido através de citocinas pró-inflamatórias presentes no diabetes. A IL-6, um mediador presente no paciente diabético é uma citocina pró inflamatória que induz o desenvolvimento da resistência insulínica se caso a sua produção for desregulada. Esta citocina também age em diferentes tecidos como vascular, muscular e esquelético, devido ao seu comportamento pleiotrópico. Ela também atua nas células beta-pancreáticas, levando à uma diminuição do mecanismo de secreção da insulina.

A IL-6 é um marcador inflamatório presente na diabetes, que desempenha um papel importante na modulação da resposta do sistema de defesa do hospedeiro durante um quadro infeccioso, este quadro pode levar à sepse devido à níveis elevados da IL-6. Inclusive, sendo a IL-6 um biomarcador presente para

identificação de sepse. Fenômeno este devido a IL-6 estimula o fígado a produzir proteínas de fase aguda, como a proteína C-reativa (PCR). Tal citocina também desempenha um papel importante na indução de respostas inflamatórias no sistema nervoso central como, por exemplo, a regulação da temperatura corporal durante o processo infeccioso. Uma exposição prolongada a L-6 pode levar à apoptose de neutrófilos, fagocitose e acúmulo de células mononucleares no local da infecção (16–18).

Outra citocina importante para o desenvolvimento da resistência insulínica é o TNF- $\alpha$  que está presente em níveis elevados em diabéticos. O TNF- $\alpha$  produzido por adipócitos e/ou tecidos periféricos prejudica a sinalização da insulina em tecidos como o muscular e o esquelético (15,16). Assim como a IL-6, o TNF- $\alpha$  tem um papel importante na indução da resposta de defesa do hospedeiro. É uma citocina pró-inflamatória com diversas funções que envolvem apoptose, recrutamento celular e diferenciação. Em casos de infecção no paciente diabético, o aumento do TNF- $\alpha$  pode levar a uma resposta inflamatória tecidual exacerbada. Além de que atuam como estímulos para o dano tecidual (19,20).

A diabetes também pode afetar o sistema de defesa do hospedeiro, impactando tanto o sistema imune inato (incluindo macrófagos, neutrófilos e células natural killer) quanto o adaptativo (células T e B). Nos pacientes diabéticos, os macrófagos podem apresentar alterações em suas funções, como a redução na fagocitose (16). Além disso, as células *natural killer*, especialmente na diabetes tipo 1, podem estar relacionadas à destruição de células pancreáticas e à liberação de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a progressão da doença (5, 16, 21). Essas células também estão associadas a uma diferenciação anormal de células do sistema imune adaptativo. Observa-se que a diabetes leva a um desequilíbrio na diferenciação das células T CD4+, demonstrando uma associação da doença com um quadro inflamatório de baixo grau, o que contribui para a liberação de citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, para os distúrbios metabólicos que ocorrem no diabetes (16).

Todas estas alterações na resposta imune do paciente diabético podem levar a deficiências no suprimento sanguíneo e a formação de depósitos

ateromatosos, resultando em uma resposta prejudicada. Sendo assim, o diabético se torna mais susceptível a infecções causadas por bactérias anaeróbicas, devido à dificuldade do transporte de oxigênio através dos capilares (2,3,4).

Além de prejuízos na resposta imune a infecção no diabético, o risco de invasão microbiana é facilitado, devido à neuropatia. A neuropatia diabética deixa o paciente mais susceptível a lesões cutâneas devido à danos aos nervos periféricos, gerando sintomas sensitivos como dor e parestesia. A perda de sensibilidade ocasionado pela parestesia pode fazer com que o paciente não perceba feridas ou lesões cutâneas (1). Este fato, em conjunto com o comprometimento da resposta inflamatória, resulta em falha na eliminação de patógenos (16).

O comprometimento do sistema imune no paciente diabético também repercute nos processos cicatriciais. Dificuldade na cicatrização de feridas afeta aproximadamente 25% dos diabéticos, resultando em amputações que diminuem a qualidade de vida desse paciente. A cicatrização envolve processos biológicos e moleculares e no estado hiperglicêmico apresenta-se alterada devido à vários fatores, como redução na proliferação celular. A função dos fibroblastos também fica comprometida, nestas situações, com redução na produção de colágeno, sendo um aditivo no atraso no processo de cicatrização de feridas. Os processos de angiogênese em condições de hiperglicemia também podem ser comprometidos, devido à diminuição na produção do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (22-25).

As complicações do diabetes acontecem principalmente em função dos picos de hiperglicemia, desta forma o controle glicêmico é essencial para uma maior qualidade de vida. Diferentes formas de controle glicêmicos são propostas: dieta, exercício físico e terapia farmacológica, visando a prevenção do aparecimento de complicações micro ou macrovasculares (26). Desta forma, o tratamento geral da diabetes do tipo 2 se inicia com mudanças no estilo de vida do paciente e monitoramento constante dos níveis de glicose. A dieta e exercício físico são essenciais no tratamento da diabetes com várias vantagens, como manutenção do peso ideal, controle da hemoglobina glicada, além de controle da pressão arterial, indicando uma melhora na qualidade de vida do paciente (26-30).

O tratamento farmacológico da diabetes se inicia quando somente a mudança na alimentação e dieta não são suficientes para controle da glicemia. O tratamento farmacológico da diabetes envolve medicamentos com objetivo de controle da glicemia, mantendo os níveis de glicose em uma faixa adequada para evitar a hiperglicemia e a hipoglicemia. Assim, mantendo os níveis de glicose estáveis se previnem complicações futuras da diabetes. A seleção da medicação depende de fatores que estão relacionados à fatores individuais do paciente como comorbidades ou até mesmo tolerância à medicação, sendo assim, a base do tratamento farmacológico da diabetes são os hipoglicemiantes orais que discutiremos abaixo sobre as classes dessas medicações (29).

Dentre os hipoglicemiantes orais as biguanidas, que incluem a metformina e a fenformina. A metformina é o fármaco de primeira escolha para a terapia farmacológica do diabetes, sendo amplamente utilizado (31). Esta recomendação é baseada na eficácia, segurança, tolerabilidade, baixo custo e extensa experiência clínica com este medicamento. Seu mecanismo de ação é focado principalmente na redução da gliconeogênese hepática. Não havendo assim estímulo para a liberação de insulina no pâncreas do paciente reduzindo o risco de hipoglicemia. Sendo assim, reduz a sensibilidade à insulina e se combinado com mudanças na dieta e atividade física contribui para a perda de peso (29). Há pontos negativos da medicação como efeitos gastrointestinais, desconforto abdominal, náusea vômito e diarreia (25,30). Para prevenção destes sintomas, recomenda-se tomar a medicação após as refeições e um aumento gradual da dose para que se obtenha tolerância (24,29,31,32).

Caso o controle glicêmico não seja atingido com metformina, as sulfonilureias como monoterapia ou até mesmo em combinação com a metformina são uma estratégia terapêutica bem validada. As sulfonilureias são fármacos que propiciam a liberação de insulina pelas células beta-pancreáticas (33). Este fato acontece por causa da liberação de um receptor deste fármaco à um canal de potássio ativado pelo ATP. Isso leva à despolarização dos canais de cálcio e potássio da célula desencadeando a liberação da insulina pelo pâncreas, conseqüentemente reduzindo a glicemia (30). Exemplos destes medicamentos presentes desta classe são: clorpropramida, glicazida e glimepirida. Os pontos negativos destes fármacos incluem o risco de

hipoglicemia, o ganho de peso e o aumento de desfechos cardiovasculares (25,31,33).

As tiazodinenionas são uma classe de medicamentos que entram como uma opção caso esteja resistente à insulina já que aumentam a ação da insulina, ao contrário da sulfonilureias que agem na secreção da insulina (25,30). Seu mecanismo de ação é deflagrado pela ligação à receptores nucleares denominados *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR) do tipo gama, que agem no metabolismo lipídico (33). Há também a recomendação do seu uso em associação com outros medicamentos antidiabéticos, como a metformina. Como pontos negativos, destaca-se a retenção de líquido, associada com o ganho de peso e hipoglicemia, se utilizada em conjunto com sulfanilureias ou insulinas (34,35).

Outra medicação bem tolerada e com baixo risco de hipoglicemia são os Inibidores da dipeptidil peptidase (ddp-4) considerados medicamentos de segunda linha que atuam na inibição da enzima ddp-4 que degrada a incretina, hormônio que regula a glicemia sanguínea, levando a um aumento da insulina (25,30,36). Estudos também demonstraram a eficácia dos inibidores de ddp-4 na diminuição da hemoglobina glicada entre 0,5 e 1% (25,30). Estes medicamentos estão relacionados a perda de peso, uma vez que provocam uma lentidão no esvaziamento do estômago, aumentando a sensação de saciedade atuando em conjunto no tratamento da obesidade (24,25,37).

Dentre as medicações presentes, uma opção que não leva a ganho de peso são os inibidores do cotransportador de sódio-glicose 2 (SGLT2). São medicamentos hipoglicemiantes que inibem a reabsorção de glicose pelos rins resultando em glicosúria (excreção de glicose pela urina), consequentemente reduzindo os níveis glicêmicos plasmáticos (27,28).

A insulina, presente também no tratamento de diabetes é necessária para o tratamento da diabetes mellitus tipo 1; alguns casos do tipo 2, quando o tratamento medicamentoso não tem o efeito desejado no controle de glicemia; hiperglicemias graves ou uma cirurgia importante, por exemplo. Geralmente no tratamento de Diabetes mellitus tipo 2, a insulina é administrada em conjunto com hipoglicemiantes não insulínicos para a obtenção do controle glicêmico adequado (38).

O tratamento deve ser individualizado e de acordo com as preferências do paciente, visando maior adesão ao tratamento. Assim, para os pacientes que preferem não tomar as medicações diariamente, há também os agonistas do receptor de GLP-1 administrados pela via subcutânea. Tais fármacos atuam na redução da glicemia e sensibilidade insulínica, uma vez que se ligam aos receptores de GLP-1 do pâncreas (42). São medicações que estimulam a secreção de insulina e diminuem a secreção de glucagon, sendo eficazes na redução da glicose (39). Além disso, contribuem para que o esvaziamento do estômago seja retardado aumentando a saciedade e resultando em perda de peso (38,40). Os efeitos colaterais estão relacionados a desconfortos abdominais, náuseas e vômitos (36,41).

Além de todas as comorbidades e alterações presentes no paciente diabético, a cavidade oral como um ambiente altamente vascularizado e inervado, também está sujeita a complicações orais (3,42). Sendo assim, é essencial o acompanhamento multidisciplinar, incluindo do cirurgião dentista, uma vez que todas as repercussões sistêmicas podem impactar em condições orais, assim como condições orais, podem agravar o comprometimento sistêmico no paciente diabético (43).

### **2.3 Alterações pulpares presentes no paciente diabético**

Dentre todas as complicações orais presentes, a periodontite é a de maior prevalência nos diabéticos (6,7). No entanto, outras evidências como xerostomia, cárie, periodontite apical, alteração no paladar e doenças peri-implantares também são observadas com alta frequência em pacientes diabéticos (6).

A polpa dental segundo Lopes *et al.* (2015) um tecido um tecido conjuntivo frouxo, inervado e vascularizado localizado no interior da estrutura dentária cujas principais células são odontoblastos, células mesenquimais indiferenciadas e macrófagos (46). Sendo assim, Bender *et al.* (2003) relataram os efeitos da



diabetes na polpa dental (1). Tais como o distúrbio circulatório generalizado onde a vascularização é prejudicada pelo acúmulo de depósitos ateromatosos nos tecidos do lúmen da membrana basal aumentando sua espessura e tornando os diabéticos mais propensos as infecções bacterianas. Essas ocorrem devido a capacidade microbicida dos leucócitos polimorfonucleares se apresentar diminuída (7), além da circulação colateral prejudicada associada a diabetes. Estes fatores aumentam o risco de uma evolução para uma necrose por isquemia e modificações estruturais como redução da concentração de colágeno (8, 49).

Dito isso, o estudo de Moraru *et al.* (2017) realizou uma análise histopatológica do tecido pulpar de pacientes portadores de diabetes tipo 2 (47). Neste estudo, observou-se a presença de um infiltrado inflamatório na área apical formado principalmente por linfócitos e macrófagos, nos pacientes diabéticos. Estes resultados estão em concordância com os do estudo de Cantazarro *et al.* (2006) que demonstraram aumento de mediadores inflamatórios em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina (48). Todas estas repercussões histopatológicas revertem em diferentes respostas aos testes diagnósticos. Kermani *et al.* (2020) observaram uma correlação entre a resposta da sensibilidade ao frio em pacientes diabéticos com idade acima de 45 anos, indicando que o diabetes pode influenciar na sensibilidade da polpa em suas estruturas sensoriais e vasculares. Ademais, as repercussões teciduais também afetam a capacidade tecidual de resposta aos agressores, refletindo em processos clínicos com evolução mais rápida (50). Marrero *et al.* (2022) compararam a prevalência dos diferentes diagnósticos pulpares em pacientes diabéticos. Observou-se um aumento dos quadros de pulpite irreversível sintomática em pacientes diabéticos jovens (menos de 40 anos) e de necrose pulpar em pacientes com idade entre 60-69 anos) (51).

O diabetes também pode impactar no prognóstico do tratamento endodôntico. Smadi *et al.* (2017) conduziram um estudo comparativo transversal sobre a presença de tratamento endodôntico prévio e a prevalência de periodontite apical em diabéticos do tipo 2. Observou-se uma maior prevalência de periodontite apical em pacientes diabéticos (13,5%), do que em pacientes não

diabéticos (11,9%). Quanto as taxas de descompensação no paciente diabético, observou-se que embora o tratamento endodôntico em si possa não afetar os níveis de glicemia, a periodontite apical está diretamente relacionada a uma piora da hemoglobina glicada (11). Em outro estudo, Nagendrababu *et al.* (2020) realizaram uma revisão sistemática sobre a associação do prognóstico do tratamento endodôntico com o diabetes. Neste estudo, concluiu-se que a presença do diabetes mellitus está associado a um prognóstico desfavorável para o tratamento endodôntico, devendo ser levado em consideração durante a anamnese do paciente (52). Desta forma, a literatura aponta para uma redução na defesa do hospedeiro no paciente diabético, o que conseqüentemente afeta o prognóstico do tratamento endodôntico podendo haver ali lesões residuais e o paciente acabar apresentando recidivas no dente já obturado (8). Esta situação de redução da defesa do hospedeiro, também leva a necessidade de uma atenção maior nos cuidados durante a desinfecção do sistema de canais radiculares, a fim de prevenir a disseminação microbiana (7).

A polpa dental por ser um tecido altamente vascularizado, também recebe as conseqüências das alterações vasculares. Neste contexto, Martinho *et al.* (2021) investigaram a associação entre o resultado do tratamento endodôntico, diabetes mellitus e as alterações do processo angiogênico. Observou-se que a presença da diabetes afetou a taxa de sucesso após a realização do tratamento endodôntico. Em adição, no modelo animal de ratos diabéticos, observou-se histologicamente maior inflamação após 21 dias de indução da periodontite apical e um crescimento endotelial vascular aumentado, confirmando que a presença da diabetes mellitus deve ser considerada um fator importante no prognóstico do tratamento endodôntico afetando a angiogênese e o reparo tecidual (53).

## **2.4 Calcificação pulpar**

A calcificação pulpar é um fenômeno amplamente observado e caracterizado pela deposição de tecido mineralizado no interior da polpa dental (54). Essas calcificações também comumente referidas como nódulos podem assumir diferentes formas e tamanhos, sendo assim classificadas de acordo com a sua morfologia e localização. Com base na morfologia são classificadas como nódulos pulpares verdadeiros e falsos e um terceiro tipo, denominado calcificação difusa. As calcificações verdadeiras são formadas de dentina e possuem um revestimento de odontoblastos; já as falsas, são formadas por células pulpares mineralizadas. As calcificações difusas se encontram com um formato irregular e próximas aos vasos sanguíneos geralmente formadas por depósitos de minerais em respostas à alguma agressão pulpar (54-59).

As calcificações pulpares apresentam relevância clínica devido à sua influência no diagnóstico e tratamento endodôntico dificultando o acesso aos canais radiculares. Desta forma, são consideradas como um desafio clínico para o desenho do planejamento endodôntico (55). As calcificações se apresentam como uma condição de origem multifatorial como idade, doenças sistêmicas, fatores irritantes como cáries profundas, bruxismo, trauma dental, movimentação ortodôntica e até mesmo fatores genéticos (58). Jannati *et al.* (2018) publicaram uma metanálise com o objetivo de estimar a prevalência global de nódulos pulpares onde se coletou dados de aproximadamente 14.093 indivíduos de diferentes países e de ambos os sexos chegando à um número de 36,53% de pessoas ao redor do mundo com calcificação pulpar (60).

A maior parte das calcificações pulpares é resultado de processos fisiológicos de deposição de dentina secundária, já as calcificações patológicas geralmente advêm de injúrias como cáries ou trauma dental (55). O diagnóstico de calcificação está intrinsecamente relacionado à imagem radiográfica já que na grande maioria das vezes os sinais e sintomas estão dentro do padrão de normalidade. Não sendo muitas vezes diagnosticadas por testes de percussão e palpação (56,58). Além das radiografias periapicais, a tomografia computadorizada de feixe cônico também contribui para melhor visualização das calcificações, uma vez que durante o tratamento de um elemento calcificado, tem-se maior probabilidade da ocorrência de perfuração ou fratura devido a

dificuldade de instrumentação. A tomografia é uma ferramenta valiosa para o endodontista pois fornece imagens em todos os três planos sem sobrepor estruturas adjacentes, facilitando a identificação e localização dos canais calcificados (59–61).

O tratamento endodôntico em casos de necrose pulpar em dentes calcificados é complexo, demandando o uso de tecnologias para o tratamento de forma segura. Dentre estas tecnologias, destaca-se a microscopia operatória, que nos fornece ampliação do campo visual, facilitando o tratamento endodôntico nesses casos clínicos (54). Esta tecnologia quando associado ao uso dos inserto de ultrassom, também favorece o procedimento clínico tornando-o menos invasivo e mais preciso. Em adição, de forma mais recente, com o advento da odontologia digital, os guias endodônticos passaram a ser ferramentas úteis para estas situações clínicas, uma vez que melhoram a eficiência do clínico na tentativa de localizar os canais calcificados (62).

As calcificações são de origem multifatoriais, incluindo sua relação com doenças sistêmicas, dentre estas, as doenças cardiovasculares, as doenças autoimunes como a Síndrome de Sjögren e a diabetes mellitus tipo 2 (61). Vários estudos sugerem que as calcificações pulpares surgem como uma manifestação dessas doenças sistêmicas que levam a mudanças fisiológicas que ocorrem em várias partes do corpo, inclusive na polpa dental. Dentre estas, a diabetes mellitus tipo 2 apresenta grande relevância, devido à prevalência encontrada de calcificações pulpares nestes pacientes (56,58,64).

## **2.5 Relação entre diabetes mellitus e calcificações pulpares**

Ao se tratar da relação entre calcificação e diabetes mellitus os estudos demonstram uma relação positiva, onde fatores metabólicos decorridos do diabetes afetam o tecido pulpar (65–67). Dentre essas reações metabólicas existentes, destaca-se o papel dos produtos finais da glicação avançada (AGE's) que são glicoproteínas formadas por uma reação de glicação que liga a glicose

aos lipídeos e proteínas (67). Todas essas reações estão relacionadas à uma dieta rica em açúcares bastante recorrente em diabéticos do tipo 2. Essa progressão de reações metabólicas afetam o tecido dental gerando um acúmulo de AGE's no colágeno presente na dentina (67).

A polpa dental como está intrinsecamente ligada à dentina formando o complexo dentino-pulpar sofre os efeitos da glicose sanguínea tornando os tecidos pulparem com uma maior disponibilidade de AGE's. A produção em excesso de AGE's provoca uma homeostase anormal do cálcio nas células provocando assim uma calcificação ectópica (68). Sendo assim, o estudo de Nakajima *et al.* (2013) observou o acúmulo de AGE's em ratos diabéticos com calcificação pulpar. Também já foram observados distúrbios do fluxo sanguíneo e hipóxia na polpa dental de diabéticos sendo estes danos celulares associados à calcificação pulpar (69). O acúmulo de AGE's nos tecidos pulparem também está associado à uma maior presença de mediadores inflamatórios como IL-6 e IL-1 $\beta$ , contribuindo para uma resposta inflamatória exacerbada principalmente pela indução de espécies reativas de oxigênio (70).

Outro fator também associado à calcificação pulpar de diabéticos é a expressão de Osteopontina que é uma glicoproteína com função associada à regulação da mineralização óssea. A relação da osteopontina com a polpa dental no contexto diabético mostra que em pacientes diabéticos há uma maior expressão dessa proteína relacionada à calcificação pulpar (68). Todos estes resultados condizem com os achados histológicos e clínicos. Em outro estudo, Moraru *et al.* (2017) encontraram calcificações distróficas na análise histológica de polpas de pacientes diabéticos (47).

Desta forma, a relação entre diabetes e calcificações pulparem é um campo de pesquisa ainda em evolução. Em adição, estudos realizados no Chile, Arábia Saudita e Índia demonstraram que pacientes diabéticos são mais propensos à apresentarem calcificações pulparem do que pacientes não diabéticos. Em um estudo realizado no Chile em pacientes diabéticos, o percentual de dentes com calcificação pulpar foi de 47,25%, comparado com apenas 26%, no paciente não diabético. Já em outro estudo realizado na Arábia Saudita, o percentual de calcificação pulpar em pacientes diabéticos foi de 23%

em comparação com 11,25%, no grupo de pacientes não diabéticos. Em um outro estudo, realizado na Índia, foram detectadas calcificações pulpares em 63,3% dos pacientes diabéticos. As diferenças observadas entre estes estudos estão relacionadas as diferentes etnias observadas em cada estudo e a diferença entre o número de indivíduos nos grupos amostrais (62, 72,73).

### **3 Objetivos gerais e específicos**

#### **3.1 Objetivo geral:**

Realizar uma revisão sistemática dos estudos clínicos e experimentais *in vitro* e *in vivo* que investigam a influência da diabetes na calcificação pulpar.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- I. Investigar os estudos clínicos e experimentais que abordam a relação da calcificação pulpar em diabéticos e não diabéticos.
- II. Analisar as implicações clínicas da calcificação na abordagem clínica do tratamento endodôntico de pacientes diabéticos.
- III. Identificar a lacuna do conhecimento sobre calcificação pulpar em pacientes diabéticos.
- IV. Aplicar ferramentas de risco de viés para os estudos selecionados para a revisão sistemática.
- V. Analisar estudos que investigam a prevalência da calcificação pulpar em pacientes diabéticos.
- VI. Realizar metanálise para avaliar a prevalência de calcificação pulpar em pacientes diabéticos.

## 4. Materiais e métodos

Este estudo foi escrito de acordo com o *Preferred reporting items for systematic reviews* (PRISMA) que compõe uma série de itens que guiam a escrita de revisões sistemáticas ou metanálises (74). Foi também realizado o registro do protocolo na base de dados *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) sendo identificado pelo código CRD42023460959.

### 4.1 Critérios de elegibilidade

A revisão sistemática foi estruturada de acordo com a pergunta de pesquisa: existe influência da diabetes mellitus na formação da calcificação pulpar? Pergunta elaborada de acordo com a estratégia de acrônimo PICOT (Tabela 2).

Tabela 2 - Detalhamento do acrônimo PICOT.

<b>P - População</b>	<b>Indivíduos adultos, células pulpares e tecido pulpares</b>
<b>I - Intervenção ou E - exposição</b>	Indivíduos com diabetes, células cultivadas em meio com alta concentração de glicose ou animais com hiperglicemia induzida por medicamento
<b>C - Comparador</b>	Indivíduos normoglicêmicos ou células cultivadas em meio de cultura com concentração de glicose equivalente à normoglicemia
<b>O - Outcome (Desfecho)</b>	Calcificação pulpar
<b>T - Tipo de estudo</b>	Estudos <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> e observacionais



Os seguintes critérios de exclusão e inclusão foram utilizados neste trabalho:

Critérios de inclusão:

1. Estudos que avaliaram a influência da DM na calcificação pulpar realizados em indivíduos diabéticos, animais induzidos à hiperglicemia a partir de medicamentos, células cultivadas em alta concentração de glicose.
2. Estudos que contenham grupo com indivíduos sem nenhuma alteração sistêmica.
3. Estudos que contemplem o desfecho de calcificação pulpar.
4. Estudos observacionais, *in vitro* e *in vivo*.

Critérios de exclusão:

1. Estudos de revistas não-indexadas, anais de congresso, monografias, artigos de opinião ou revisões.
2. Estudos que não contenham grupo com indivíduos sem nenhuma alteração sistêmica.
3. Estudos que não contenham pacientes diabéticos, células cultivadas em meio com alta concentração de glicose ou animais com hiperglicemia induzida por medicamento.
4. Estudos que não contenham o desfecho de calcificação pulpar.

#### **4.2 Estratégia de busca e seleção dos artigos**

A pesquisa foi realizada entre 10 de julho de 2023 e 5 de setembro de 2023, nas bases de dados: *Web of Science*, *PubMed*, *Embase*, *Lilacs* e *Google Scholar*. Para tal foram utilizados os seguintes termos: *diabetes mellitus*, *hyperglycemia*, *diabetes complications*, *dental Pulp calcification*, *dental pulp stone* e *pulp stone*. Todos com os operadores booleanos AND para intersecção e

OR para união dos termos. As chaves de busca para cada uma das bases de dados foram:

*Pubmed: ((Diabetes Mellitus) OR (Hyperglycemia) OR (Diabetes Complications) AND (Dental Pulp Calcification) OR (Dental Pulp Calcifications) OR (Dental Pulp Stone) OR (Pulp Stone)).*

*Embase: ((Diabetes Mellitus) OR (Hyperglycemia) OR (Diabetes Complications) AND (Dental Pulp Calcification) OR (Dental Pulp Calcifications) OR (Dental Pulp Stone) OR (Pulp Stone)).*

*Web os Science: TS: ((Diabetes Mellitus OR Hyperglycemia OR Diabetes Complications) AND (Dental Pulp Calcification OR Dental Pulp Calcifications OR Dental Pulp Stone OR Pulp Stone)).*

*Lilacs: ((Diabetes Mellitus) OR (Hyperglycemia) OR (Diabetes Complications) AND (Dental Pulp Calcification) OR (Dental Pulp Calcifications) OR (Dental Pulp Stone) OR (Pulp Stone)).*

*Google scholar: (("Diabetes Mellitus" OR "Hyperglycemia" OR "Diabetes Complications") AND ("Dental Pulp Calcification" OR "Dental Pulp Calcifications" OR "Dental Pulp Stone" OR "Pulp Stone")).*

A seleção foi realizada por dois revisores (I.V.T. e P.Y.O.) que, individualmente, analisaram os títulos e resumos dos trabalhos selecionados pela busca. As duplicatas foram removidas manualmente e os trabalhos que previamente se encaixaram nos critérios de elegibilidade foram selecionados para a próxima fase. Na fase seguinte, os trabalhos selecionados foram lidos na íntegra e foram mantidos os que ainda se enquadraram nos critérios de inclusão. As discordâncias foram avaliadas entre os dois revisores e com o auxílio de um terceiro avaliador (P.R.G.).

#### **4.3 Coleta de dados**

Dois revisores (I.Y.T. e P.Y.O.) coletaram as informações de cada artigo incluído na revisão sistemática. As informações coletadas foram: título do estudo, autores, ano de publicação, revista, tipo de estudo, objetivo, tamanho da

amostra, idade dos participantes, gênero, método de mensuração da calcificação, descrição da exposição relacionada aos AGEs, descrição do modelo animal (quando aplicável), principais resultados e conclusão.

#### **4.4 Análise de risco de viés**

Visando a avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos, foi realizada a análise de risco de viés. Para os três tipos de estudos incluídos foram utilizadas ferramentas diferentes desenvolvidas de acordo com as características de cada tipo de estudo. Para os estudos observacionais foi utilizada a *JBI critical appraisal checklist for analytical cross sectional studies* (77), estudos *in vivo* a *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies* (78), e estudos *in vitro* a ferramenta *The QUIN tool* (79).

#### **4.5 Metanálise**

Foi realizada uma metanálise a partir de 3 estudos. Araya *et al.* (2020), Almutlaq *et al.* (2019) e Nayak *et al.* (2010) devido à similaridade entre os 3 estudos nos quesitos de população, intervenção e desfecho estes 3 estudos foram selecionados para compor a metanálise que foi conduzida. O primeiro passo conduzido foi a análise da heterogeneidade dos estudos primários a partir do índice  $I^2$ . A metanálise foi conduzida utilizando um modelo de efeito aleatório devido à alta heterogeneidade observada entre os estudos incluídos. A metanálise foi conduzida com o objetivo de investigar a prevalência de calcificação de pacientes diabéticos em comparação com o grupo controle, utilizando-se da *Odds ratio* como medida de associação. O processamento da metanálise foi realizado no programa *Review Manager versão 5.4.* (80).

## 5. Resultados

### 6.1 Seleção dos estudos

A seleção dos estudos ocorreu em duas fases. Na primeira fase foram selecionados 2.297 artigos nas bases de dados selecionadas (*Pubmed, Web of Science, Embase e Google scholar* para literatura cinzenta) (Figura 1). Após a remoção das duplicatas 2.232 artigos foram destinados à leitura de títulos e resumos. Para a segunda fase que consiste em leitura dos artigos na íntegra foram lidos 14 artigos, dos quais 5 foram excluídos (Tabela 3). Após esse processo, 9 artigos foram selecionados para a síntese qualitativa.

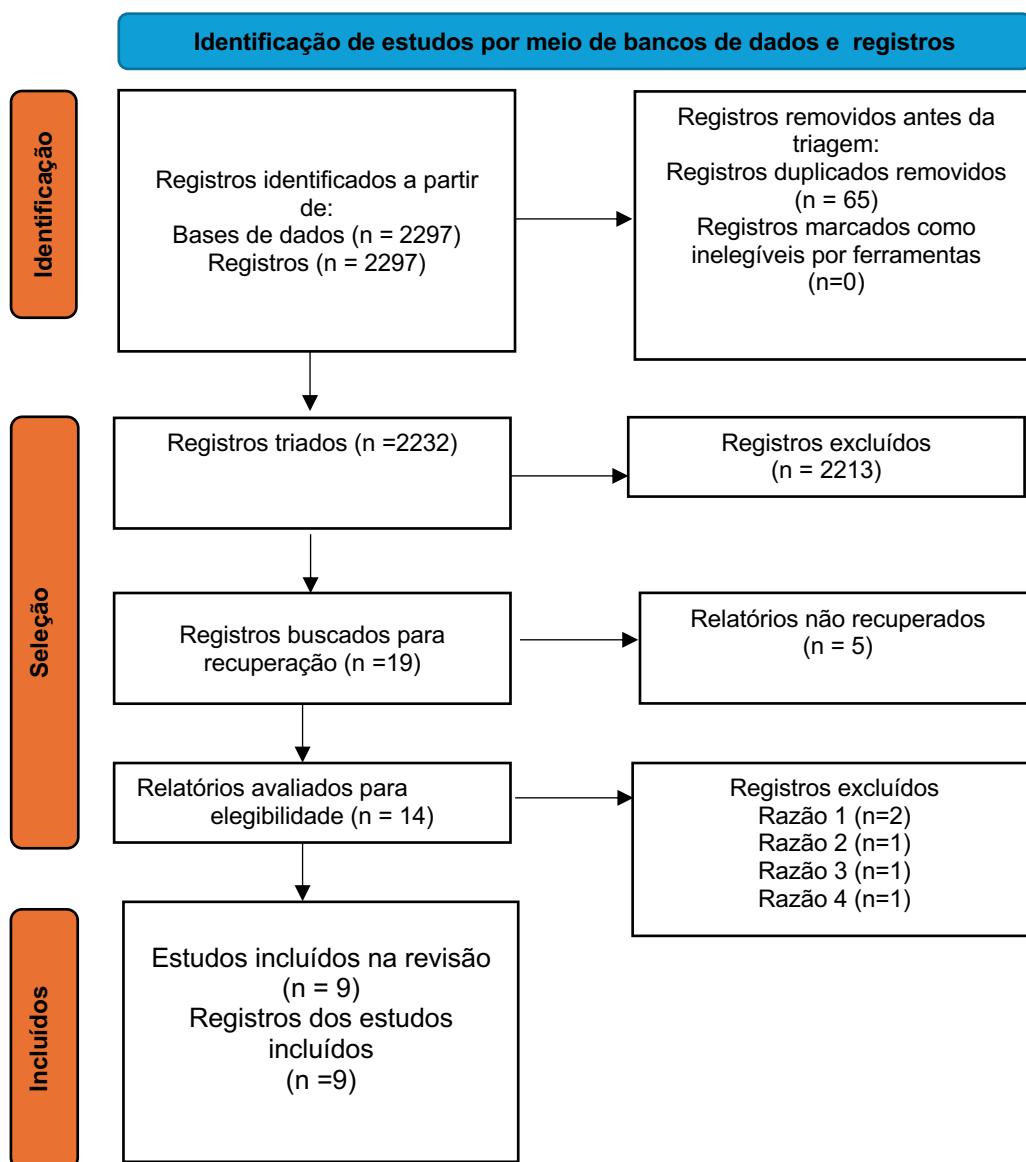


Figura 1 - Fluxograma das etapas realizadas na revisão sistemática. Adaptado do PRISMA (74).

Tabela 3 – Razão de exclusão dos artigos lidos na fase 2.

<b>Autor (ano)</b>	<b>Razão para exclusão*</b>
Moraru <i>et al.</i> (2017)	1
Puşcaşu <i>et al.</i> (2021)	1
Russel <i>et al.</i> (1967)	2
Sygiyama <i>et al.</i> (2022)	3
Nakajima <i>et al.</i> (2014)	4

\*1 = Estudos sem grupo de controle; 2 = Estudo com um grupo amostral pequeno; 3 = Estudo sem um grupo de diabéticos; 4 = Estudo que não envolve desfecho de calcificação.

## 6.2 Coleta de dados

Dos 9 estudos selecionados, 3 eram estudos *in vitro* (Tabela 4), 1 era estudo *in vivo* (Tabela 5), 1 abrangia análises *in vitro* e *in vivo* e 4 eram estudos observacionais (Tabela 6). Com relação aos estudos observacionais, são estudos transversais com tamanhos amostrais variáveis e a idade dos participantes variando entre 20-81 anos de idade. Todos estes estudos se utilizaram de técnicas radiográficas sejam elas periapicais ou tomografias computadorizadas para a detecção de calcificações pulpares. Tais estudos permitem a identificação de fatores de risco e a estimativa da prevalência da calcificação pulpar (62, 72, 73, 81).

O estudo *in vivo* avaliou a formação de cálculos pulpares em animais por meio de métodos histológicos e radiográficos. Foram observadas calcificações pulpares no grupo de ratos diabéticos enquanto nenhuma calcificação foi encontrada no grupo controle. Em adição, este estudo observou por imunohistoquímica a ocorrência de acúmulo de produtos finais da glicação avançada (AGE's) e receptor para produtos finais da glicação avançada (RAGE) nos tecidos dentários (82). O efeito dos produtos finais da glicação avançada na calcificação afetou a atividade de ALP (fosfatase alcalina) e aumentou a formação de nódulos calcificados (68). Uma maior presença de nódulos calcificados também foi observada nos dois estudos *in vitro* incluídos e no estudo de Iganaki *et al.* (2010) (75).

Tabela 4 – Tabela de extração de dados dos estudos *in vitro*.

<b>Estudos <i>in vitro</i></b>				
<b>Autor/ano</b>	<b>Tipo celular estudado</b>	<b>Método de detecção da calcificação</b>	<b>Principais resultados</b>	<b>Conclusão</b>
Alsamahi <i>et al.</i> (2022)	O estudo utilizou células do tecido pulpar de dentes molares permanentes extraídos	técnicas histológicas e morfológicas	O estudo demonstrou diferenças morfológicas na polpa dentária de pacientes com diabetes tipo 2 em comparação com os não diabéticos. E a análise qualitativa indicou que a polpa em amostras diabéticas era consistentemente menos celular, menos vascular, apresentava paredes dos vasos sanguíneos espessadas, calcificação pulpar aumentada e maior deposição de colágeno.	Alterações morfológicas e imunológicas como fibrose, redução na vascularização, presença de calcificações e efeitos pró-inflamatórios na polpa das amostras de diabéticos podem influenciar a resposta a irritantes pulpares, infecções e processos de cicatrização
Nakajima <i>et al.</i> (2013)	Células pulpares e fibroblastos gengivais de ratos Wistar.	Técnicas histológicas	O tratamento com AGE (50 e 100 mg/mL) aumentou significativamente a atividade da ALP nas células de polpa dentária de ratos em comparação com o controle (tratamento com BSA).	Os produtos finais da glicação avançada (AGE) aumentaram o potencial de calcificação das células de polpa dentária de ratos, sugerindo que os AGE podem estimular a calcificação patológica dos tecidos da polpa dentária em pacientes diabéticos
Okamura <i>et al.</i> (2004)	Células da polpa dental humanas	Técnicas histológicas	As células da polpa dentária mostraram um aumento significativo na proliferação quando cultivadas em meio de alta glicose (4,5 g/L) em comparação com o meio de glicose normal (1,0 g/L). Além disso, a atividade da ALP foi significativamente maior nas células pulpares em meio de alta glicose no dia 7 e permaneceu elevada até o dia 14. No dia 21, a atividade da ALP diminuiu no meio de alta glicose.	A alta concentração de glicose estimula tanto a proliferação quanto a diferenciação das células da polpa dentária humana
Ignaki <i>et al.</i> (2010)	Linhagem celular clonal derivada da polpa dentária de rato RPC-C2A.	Técnicas histológicas	Em células, a concentração de glicose alta aumentou a produção de OPN e fosfatase alcalina. Histologicamente, se encontraram mais calcificações em ratos diabéticos do que não diabéticos.	A OPN está envolvida no aumento de calcificações pulpares patológicas.

Tabela 5 – Tabela de extração de dados dos estudos *in vivo*.

		<b>Estudos <i>in vivo</i></b>				
<b>Autor/ano</b>	<b>Modelo animal idealizado</b>	<b>Método de detecção da calcificação</b>		<b>Principais resultados</b>	<b>Conclusão</b>	
Takashima <i>et al.</i> (2023)	Ratos Spontaneously Diabetic Torii (SDT)-fatty	microscopia eletrônica e análise imunohistoquímica.		Nos ratos SDT-fatty, calcificações pulparem patológicas ocorreram durante a elevação dos níveis de glicose no sangue após 6 semanas, e calcificações granulares foram observadas na polpa dental após 11 semanas. Assim como, Pentosidina, um AGE principal, e o receptor para AGEs foram fortemente expressos na polpa dental dos ratos SDT-fatty. Além de Marcadores inflamatórios S100A8, TNF- $\alpha$ e IL-6 também mostraram resposta positiva na polpa dental dos ratos SDT-fatty, indicando inflamação pulpar.	A glicação fragiliza os vasos sanguíneos, e as forças oclusais danificam mecanicamente esses vasos, sendo esses fatores para a calcificação intrapulpar em diabetes.	
Ignaki <i>et al.</i> (2010)	Ratos Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF), Ratos Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) da mesma idade foram usados como controles não diabéticos.	Técnicas histológicas		Em células, a concentração de glicose alta aumentou a produção de OPN e fosfatase alcalina. Histologicamente, se encontraram mais calcificações em ratos diabéticos do que não diabéticos.	A OPN está envolvida no aumento de calcificações pulparem patológicas.	



Tabela 6 – Tabela de extração de dados dos estudos observacionais.

Estudos Observacionais				
Autor/ano	População estudada	Método de detecção da calcificação	Principais resultados	Conclusão
Almutlaq <i>et al</i> (2020)	1030 participantes com idades entre 15 e 60 anos. Dentre os pacientes, 575 eram homens e 455 eram mulheres. Categorizados nos grupos: pacientes saudáveis e pacientes com cardiovasculares (CVDs) e diabetes mellitus (DM).	Radiografia digital (panorâmica, periapical e bite wing).	49,42% dos pacientes diabéticos apresentaram calcificações pulpare. Pacientes diabéticos tiveram uma prevalência significativamente maior de calcificações pulpare em comparação com pacientes saudáveis.	Existe uma associação significativa entre o desenvolvimento de calcificações pulpare e a presença de diabetes mellitus.
Araya <i>et al</i> (2020)	Total de 45 pacientes: 14 homens e 31 mulheres. Destes 45, 22 eram diabéticos e 23 pacientes saudáveis com idades entre 29 a 81 anos.	Radiografia digital periapical	Os dentes dos 22 pacientes diabéticos apresentaram mais calcificações do que os dentes dos 23 pacientes não diabéticos.	Pacientes diabéticos apresentam uma maior prevalência de calcificações pulpare em comparação com pacientes sem diabetes mellitus.
Srivastava <i>et al.</i> (2020)	2229 pacientes foram divididos em três grupos: 73 com DCV, 76 com DM, e 80 saudáveis. Idades: jovens (20-35 anos), meia-idade (36-50 anos) e idosos (>50 anos).	Tomografia computadorizada	A prevalência de calcificações pulpare nos pacientes diabéticos foi de 9.01%.	pacientes diabéticos apresentam uma prevalência significativamente maior de calcificações pulpare (PS) em comparação aos sujeitos saudáveis. Os resultados mostraram que a prevalência de PS nos pacientes diabéticos foi de 9.01%, e esses pacientes têm 1.81 vezes mais risco de desenvolver PS em relação aos indivíduos saudáveis.
Nayak <i>et al.</i> (2010)	A população do estudo consistiu em 150 pacientes, com idades entre 20 e 55 anos. Divididos em: Grupo I: DCV, Grupo II: DM tipo II, Grupo III: autoimunes, Grupo IV: desgaste dentário, Grupo V: controle.	Radiografia periapical	Nos pacientes com diabetes mellitus tipo II (Grupo II), a prevalência de calcificações pulpare foi de 7.69% dos dentes examinados.	O estudo concluiu que pacientes com diabetes mellitus tipo II têm uma prevalência significativamente maior de calcificações pulpare em comparação com os pacientes saudáveis.

### 6.3 Análise de risco de viés

A análise de risco de viés foi apresentada na figura 2 de acordo com os tipos de estudos incluídos. Foram utilizadas as ferramentas adequadas para tais. Nos estudos transversais foi utilizada a ferramenta *Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews* (77). Nestes estudos, foi observado um baixo risco de viés (figura 2A). Este fato demonstra existir alta confiabilidade nos estudos. Com relação aos estudos *in vitro* foi utilizada a ferramenta *The QUIN Tool* (79). Nos dois estudos incluídos foram observadas dificuldades em resgatar informações em grande parte dos domínios como por exemplo: explicação detalhada do tamanho da amostra, detalhes do operador, randomização, método de medição do desfecho, detalhes do avaliador do resultado e ocultação (figura 2B). Para avaliação do estudo *in vivo*, a ferramenta *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies* foi utilizada (78). A mesma dificuldade de resgate das informações foi encontrada pela falta de tais descrições nos textos dos artigos dos estudos, exceto para as informações relacionadas a caracterização dos grupos intervenção e controle (figura 2C).

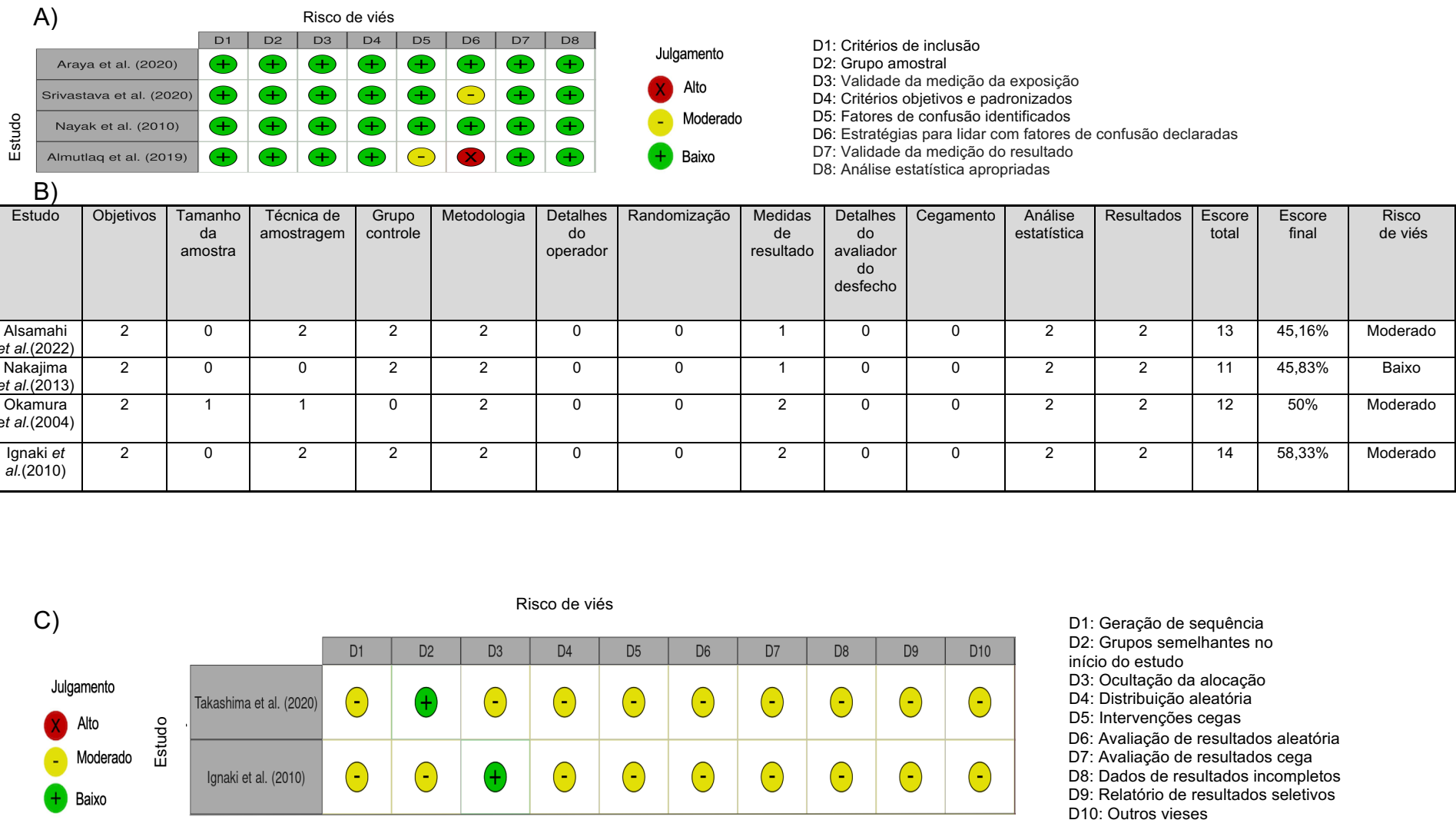


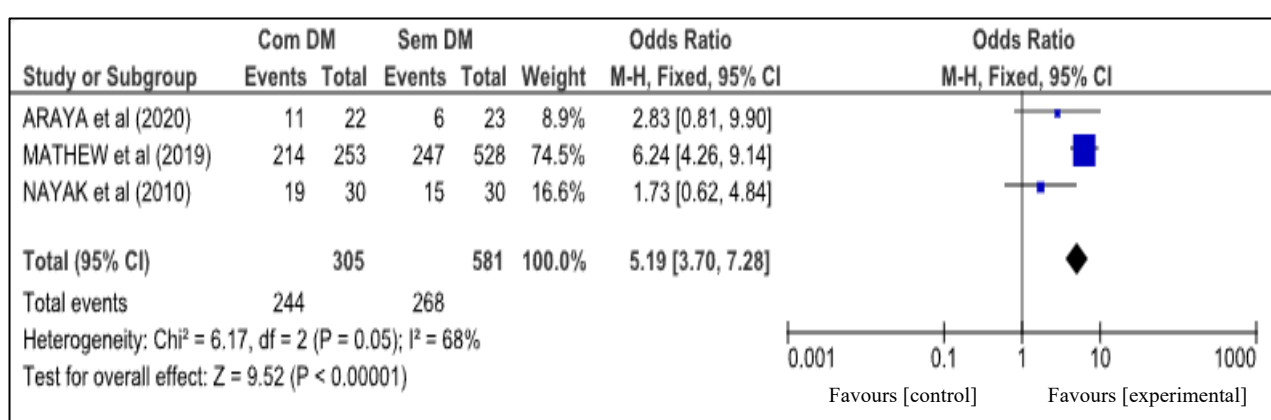
Figura 2 - Análise de risco de viés dos estudos incluídos: (A) *Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews* para estudos transversais (77). (B) *The QUIN Tool* para estudos *in vitro* (79). (C) *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies* para estudos *in vivo* (78).

## 6.4 Metanálise

A metanálise foi realizada a partir de 3 artigos: Araya *et al.* (2020), Mathew *et al.* (2019) e Nayak *et al.* (2010). No gráfico *Florest plot* encontram-se as análises das informações individualizadas dos estudos. O *Florest plot* demonstrou à partir da *odds ratio* global sumarizada pelo diamante, o resultado combinado dos estudos incluídos na metanálise. O valor da *odds ratio global* de 5,19 indica que os Pacientes diabéticos apresentam uma probabilidade 5,19 vezes maior de desenvolver calcificação pulpar do que pacientes do grupo controle, OR=5,19; CI= 95% 3,70-7,28;  $I^2=68\%$ ,  $p=0,05$  (Figura 3).

Os estudos individuais incluídos na metanálise também foram apresentados no gráfico onde cada estudo foi representado por um quadrado. O peso de cada estudo na metanálise foi representado pelo tamanho do quadrado apresentado. O estudo de maior peso foi o de Almutlaq *et al.* (2019) devido ao grupo amostral apresentar-se em maior número. Além de que, a diferença dos tamanhos dos grupos amostrais influenciou na variabilidade ( $I^2$ ) moderada de 68%, principalmente no trabalho de Almutlaq *et al.* (2019). O diamante que representa o efeito geral encontra-se posicionado à direita da linha de nulidade, indicando um efeito positivo entre a associação da diabetes e a prevalência de calcificação (80).

Figura 3 - *Florest plot* relacionado à variável de prevalência de calcificação pulpar em comparação com o grupo controle.



## 6. Discussão:

Sabe-se que a polpa dental é um tecido vascularizado e assim, susceptível a consequências em decorrência de alterações na sua vascularização (1,2). Assim, comorbidades sistêmicas que afetam a vascularização também podem levar a alterações no tecido pulpar. A diabetes mellitus é um exemplo. A diabetes é uma doença metabólica crônica que apresenta uma série de complicações micro e macrovasculares, caracterizadas principalmente pela hiperglicemia (1,8). Desta forma, a hiperglicemia causa alterações nas estruturas pulpares principalmente devido à circulação colateral limitada, o que leva a um risco aumentado de necrose pulpar por isquemia (7). Por sua vez, esta ocorre como uma consequência à diminuição da tensão de oxigênio e recrutamento de células de defesa ao local de lesão, em virtude do comprometimento da circulação sanguínea, não permitindo assim a chegada das células na área de interesse (1,7,8). Além disso, a diminuição da tensão de oxigênio no local da lesão propicia um ambiente de anaerobiose, permitindo que ocorra uma série de complicações presentes na polpa dental destacando-se aqui a calcificação pulpar (1, 8).

Assim, esta revisão sistemática foi desenvolvida com o objetivo de investigar se existe uma associação entre a calcificação pulpar e diabetes mellitus do tipo 2. Com o intuito de responder tal questão, foi realizada uma pesquisa nas bases de dados. A partir das bases de dados *Web of Science*, *PubMed*, *Embase*, *Lilacs* e *Google Scholar*, 2.195 estudos foram resgatados. Destes, apenas 9 estudos foram incluídos na revisão sistemática. Dentre estes, 3 diferentes tipos de estudos foram incluídos (estudos observacionais, *in vitro* e *in vivo*). Destes, 4 são observacionais, 3 *in vitro*, 1 *in vivo* e 1 que contempla ambas as metodologias *in vitro* e *in vivo*. Todos estes estudos reúnem resultados que convergem para uma associação entre calcificação pulpar e diabetes, tornando as evidências até o presente momento concisas. Enquanto os estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram os mecanismos moleculares da calcificação pulpar como aumento dos produtos finais da glicação avançada, os estudos observacionais transversais ressaltaram a prevalência da calcificação pulpar na população diabética. Assim, este trabalho convergiu uma série de dados que permitiu uma visão ampla sobre a calcificação pulpar no paciente diabético.

Srivastava *et al.* (2020) observaram a ocorrência de calcificação pulpar em pacientes com diabetes mellitus, a partir de tomografias computadorizadas de feixe cônico, em um estudo observacional (62). Neste estudo, foram incluídos 76 pacientes com o histórico médico de diabetes mellitus, em comparação com 18 indivíduos sem nenhuma comorbidade pré-existente. Observou-se que 26,68% dos pacientes diabéticos apresentaram calcificações pulpares. Destaca-se o fato deste estudo utilizar como ferramenta, as tomografias computadorizadas. A utilização deste exame mais completo, permite uma detecção mais fiel das calcificações do que no exame bidimensional obtido na radiografia convencional. Estes resultados também corroboram com os observados nos estudos de Nayak *et al.* (2010) (81), Almutlaq *et al.* (2023) (72) e Araya *et al.* (2020) (73) em relação à uma maior presença de calcificações pulpares em pacientes diabéticos.

Almutlaq *et al.* (2023) relataram a presença de calcificações pulpares em 84,57% dos pacientes diabéticos, em comparação com o grupo sem comorbidades pré-existentes que foi de 46,77% (72). Já no estudo de Araya *et al.* (2020), 50% dos pacientes diabéticos apresentaram calcificações pulpares, enquanto apenas 26,09% dos pacientes do grupo sem comorbidades pré-existentes, apresentaram calcificação (73). No estudo Nayak *et al.* (2010), 63,3% dos pacientes diabéticos apresentaram calcificação pulpar, enquanto 50% dos pacientes do grupo sem comorbidades pré-existente apresentaram calcificações pulpares (81). Tais diferenças observadas na prevalência de calcificação entre os estudos, ocorrem principalmente devido à diferença do tamanho dos grupos amostrais.

O controle glicêmico deficiente, segundo Bender *et al.* (2003), atua como fator de risco para o desenvolvimento da calcificação (1). O controle glicêmico insatisfatório pode levar ao acúmulo dos produtos finais da glicação avançada (AGE's), proteínas formadas a partir da reação não enzimática de glicação devido à uma dieta rica em açúcares. O acúmulo de AGE's está associado a complicações crônicas da diabetes, como aterosclerose, retinopatia, nefropatia e doenças cardiovasculares (68). No ambiente pulpar, já foi demonstrado que o acúmulo de AGE's tende a aumentar a formação de nódulos pulpares. Todo este processo tem seu início com o acúmulo de AGE's no tecido pulpar, contribuindo para uma resposta inflamatória exacerbada devido à indução de espécies reativas de oxigênio e formação de mediadores inflamatórios como IL-6 e IL-1 $\beta$  (68,69,71). Outra citocina pró-inflamatória, a IL-1 $\beta$ , é citada no estudo de Ceneri *et al.* (2017). A autora ressalta o papel contribuidor desta

citocina na calcificação vascular. Com o avanço do processo e aumento das citocinas pró-inflamatórias, o processo de reparo do paciente diabético fica dificultado, levando-o à uma inflamação crônica (83). Nakajima *et al.* (2013) realizaram um estudo cujo objetivo foi determinar a associação dos AGE's com a calcificação de tecidos pulpaes de ratos diabéticos. Este estudo demonstrou que AGE's estimulam a osteogênese nas células pulpaes aumentando a formação de calcificações (68). De forma semelhante, um estudo do mesmo autor em 2015 observou que a presença dos AGE's em tecidos da polpa dental de ratos diabéticos levou ao aumento na expressão dos mediadores inflamatórios IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , concluindo-se que os AGE's contribuem para o aumento na expressão de mediadores inflamatórios (68). Takashima *et al.* (2023) também investigaram os efeitos da diabetes na formação de calcificações pulpaes em ratos. Estes autores verificaram a presença de calcificações na polpa de ratos diabéticos, além do acúmulo de AGE's e uma maior expressão de citocinas como IL-6 e TNF- $\alpha$ , corroborando com os estudos já mencionados (82).

No processo inflamatório que ocorre na polpa dental, o estresse oxidativo apresenta um papel importante no desenvolvimento de complicações microvasculares e macrovasculares (68). Levando assim a regulação de fatores pró-inflamatórios que causam disfunção vascular. Há também um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio em altas concentrações de glicose (82). Demonstrando assim, que a hiperglicemia pode levar à um estresse oxidativo. Tais alterações imunológicas também foram relatadas nos estudos de Lima *et al.* (2013), uma revisão narrativa, e Moraru *et al.* (2017) e Alsamahi *et al.* (2022), estudos primários, onde processos inflamatórios crônicos que ocorrem no paciente diabético contribuem com a formação de nódulos pulpaes devido ao processo de reparo da lesão. (7, 47, 76). Além disso, no contexto diabético há uma maior expressão de osteopontina. Esta é uma proteína que está envolvida em diversos processos fisiológicos e patológicos, destacando-se seu papel na mineralização (71). O estudo de Ignaki *et al.* (2010) demonstra que a produção da osteopontina está aumentada na polpa dental de ratos diabéticos e localizada ao redor de nódulos calcificados, sugerindo seu papel na polpa dental de diabéticos (75).

A presença de calcificação pulpar também afeta a resposta aos testes térmicos durante exame clínico. O estudo de Kermani *et al.* (2020) demonstrou uma menor resposta ao teste térmico frio, em dentes pré-molares superiores de pacientes diabéticos com 46 anos ou mais, do que nos pacientes não diabéticos (50). Assim



como a doença diabetes mellitus, a presença de calcificação pulpar também afeta a resposta ao teste térmico como citado no estudo de McCabe *et al.* (2012) (54).

Também se tratando de diagnóstico, Marrero *et al.* (2022) compararam a condições pulpares em pacientes com diabetes mellitus. Os dois achados mais relevantes neste estudo foram o de maior prevalência de pulpíte irreversível em pacientes mais jovens, na faixa etária dos 20-39 anos e de necrose pulpar, em pacientes de 60-69 anos (51). Isso significa que pacientes diabéticos com idades diferentes também podem apresentar respostas diferentes da polpa dental.

Outras oito revisões sistemáticas já foram publicadas anteriormente demonstrando o envolvimento da polpa dental e periápice com a diabetes mellitus. Aminoshariae *et al.* (2017) realizaram uma revisão sistemática com o objetivo de avaliar a relação do resultado do tratamento endodôntico com doenças sistêmicas. Dentre estas doenças sistêmicas, a diabetes mellitus do tipo 2 foi abordada. Foram avaliados 11 estudos (no tocante à diabetes mellitus) onde seis chegaram à conclusão que a diabetes afeta o prognóstico do tratamento endodôntico, enquanto cinco indicaram nenhuma associação entre estes dois fatores. Sendo assim, devido à falta de consenso entre os estudos é inconclusiva a associação entre a diabetes e o desfecho da necessidade de tratamento endodôntico (86). Porém, a revisão sistemática publicada por Segura-Egea *et al.* (2016) demonstrou que há uma maior prevalência de lesões radiolúcidas periapicais em pacientes diabéticos, levando a necessidade de intervenções endodônticas (87).

O trabalho de Gupta *et al.* (2020) se assemelha ao trabalho de Segura-Egea *et al.* (2016) em relação ao escopo de lesões periapicais, mas de forma mais específica Gupta *et al.* (2020) avaliaram a associação entre diabetes e a presença de lesões periapicais. Neste trabalho, concluiu-se que há relação entre o desfecho endodôntico em termos da presença de lesões periapicais em dentes tratados endodonticamente em pacientes diabéticos (85).

Nagendrababu *et al.* (2020) realizou uma síntese de revisões sistemáticas, o que é conhecido como revisão guarda-chuva. Nesta revisão, os autores dissertaram sobre o resultado do tratamento endodôntico em pacientes diabéticos. Identificando que a diabetes atua como fator prognóstico para o tratamento endodôntico destes pacientes (52). Cabanillas-Balsera *et al.* (2019) também focaram em aspectos relacionados ao tratamento endodôntico em sua revisão sistemática. Neste trabalho, os autores focaram na associação entre diabetes e não-retenção de dentes tratados

endodonticamente, observando que há uma relação entre diabéticos e um maior índice de extração de dentes tratados endodonticamente (88). Já Jakovljevic *et al.* (2020) realizaram outra revisão guarda-chuva onde foi visto que a diabetes influencia o resultado do tratamento endodôntico no paciente diabético, principalmente relacionado ao reparo de lesões periapicais (89).

Assim como o estudo anterior, o estudo de Budreikaike *et al.* (2022) é uma revisão sistemática que também fala sobre periodontite apical associada ao tratamento endodôntico de pacientes diabéticos do tipo 2 (90). Já na revisão publicada por Pimenta *et al.* (2022) foi abordado o efeito da diabetes mellitus na polpa dental de forma mais ampla, envolvendo informações sobre comportamento das células pulpares, viabilidade celular, inflamação e expressão proteica (91). Assim, o presente estudo aborda de forma mais específica a relação entre calcificação pulpar e a diabetes mellitus, complementando o conhecimento já existente entre diabetes mellitus e polpa e periápice.

Em virtude das alterações possíveis no espaço pulpar e periapical do paciente diabético, o tratamento endodôntico destes pacientes requer uma anamnese criteriosa destacando pontos importantes como o controle glicêmico. Ponto este essencial a ser monitorado antes, durante e depois do tratamento endodôntico. Outro ponto a ser destacado é um regime de desinfecção do sistema de canais radiculares adequado minimizando a disseminação de microrganismos (8). Em adição, considerando que um paciente diabético apresenta maior probabilidade de apresentar calcificações pulpares, podem existir dificuldades durante o tratamento endodôntico relacionadas a localização e instrumentação dos canais radiculares. Demandando muitas vezes, a necessidade de se lançar mão de tecnologias como tomografia computadorizada, microscopia e endodontia guiada para a resolução dos casos. O uso destas tecnologias pode contribuir para um tratamento mais eficaz, reduzindo o risco de complicações endodônticas e tornando o prognóstico mais favorável (63).

Após o levantamento da literatura sobre o tema iniciou-se a análise dos trabalhos selecionados para a revisão sistemática. Inicialmente, passou-se a análise de risco de viés. Os quatro estudos observacionais apresentaram um baixo risco de viés. Esta análise demonstra a existência de uma alta confiabilidade nos resultados envolvidos na presente análise. De forma contrária, os estudos *in vitro* e *in vivo* selecionados para análise apresentaram um alto risco de viés gerando uma confiabilidade baixa desses estudos (62, 72, 73, 81)

Dos 4 estudos observacionais que foram incluídos nesta revisão sistemática, 3 estudos devido às suas similaridades em relação à população, intervenção e desfecho foram incluídos na fase seguinte com a realização de uma metanálise. O objetivo da metanálise foi avaliar a prevalência de calcificação pulpar em pacientes diabéticos em comparação com pacientes não diabéticos. Esta metanálise demonstrou uma associação entre diabetes e calcificação pulpar. Esta conclusão foi atingida a partir dos resultados da análise de *odds ratio* global que apresentou o valor de 5,19. Indicando que os pacientes diabéticos apresentam uma probabilidade 5,19 vezes maior em desenvolver processos de calcificação pulpar do que pacientes não diabéticos. Neste contexto, ao avaliarmos o peso individual dos estudos que foram incluídos na metanálise, destaca-se o estudo de Almutlaq *et al.* (2023) (72). Este fato ocorre principalmente em virtude do tamanho da amostra neste estudo, contribuindo para sua importância e conseqüentemente, sua relevância nesta metanálise.

Os resultados de qui-quadrado,  $I^2$  e do teste z são resultados que conversam entre si, pois tanto o teste z quanto o teste de qui quadrado buscaram demonstrar que há uma associação estatisticamente significativa entre as variáveis demonstrando assim neste estudo a relação entre calcificação pulpar e a diabetes mellitus. O resultado de 6,17 do qui-quadrado indica uma associação entre estas duas variáveis da metanálise (calcificação pulpar e metanálise) e um valor do teste z de 9,52 indica uma significância estatística desse resultado.

Apesar da heterogeneidade moderada encontrada (68%), principalmente devido a diferenças dos tamanhos dos grupos amostrais dos estudos de Araya, *et al.* (2020) e Nayak *et al.* (2010), em comparação com o estudo de Almutlaq *et al.* (2023), os estudos corroboram entre si demonstrando uma mesma tendência. Os resultados do teste z e qui-quadrado apresentam uma robustez estatística o que significa que o resultado encontrado nessa metanálise não é ao acaso (72, 73, 81).

Todos os estudos *in vitro* e *in vivo* corroboram para a associação positiva entre calcificação pulpar e diabetes demonstrada em estudos observacionais. Além disso, estes estudos observacionais enfatizam a importância das técnicas radiográficas odontológicas no diagnóstico de tais calcificações pulpares e principalmente em relação à tomografia computadorizada que facilita a visualização de forma tridimensional da calcificação pulpar tornando assim, o diagnóstico e tratamento de tal, mais preciso e aumentando as taxas de sucesso do tratamento endodôntico.

Sendo assim, apesar do avanço do conhecimento relacionado à diabetes e calcificação pulpar, nesta revisão foram encontradas algumas limitações como, por exemplo, a heterogeneidade dos estudos incluídos. Os estudos incluídos utilizaram diferentes métodos para detecção das calcificações pulpares (radiografia digital, tomografia computadorizada, técnicas histológicas) o que pode introduzir variabilidade nos resultados. Outra limitação, é a necessidade da realização de maior número de estudos longitudinais que avaliem a progressão da calcificação pulpar em diabéticos, onde também o impacto do controle glicêmico frente à esta progressão pode estar associada neste estudo. Além da necessidade de mais estudos *in vitro* e *in vivo* com abordagens em mecanismos moleculares.

Outro ponto é um detalhamento mais criterioso com relação à randomização e cegamento que também se faz necessário. Os processos moleculares presentes na polpa dental de pacientes diabéticos que levam à calcificação pulpar são complexos, também sendo necessários novos estudos para elucidar tais processos. Assim, faltam também estudos que explorem o impacto do controle glicêmico na prevalência e progressão das calcificações pulpares. Além de estudos observacionais com grupos amostrais maiores.

Sendo assim, este estudo buscou as evidências relacionadas à associação entre calcificação pulpar e diabetes. De modo que esta revisão sistemática explorou a literatura existente sobre o tema reunindo dados qualitativos e a partir da metanálise quantificou esta associação, além de identificar as lacunas do conhecimento.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se concluir que:

- Os resultados sugerem uma associação entre diabetes e calcificação pulpar.
- Pacientes diabéticos, segundo os dados da metanálise, tem uma probabilidade 5,19 vezes maior de apresentar calcificações pulpares do que pacientes normoglicêmicos
- Os estudos transversais apresentaram baixa probabilidade de viés e alta confiabilidade. No entanto, tanto os estudos *in vitro* quanto o estudo *in vivo* mostraram dificuldades em resgatar informações detalhadas, indicando um risco de viés aumentado nesses casos.
- Há a necessidade de estudos longitudinais que avaliem a progressão da calcificação pulpar em pacientes diabéticos e o impacto do controle glicêmico frente à esta progressão.

## 9. REFERÊNCIAS

1. Bender IB, Bender AB. Diabetes mellitus and the dental pulp. *J Endod.* 2003;29(6):383-9.
2. Deshpande AD, Haris-Hayes M, Schootman M. Diabetes Related Complications. *American Physical Therapy Association.* 2008;88(11):1254–64.
3. Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon).* 2014;42(12):698-702.
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 Jan;46(Suppl 1)—S40. doi: 10.2337/dc23-S002. PMID: 36507649. PMCID: PMC9810477.
5. IDF Diabetes Atlas. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2021.
6. O'Connell JM, Manson SM. Understanding the economic costs of diabetes and prediabetes and what we may learn about reducing the health and economic burden of these conditions. *Diabetes Care.* 2019;42:1609-11.
7. Verhulst MJL, Loos BG, Gerdes VEA, Teeuw WJ. Evaluating all potential oral complications of diabetes mellitus. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10(FEB).
8. Lima SMF, Grisi DC, Kogawa EM, Franco OL, Peixoto VC, Gonçalves-Júnior JF, et al. Diabetes mellitus and inflammatory pulpal and periapical disease: A review. *Int Endod J.* 2013;46(8):700–9.
9. Ceriello A, Monnier L, Owens D. Glycaemic variability in diabetes: clinical and therapeutic implications. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019;7(3):221-30.
10. Sun H, Saeedi P, Karuranga S, Pinkepank M, Ogurtsova K, Duncan BB, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2022 1;183
11. Smadi L. Apical periodontitis and endodontic treatment in patients with type II diabetes mellitus: Comparative cross-sectional survey. *Journal of Contemporary Dental Practice.* 2017;18(5):358–62.
12. 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.

13. Cabanillas-Balsera D, Martín-González J, Montero-Miralles P, Sánchez-Domínguez B, Jiménez-Sánchez MC, Segura-Egea JJ. Association between diabetes and nonretention of root filled teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2019;52(3):297–306.
14. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. Vol. 5, *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism.* 2009. p. 150–9.
15. Wu L, Parhofer KG. Diabetic dyslipidemia. Vol. 63, *Metabolism: Clinical and Experimental.* W.B. Saunders; 2014. p. 1469–79.
16. Libby P, Buring JE, Badimon L, Hansson GK, Deanfield J, Bittencourt MS, et al. Atherosclerosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2019 Dec 1;5(1).
17. Shi J, Fan J, Su Q, Yang Z. Cytokines and Abnormal Glucose and Lipid Metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10.
18. Berbudi A, Rahmadika N, Tjahjadi AI, Ruslami R. Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System. *Curr Diabetes Rev.* 2019 Oct 28;16(5):442–9.
19. Akbari M, Hassan-Zadeh V. IL-6 signalling pathways and the development of type 2 diabetes. *Inflammopharmacology.* 2018;26:685–98.
20. Qu D, Liu J, Lau CW, Huang Y. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. Vol. 171, *British Journal of Pharmacology.* John Wiley and Sons Inc.; 2014. p. 3595–603.
21. Akash MSH, Rehman K, Liaqat A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem.* 2018 1;119(1):105–10.
22. Akash MSH, Rehman K, Liaqat A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem.* 2018 Jan 1;119(1):105–10.
23. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E, Papamikroulis GA, Vogiatzi G, Papaioannou S, et al. The role of inflammation in diabetes: Current concepts and future perspectives. Vol. 14, *European Cardiology Review . Radcliffe Cardiology;* 2019. p. 50–9.
24. Greenhalgh DG. Wound healing and diabetes mellitus. *Clin Plast Surg.* 2003 ;30(1):37-45. doi: 10.1016/s0094-1298(02)00066-4.
25. Okonkwo UA, DiPietro LA. Diabetes and Wound Angiogenesis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1419.

26. Kravarusic J, Aleppo G. Diabetes Technology Use in Adults with Type 1 and Type 2 Diabetes. Vol. 49, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2020. p. 37–55.
27. Taneja N, Kukal S, Mani S. Current treatments for type 2 diabetes, their side effects and possible complementary treatments. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2015;7(3):13-18.
28. Neuenschwander M, Ballon A, Weber KS, Norat T, Aune D, Schwingshackl L, et al. Role of diet in type 2 diabetes incidence: Umbrella review of meta-analyses of prospective observational studies. *BMJ*. 2019;366.
29. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A patient-centered approach. *Diabetes Care*. 2012 Jun 1;35(6):1364–79.
30. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Vol. 41, *Diabetes Care*. American Diabetes Association Inc.; 2018. p. 2669–701.
31. Bailey CJ. Metformin: historical overview. Vol. 60, *Diabetologia*. Springer Verlag; 2017. p. 1566–76.
32. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1)
33. Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *JAMA*. 1999 Jun 2;281(21):2005-12.
34. Blaslov K, Naranda FS, Kruljac I, Renar IP. Treatment approach to type 2 diabetes: Past, present and future. *World J Diabetes*. 2018 Dec 15;9(12):209–19
35. Sola D, Rossi L, Schianca GPC, Maffioli P, Bigliocca M, Mella R, et al. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Archives of Medical Science*. 2015;11(4):840–8.
36. Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJA, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, et al. Secondary prevention of macrovascular events in patients with



- type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. Vol. 366, Lancet. 2005.
37. Kahn SE, Haffner SM, Heise MA, Herman WH, Holman RR, Jones NP, Kravitz BG, Lachin JM, O'Neill MC, Zinman B, Viberti G; ADOPT Study Group. Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. Lancet. 2006 Dec 7;355(23):2427-43.
38. Marathe CS, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M. Relationships between gastric emptying, postprandial glycemia, and incretin hormones. Diabetes Care. 2013;36(5):1396–405.
39. White WB, Cannon CP, Heller SR, Nissen SE, Bergenstal RM, Bakris GL, et al. Alogliptin after acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes. Austrian Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2014;7:77.
40. Filippatos TD, Panagiotopoulou TV, Elisaf MS. Adverse effects of GLP-1 receptor agonists. The Review of Diabetic Studies. 2014;11:202–30.
41. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes state of the art. Molecular Metabolism. 2021;46.
42. Brown E, Heerspink HJL, Cuthbertson DJ, Wilding JPH. SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists: established and emerging indications. The Lancet. 2021;398:262–76.
43. Maselli DB, Camilleri M. Effects of GLP-1 and Its Analogs on Gastric Physiology in Diabetes Mellitus and Obesity. In: Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer; 2021. p. 171–92.
44. Segura-Egea JJ, Castellanos-Cosano L, Machuca G, López-López J, Martín-González J, Velasco-Ortega E, et al. Diabetes mellitus, periapical inflammation and endodontic treatment outcome. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012;17(2):356–61.
45. Laukkanen E, Vehkalahti MM, Kotiranta AK. Impact of systemic diseases and tooth-based factors on outcome of root canal treatment. Int Endod J. 2019;52(10):1417–26.
46. Lopes HP, Siqueira JF. Endodontia: Biologia e Técnica. 3ª edição. Editora Koogan, 2015.
47. Moraru AI, Gheorghiu LM, Dascălu IT, Bătăiosu M, Manolea HO, Forna DA, et al. Histological and immunohistochemical study on the dental pulp of patients

- with diabetes mellitus. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2017;58(2):493–9
48. Catanzaro O, Dziubecki D, Calvo Lauria L, Martinez Ceron C, Rodriguez RR. Diabetes and its effects on dental pulp. *J Oral Sci*. 2006;48(4):195-9.
49. Ríos-Osorio N, Muñoz-Alvear HD, Cañón SM, Restrepo-Méndez S, Aguilera-Rojas SE, Jiménez-Peña O, García-Perdomo HA. Association between type 2 diabetes mellitus and the evolution of endodontic pathology. *Quintessence Int*. 2020;51(2):100–7.
50. Tavakolinejad Kermani M, Sanjari M, Nakhaei N, Parioikh M, Abbott P. Comparison of Pulp Sensibility Tests Responses in Type 2 Diabetes Patients and Healthy Individuals. *J Endod*. 2020;46(3):364-9.
51. Gonzalez Marrero Y, Kobayashi Y, Ihsan MS, Pilch LA, Chen L, Jiang S, et al. Altered Prevalence of Pulp Diagnoses in Diabetes Mellitus Patients: A Retrospective Study. *J Endod*. 2022 ;48(2):208-12.
52. 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;53(4):455–66.
53. Martinho JP, Coelho A, Oliveiros B, Pires S, Abrantes AM, Paulo S, et al. Impairment of the angiogenic process may contribute to lower success rate of root canal treatments in diabetes mellitus. *Int Endod J*. 2021; 54(10):1687–98.
54. McCabe PS, Dummer PMH. Pulp canal obliteration: An endodontic diagnosis and treatment challenge. Vol. 45, *International Endodontic Journal*. 2012. p. 177–97.
55. Zeng J, Yang F, Zhang W, Gong Q, Du Y, Ling J. Association between dental pulp stones and calcifying nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2011;6(1):109–18.
56. Appleton MJ, Williams MJ. Ultrastructural observations on the calcification of human dental pulp. *Calcif Tissue Res*. 1973; 11(3):222-37.
57. Abbott PV, Yu C. A clinical classification of the status of the pulp and the root canal system. *Aust Dent J*. 2007;52(1 Suppl).
58. Goga R, Chandler NP, Oginni AO. Pulp stones: A review. *Int Endod J*. 2008 Jun;41(6):457–
59. Şener S, Cobankara FK, Akgünlü F. Calcifications of the pulp chamber: Prevalence and implicated factors. *Clin Oral Investig*. 2009;13(2):209–15

60. Jannati R, Afshari M, Moosazadeh M, Allahgholipour SZ, Eidy M, Hajihoseini M. Prevalence of pulp stones: A systematic review and meta-analysis. *J Evid Based Med*. 2019 May 1;12(2):133–9.
61. Chaves HG dos S, Moreira TPC, Figueiredo B, Macedo IFA, Ferreira I da C, Maia CA, et al. Calcificação pulpar em dentes traumatizados – uma revisão da literatura. *Research, Society and Development*. 2022;11(7)
62. Srivastava KC, Shrivastava D, Nagarajappa AK, Khan ZA, Alzoubi IA, Mousa MA, et al. Assessing the prevalence and association of pulp stones with cardiovascular diseases and diabetes mellitus in the saudi arabian population— a cbct based study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Dec 2;17(24):1–10.
63. da Silva EJNL, Prado MC, Queiroz PM, Nejaim Y, Brasil DM, Groppo FC, et al. Assessing pulp stones by cone-beam computed tomography. *Clin Oral Investig*. 2017 Sep 1;21(7):2327–33.
64. Hsieh CY, Wu YC, Su CC, Chung MP, Huang RY, Ting PY, et al. The prevalence and distribution of radiopaque, calcified pulp stones: A cone-beam computed tomography study in a northern Taiwanese population. *J Dent Sci*. 2018 Jun 1;13(2):138–44.
65. Krastl G, Zehnder MS, Connert T, Weiger R, Kühl S. Guided Endodontics: A novel treatment approach for teeth with pulp canal calcification and apical pathology. *Dental Traumatology*. 2016 Jun 1;32(3):240–6.
66. Kaswan S, Patil S, Maheshwari S, Rahman F, Khandelwal S. The relationship between pulp calcifications and salivary gland calcifications. *J Clin Exp Dent*. 2014;6(5): 474–8
67. Liang-Gie Huang, Gin Chen. A histological and radiographic study of pulpal calcification in periodontally involved teeth in a Taiwanese population. *J Formos Med Assoc*. 2016 Dec;115(4):405-410.
68. Nakajima Y, Inagaki Y, Hiroshima Y, Kido JI, Nagata T. Advanced glycation end-products enhance calcification in cultured rat dental pulp cells. *J Endod*. 2013 Jul;39(7):873–8.
69. Nakajima Y, Inagaki Y, Kido J, Nagata T. Advanced glycation end products increase expression of S100A8 and A9 via RAGE-MAPK in rat dental pulp cells. *Oral Dis*. 2015 Apr 1;21(3):328–34.
70. Leite MF, Ganzerla E, Marques MM, Nicolau J. Diabetes Induces Metabolic Alterations in Dental Pulp. *J Endod*. 2008;34(10):1211–4

71. Okamura T, Nishikawa T, Tanaka A. Calcification on cultured human dental pulp cells exposed to high glucose level. *Oral Medicine & Pathology*. 2009;13(2):47–53.
72. Almutlaq M, Mathew S, Alkhraisi D. Prevalence of pulp stones and its relation with cardiovascular diseases and diabetes mellitus using digital radiographs: a retrospective study. *Ann Dent Spec*. 2019 Oct-Dec;7(4).
73. Araya P, Vega-Marcich M, Olivares K, Wilhelm C, Chaple Gil AM, Fernández E, Toro M. Pulp calcifications in patients with diabetes mellitus. *Rev Cubana Estomatol*. 2020;57(1).
74. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Syst Rev*. 2021 Dec 1;10(1).
75. Inagaki Y, Yoshida K, Ohba H, Seto H, Kido J, Haneji T, et al. High glucose levels increase osteopontin production and pathologic calcification in rat dental pulp tissues. *J Endod*. 2010 Jun;36(6):1014-20.
76. Alsamahi S, Milne TM, Hussaini H, Rich AM, Lara T. Type 2 diabetes and the clinically normal pulp: An in vitro study. *Int Endod J*. 2022 Jun;55(6):660-671.
77. JBI Critical Appraisal Checklist for Analytical Cross Sectional Studies. For use in Systematic reviews. [Internet]. Disponível em: [https://jbi.global/sites/default/files/2020-08/Checklist for Analytical Cross Sectional Studies.pdf](https://jbi.global/sites/default/files/2020-08/Checklist%20for%20Analytical%20Cross%20Sectional%20Studies.pdf). Acesso em: 9 de junho de 2024.
78. Hooijmans CR, Rovers MM, De Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014 Mar 26;14(1).
79. Sheth VH, Shah NP, Jain R, Bhanushali N, Bhatnagar V. Development and validation of a risk-of-bias tool for assessing in vitro studies conducted in dentistry: The QUIN. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 2022 (22)00345-6.
80. Mancini MC, Cardoso JR, Sampaio RF, Costa LCM, Cabral CMN, Costa LOP. Tutorial for writing systematic reviews for the Brazilian Journal of Physical Therapy (BJPT). *Braz J Phys Ther*. 2014;18(6):471–80
81. Nayak M, Kumar J, Prasad LK. A radiographic correlation between systemic disorders and pulp stones. *Indian J Dent Res*. 2010 Jul-Sep;21(3):369-73.

82. Takashima A, Miura J, Sugiyama K, Shimizu M, Okada M, Otani T, et al. Glycation promotes pulp calcification in Type 2 diabetes rat model. *Oral Dis.* 2023 Mar 13;30(2):593-603.
83. Ceneri N, Zhao L, Young BD, Healy A, Coskun S, Vasavada H, et al. Rac2 modulates atherosclerotic calcification by regulating macrophage interleukin-1 $\beta$  production. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017 Feb 1;37(2):328–40.
84. Sun J, Xu Y, Sun S, Sun Y, Wang X. Intermittent high glucose enhances cell proliferation and VEGF expression in retinal endothelial cells: The role of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell Biochem.* 2010;343(1–2):27–35.
85. 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;53(11):1472–84.
86. Aminoshariae A, Kulild JC, Mickel A, Fouad AF. Association between Systemic Diseases and Endodontic Outcome: A Systematic Review. Vol. 43, *Journal of Endodontics.* Elsevier Inc.; 2017. p. 514–9.
87. 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. Vol. 20, *Clinical Oral Investigations.* Springer Verlag; 2016. p. 1133–41.
88. Cabanillas-Balsera D, Martín-González J, Montero-Miralles P, Sánchez-Domínguez B, Jiménez-Sánchez MC, Segura-Egea JJ. Association between diabetes and nonretention of root filled teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2019;52(3):297–306
89. Jakovljevic A, Duncan HF. Diabetes Mellitus May Negatively Influence the Outcome of Conventional Nonsurgical Root Canal Treatment. *Journal of Evidence-Based Dental Practice.* 2020 Sep;20(3):101467.
90. Budreikaitė K, Varoneckaitė M, Oleinikaitė D, Žilinskas J. Association between apical periodontitis and root canal treatment in patients with type II diabetes: A systematic review. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal.* 2022;24(4):100-103.

91. Pimenta RMN, dos Reis-Prado AH, de Castro Oliveira S, Goto J, Cosme-Silva L, Cintra LTA, et al. Effects of diabetes mellitus on dental pulp: A systematic review of in vivo and in vitro studies. *Oral Diseases*. 2024;30(2):100-115.

### **ANEXOS:**

ANEXO I - Participação como colaboradora em artigo, durante o período de mestrado.

Farias JO, Sousa MG, Martins DC, Oliveira MA, Takahashi I, Sousa LB, et al. Senescence on dental pulp cells: Effects on morphology, migration, proliferation, and immune response. *J Endod*. 2024 Mar;50(3):362-9. doi: 10.1016/j.joen.2023.12.009. Epub 2024 Jan 9.

## BASIC RESEARCH – BIOLOGY

# Senescence on Dental Pulp Cells: Effects on Morphology, Migration, Proliferation, and Immune Response

Jade Ormondes de Farias, MD, DDS,\*  
 Maurício Gonçalves da Costa Sousa, PhD, MD, DDS,<sup>†‡§</sup>  
 Danilo César Mota Martins, MD, DDS,\*  
 Mayara Aves de Oliveira, DDS,\*  
 Isadora Takahashi, DDS,\*  
 Larissa Barbosa de Sousa, DDS,\*  
 Ingrid Gracielle Martins da Silva, MD, BSc,<sup>||</sup>  
 José Raimundo Corrêa, PhD, MD,<sup>||</sup>  
 Amanda Évelin Silva Carvalho, PhD, MD,<sup>||</sup>  
 Felipe Saldanha-Araújo, PhD, MD,<sup>||</sup> and  
 Taia Maria Berto Rezende, PhD, MD, DDS<sup>\*,†,‡,§,||,††</sup>

## ABSTRACT

**Introduction:** Evidence indicates that senescence can affect essential dental pulp functions, such as defense capacity and repair, consequently affecting the successes of conservative endodontic treatments. This study aims to evaluate the effects of senescence on the morphology, migration, proliferation, and immune response of human dental pulp cells. **Methods:** Cells were treated with doxorubicin to induce senescence, confirmed by  $\beta$ -galactosidase staining. Morphological changes, cellular proliferation, and migration were evaluated by scanning electron microscopy, trypan blue cells, and the scratch method, respectively. Modifications in the immune response were evaluated by measuring the genes for pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha and interleukin (IL)-6 and anti-inflammatory cytokines transforming growth factor beta 1 and IL-10 using the real time polymerase chain reaction assay. **Results:** An increase in cell size and a decrease in the number of extensions were observed in senescent cells. A reduction in the proliferative and migratory capacity was also found in senescent cells. In addition, there was an increase in the gene expression of inflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha and IL-6 and a decrease in the gene expression of IL-10 and transforming growth factor beta-1, suggesting an exacerbated inflammatory situation associated with immunosuppression. **Conclusions:** Cellular senescence is possibly a condition that affects prognoses of conservative endodontic treatments, as it affects primordial cellular functions related to this treatment. (*J Endod* 2024; ■:1–8.)

## KEY WORDS

Conservative endodontic treatments; pulp cells; senescence

Senescence is a cellular state characterized by the irreversible interruption of the cell cycle halting replication in the G1 phase and remaining alive and metabolically active<sup>1</sup>. This state can be divided into replicative senescence, related to telomere shortening, and stress-induced senescence. Cellular senescence causes morphological alterations such as increased volume and irregular structure, and it is associated with changes in the cytoskeleton and vimentin filaments<sup>1</sup>. Senescent cells also exhibit increased activity of lysosomes and enzyme SA- $\beta$ -gal, as well as upregulated expression of genes such as p21, p16, and p53<sup>2</sup>. This cellular state also results in metabolic reprogramming and the manifestation of secretory proteins, known as the senescence-associated secretory phenotype<sup>3</sup>. In general, this state contributes to aging, age-related diseases, and a decline in cellular functions<sup>4</sup>.

Senescence can also affect the immune system<sup>5</sup>. Immunosenescence refers to changes in the immune system during aging, leading to a progressive decline in immune functions and increased susceptibility to diseases<sup>6</sup>. This stage results from two complementary processes: the effects of cellular senescence on immune cells and the weakening of the body's barriers indirectly caused by tissue cellular senescence, which promotes the release of signaling molecules to which immune cells respond<sup>7</sup>. Senescence-associated secretory phenotype proteins compromise immune system functions, including the elimination of senescent

## SIGNIFICANCE

This study reveals that senescence in dental pulp cells causes morphological alterations, reduced cell function, and an exacerbated inflammatory and immunosuppressive response, potentially complicating conservative endodontic prognosis. Managing senescence is crucial for better treatment outcomes in endodontics.

From the \*Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil; †Division of Biomaterials and Biomechanics, Department of Restorative, Dentistry, School of Dentistry, Oregon Health & Science University, Portland Oregon; ‡Knigh Cancer Precision Biofabrication Hub, Knigh Cancer Institute, Oregon, Health and Science University, Portland, Oregon; §Cancer Early Detection Advanced Research Center, Oregon Health Science University, Portland, Oregon; ||Laboratório de Microscopia e Microanálise, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil; ||Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil; ††Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica, de Brasília, Brasília, Brazil; ††Departamento de Odontologia, Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade, Brasília, Brazil; and ††Pós-graduação em Odontologia, Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Brazil