

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Departamento de Odontologia

**EFEITO DA LIBERAÇÃO LOCAL DA
AMINOGUANIDINA NA RETENÇÃO BIOMECÂNICA
DE IMPLANTES EM RATOS DIABÉTICO-INDUZIDOS**

GABRIEL FARIA AIALA

Belo Horizonte
2010

Gabriel Faria Aiala

**EFEITO DA LIBERAÇÃO LOCAL DA
AMINOGUANIDINA NA RETENÇÃO BIOMECÂNICA
DE IMPLANTES EM RATOS DIABÉTICO-INDUZIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado do Departamento de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Implantodontia.

Orientador: Prof. Dr. Peterson Antônio Dutra de Oliveira

**Belo Horizonte
2010**

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

A288a Aiala, Gabriel Faria
 Efeito da liberação local da aminoguanidina na retenção biomecânica de implantes em ratos diabético-induzidos. / Gabriel Faria Aiala. Belo Horizonte, 2010.
 53f.: il.

 Orientador: Peterson Antônio Dutra de Oliveira
 Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

 1. Implantes Dentários. 2. Diabetes Mellitus. 3. Produtos finais de glicosilação. 4. Osseointegração. I. Oliveira, Antônio Dutra de. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 616.314-089.843

Aos meus pais, Gilson e Heltna, e à minha irmã Camila, por serem o alicerce da minha caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde e por me iluminar sempre.

Agradeço ao meu pai pelo exemplo de dedicação, de companheirismo, de amizade e amor, valores e sentimentos fundamentais para a criação de um homem.

Agradeço à minha maravilhosa mãe. Pelo seu exemplo de luta, personalidade, lealdade, amizade e sinceridade. Por toda a dedicação e amor que tem a mim, por toda a sua doação. Obrigado pelo belo exemplo de mulher que é.

Agradeço a minha querida irmã, Camila, sem cuja companhia e amor nada teria sido tão especial.

Agradeço à Denise, que também me ajudou na caminhada acadêmica, profissional e pessoal. Obrigado pela companhia, dedicação, paciência e carinho dispensados a mim.

Agradeço aos colegas de turma com os quais aprendi muito. Obrigado pela amizade e ajuda em todos os sentidos. Ao Paulo, pela especial parceria e companheirismo, pela tolerância!!

Agradeço a todos os pacientes pela confiança e por serem parte integrante desse aprendizado.

Agradeço a meu orientador, Peterson, pelo coleguismo e ajuda durante todo o processo de formação acadêmica. Por tentar tornar o objetivo um caminho menos árduo. Ao Prof. Armando, pela ajuda na construção do projeto e execução da pesquisa.

Agradeço aos demais professores, que de uma forma muito capaz, se dedicaram a nos tornar profissionais críticos, exigentes na busca pela excelência e pelo conhecimento científico. Ao Prof. Antonio Henrique, pelo exemplo de mestre que é, pelo exemplo de professor, no verdadeiro conceito da palavra. Aos Prof(s). Marcus Lanza e Paulo Roberto por aliarem tão bem a genialidade à simplicidade e coleguismo.

Ao Prof. Renato de Melo por sua prontidão em ajudar a transformar a mensagem deste trabalho mais clara possível.

Agradeço ao prof. Roberval por ter acreditado em seu projeto e não desistir nunca de batalhar pela boa imagem da instituição.

APRESENTAÇÃO

Este trabalho refere-se à dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, representa requisito parcial para a obtenção do título de mestre e será apresentado no formato de dois artigos.

O pensamento central para a construção deste projeto surgiu como uma tentativa de aliar a investigação dos efeitos do Diabetes Mellitus (DM) enquanto doença sistêmica sobre o corpo à terapia com implantes dentários. A escolha por esta condição sistêmica foi motivada pela escassez de investigações clínicas controladas de mesmo formato metodológico relacionando a doença à implantodontia, além da sua alta prevalência a nível mundial.

Dentro da metodologia empregada neste estudo buscou-se experimentar uma forma alternativa para a aplicação local da aminoguanidina (AG), substância comumente utilizada em estudos de modelo animal por sua capacidade de atenuar o impacto do Diabetes Mellitus sobre os tecidos corpóreos. A opção pelo uso de uma via de administração local foi justificada por dois argumentos principais: (1) o potencial que o medicamento apresenta em interferir em sistemas regulatórios importantes do corpo baseado em algumas propriedades conhecidas desta molécula; (2) viabilizar um modo de aplicação única, tornando seu uso mais confortável. Seu emprego local pôde ser caracterizado “alternativo” porque a maioria dos estudos levantados utilizou a AG por via de administração sistêmica em doses repetidas ao longo do tratamento. O tecido alvo sobre o qual focamos nossa observação foi o tecido ósseo por ser o responsável pela estabilização e sustentação dos implantes dentários. Baseado na hipótese de que a molécula de AG atenuaria os efeitos da hiperglicemia (conseqüente do estado diabético) sobre as células ósseas, o presente estudo comparou o grau de retenção mecânica de implantes medidos a partir da mensuração de contra-torques entre animais diabéticos e saudáveis, tratados ou não com AG. Para isso, os grupos teste receberam a instalação cirúrgica de uma membrana de quitosana carregada com a droga sobre os leitos implantados. O objetivo deste estudo foi testar os efeitos clínicos deste meio de utilização da AG conferindo uma informação adicional à literatura pertinente.

RESUMO

O Diabetes Mellitus é uma doença metabólica crônica de alta prevalência mundial. A hiperglicemia conseqüente deste estado acarreta na formação de produtos denominados AGEs (produtos da glicosilação avançada) que uma vez presentes na corrente sanguínea se ligam à células dos vários tecidos do corpo alterando sua capacidade funcional. A ligação destas moléculas às células ósseas interfere negativamente no processo de osseointegração. A aminoguanidina é uma substância com potencial para prevenir a formação dos AGEs e, conseqüentemente, os efeitos deletérios do diabetes. Ela tem sido experimentada em estudos de modelo animal e resultados promissores têm sido apresentados. Este estudo se propôs a atingir dois objetivos principais, sendo: I – através de uma revisão literária, estudar os efeitos do diabetes mellitus sobre o corpo e, especificamente, sobre a terapia com implantes dentários e II – investigar o impacto que a colocação cirúrgica local de um dispositivo carregado com aminoguanidina apresenta na retenção biomecânica de implantes em animais saudáveis e diabético-induzidos.

Palavras-chave: Implantes dentários, aminoguanidina, diabetes mellitus, AGEs, osseointegração

ABSTRACT:

Diabetes Mellitus is a chronic metabolic disease with high prevalence worldwide. Hyperglycemia resulting from this state leads to the formation of products called AGEs (Advanced Glycosylation End products) that once present in the bloodstream binds to cells from various tissues of the body altering their functional capacity. The binding of these molecules on bone cells impairs negatively the process of osseointegration. Aminoguanidine is a substance with the potential to prevent the formation of AGEs and thus the deleterious effects of diabetes. It has been tested in studies of animal models and promising results have been presented. This study aimed to achieve two main objectives: I - through a literature review, study the effects of diabetes on the body and specifically on dental implant therapy and II- investigate the impact that local surgical placement of a device loaded with aminoguanidine have on the biomechanics retention in implants in animals healthy and diabetic-induced.

Keywords: Dental implants, aminoguanidine, Diabetes Mellitus, AGEs, osseointegration

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Incisão e dissecação romba.....	41
FIGURA 2 – Preparo do leito.....	41
FIGURA 3 – Implante instalado.....	41
FIGURA 4 – Instalação da membrana carregada.....	41
FIGURA 5 – Suturas.....	41
GRÁFICO 1 – Média dos níveis de glicose plasmática para os diferentes grupos de acordo com os tempos experimentais.....	45
GRÁFICO 2 – Média dos valores de contra-torque (N/cm) de acordo com a condição sistêmica e modalidades de tratamento.....	47

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Valores de referência para interpretação e ajuda no diagnóstico.....	22
QUADRO 2 – Estudos experimentais relacionando o diabetes à implantodontia....	25
QUADRO 3 –Estudos relacionados ao emprego da aminoguanidina em diferentes doses e vias de administração e seus efeito no estado diabético.....	36
QUADRO 4 – Média dos níveis de glicose plasmática para os diferentes grupos de acordo com os tempos experimentais.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores de contra-torque médios de acordo com a condição de saúde e modalidades de tratamento.....	46
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – Aminoguanidina

DM – Diabetes Mellitus

AGEs – Advanced Glycation Endproducts (produtos da glicosilação avançada)

RAGEs – Receptor of Advanced Glycation Endproducts (receptores dos produtos da glicosilação avançada)

HbA1c – Hemoglobina Glicada

MQ – Membrana de quitosana

NO Sintase – Enzima óxido nítrico sintase

DAO – Enzima diamino oxidase

MBIC – Marrow bone implant contact (contato entre o implante e a superfície óssea medular)

LISTA DE ARTIGOS

-Esta dissertação gerou as seguintes propostas de artigos:

1- AIALA, G.F., OLIVEIRA, P.A.D., CUNHA JÚNIOR, A.S. O Diabetes Mellitus e seu Impacto na Terapia com Implantes Dentários – Uma revisão de Literatura

2- AIALA, G.F., OLIVEIRA, P.A.D., CUNHA JÚNIOR, A.S. Avaliação da Retenção Biomecânica de Implantes em Ratos Diabético-Induzidos: Efeito Local da Aminoguanidina

O artigo 1 será submetido à revista Implant News e o artigo 2 à International Journal of Oral and Maxillofacial Implants. Ambos os artigos estão dispostos neste trabalho conforme as normas das respectivas revistas.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
ARTIGO 1	18
ARTIGO 2	33

INTRODUÇÃO GERAL

Algumas doenças sistêmicas podem apresentar manifestações nos tecidos orais, aumentar o risco para outros eventos patológicos e interferir no processo de cicatrização. Podem ainda serem tratadas com medicações que possuem potencial para afetar o tratamento com implantes por alterar o metabolismo dos tecidos que os sustentam. O diabetes mellitus é um exemplo desta condição e está relacionado a outras complicações como retinopatia, nefropatia, neuropatia, além de distúrbios micro e macro-vasculares (MOMBELLI; CIONCA, 2006). O aumento da prevalência do diabetes *mellitus* tem caracterizado esta doença como um verdadeiro problema de saúde pública (VALERO et al., 2007).

O estado hiperglicêmico é a maior implicação do diabetes e traz como consequência o acúmulo acelerado de produtos formados a partir da reação da glicose com proteínas e lipídios do corpo. Estes produtos (AGEs – produtos da glicosilação avançada) são tidos como os responsáveis pelos efeitos deletérios da doença por ligarem-se à membranas das células por meio de receptores (RAGEs - receptores dos produtos da glicosilação avançada) causando alterações disfuncionais (NOVAES JÚNIOR; MACEDO; ANDRADE, 2007). O acúmulo dos AGEs ocorre em todos os tecidos corpóreos incluindo o tecido ósseo (SANTANA et al., 2003) cujos processos cicatriciais e de remodelação são de fundamental importância no processo da osseointegração. Outras investigações em animais mostraram que o diabetes compromete o processo de osseointegração, sendo notados menores índices de contato entre osso e implante em grupos doentes (NEVINS et al., 1998; KOPMAN et al., 2005; HASEGAWA et al., 2008).

Estratégias potenciais de tratamento para as complicações derivadas das ligações dos AGEs às células do corpo incluem a prevenção e a quebra das ligações já existentes. O potencial terapêutico de um inibidor dos AGEs, a aminoguanidina (AG), tem sido investigado em experimentos em modelo animal (VASAN; FOILES; FOUNDS, 2003). A aminoguanidina é o protótipo de um agente terapêutico para a prevenção da formação dos AGEs. Esta molécula reage rapidamente com compostos α,β dicarbonil (altamente reativos) responsáveis pelas ligações cruzadas com diversas proteínas prevenindo, dessa forma, a formação destes produtos (THORNALLEY, 2003). A administração contínua de aminoguanidina por via sistêmica promoveu um aumento do contato osso-implante (MBIC) (KOPMAN, et al., 2005) e aumentou a retenção biomecânica de implantes em estudos experimentais (GUIMARÃES; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2008). Além disso, a AG é estudada na área médica e bons

resultados nas especialidades da oftalmologia e cardiologia têm sido conseguidos em estudos de modelo animal (WU et al. 2008; BENENCIA et al., 2001). Entretanto, além de prevenir a formação dos AGEs, quando utilizada sistemicamente, a AG mostra capacidade de inibição da enzima diamino oxidase (DAO) e da enzima NO sintase, o que segundo Nillson (1999) poderia, *in vivo*, levar a sérios efeitos vasculares e respiratórios colaterais. Este fato se deve ao acúmulo de histamina no fluxo sanguíneo e à alteração na produção de óxido nítrico, capaz de afetar a resposta imunológica, a transmissão neuronal e o controle vascular.

Desta forma, a ação local da AG poderia minimizar os efeitos sistêmicos indesejáveis diminuindo os riscos do tratamento e tornando-o mais seguro e confortável, pois dispensaria a aplicação por via injetável de doses diárias da medicação.

Um dos objetivos do presente estudo é avaliar o efeito local da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar, através da utilização de membrana de quitosana como veículo de liberação local de aminoguanidina, em ratos saudáveis e com diabetes induzido.

OBJETIVOS

- Revisar o conhecimento sobre os efeitos do diabetes mellitus sobre os tecidos/órgãos corpóreos considerando especificamente o seu impacto sobre a terapia com implantes dentários.
- Investigar os efeitos da colocação cirúrgica local de um dispositivo carregado com aminoguanidina apresenta na retenção biomecânica de implantes em animais saudáveis e diabético-induzidos.

REFERÊNCIAS

- BENENCIA, F.; COURRÈGES, M. C.; GAMBA, G.; CAVALIERI, H.; MASSOUH, E. I. Effect of aminoguanidine, a nitric oxide synthase inhibitor on ocular infection with herpes simplex virus in Balb/c mice. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v.42, n.6, p.1277-1284, 2001.
- GUIMARÃES, R. P.; OLIVEIRA, A. M. D.; OLIVEIRA, P. S. D. Efeitos da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido. 2008. Tese (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- HASEGAWA, H et al. Type 2 diabetes impairs implant osseointegration capacity in rats. **The International Journal of Oral Maxillofacial Implants**, v.23, n.2, p.237-246, mar./abr. 2008.
- NOVAES JÚNIOR, B. A.; MACEDO O. G.; ANDRADE, F. P. Inter-relação doença periodontal e diabetes mellitus. **Revista Periodontia**, São Paulo, v.17, n.2, p.39-44, junho 2007.
- KOPMAN, J. A. *et al.* Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. **Journal of Periodontology**, v.76, n.4, abril 2005.
- MOMBELLI, A.; CIONCA, N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. **Clinical Oral Implants Research**, Geneva, v.17 (suppl. 2), p.97-103, 2006.
- NEVINS, M. L.; KARIMBUX, N. Y.; WEBER, H. P.; GIANNOBILE, W. V.; FIORELINI, J. P. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants**, v.13, n.5, p.620-629, set./out. 1998.
- NILSSON, B-O. Biological effects of aminoguanidine: an update. **Inflammation Research**, Lund, v.48, n.10, p.509-515, outubro 1999.
- SANTANA, R. B. *et al.* A role of advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. **Diabetes**, v.52, n.6, p.1502-1510, junho 2003.
- THORNALLEY, P. J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent to formation of advanced glycation endproducts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, N.Y. Estados Unidos, v.419, n.1, p.31-40, novembro 2003.
- VALERO, A. M.; GARCÍA, J. C. F.; BALLESTER, A. H; RUEDA, L. Effects of diabetes on the osseointegration of dental implants. **Medicina. Oral, Patología Oral y Cirugía. Bucal**, v.12, n.1, 2007.

VASAN, S.; FOILES, P.; FOUNDS, H. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product-protein crosslinks **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.419, n.1, p.89-96, maio 2003.

WU, M-S.; LIANG, J-T; LIN, Y-D; WU, E. T; TSENG, Y. Z; CHANG, K. C. Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes. **British Journal of Pharmacology**, v.154, p.758-764, 2008.

ARTIGO 1

O Diabetes Mellitus e o seu Impacto na Terapia com Implantes Dentários – Uma Revisão de Literatura

-Gabriel Faria Aiala*, Peterson Antônio Dutra Oliveira**, Armando da Silva Cunha Júnior***

Autores:

Gabriel Faria Aiala*, Peterson Antônio Dutra Oliveira**, Armando da Silva Cunha Júnior***

***Gabriel Faria Aiala**

Graduado em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Especialização em Periodontia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Mestrado Profissionalizante em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil – Área de concentração em Implantodontia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil.

Endereço Profissional Completo:

Gabriel Faria Aiala
Rua Pernambuco, 353 sala 1004 - Funcionários
30140130 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 32616991 (31) 96163446 fax: (31) 34181458

Endereço eletrônico para correspondência: e-mail: gabriel_aiala@hotmail.com

****Peterson Antônio Oliveira Dutra**

Graduação em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Especialização em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil
Mestrado em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil

Doutorado em Implantodontia pelo Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, SLMANDIC, Brasil
Professor Associado da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Endereço Profissional Completo:
Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Av. Dom José Gaspar, 500 - Coração Eucarístico
CEP 30535610 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 33194144 fax: (31) 3319416

***** Armando da Silva Cunha Júnior**

Graduação em Farmácia Bioquímica pela Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil
Mestrado em DEA Pharmacotechnie Et Biopharmacie pela Université de Paris XI (Paris-Sud), U.P. XI, França
Doutorado em Sciences Pharmaceutiques. Université de Paris XI (Paris-Sud, U.P. XI, França).
Pós-Doutorado pelo Institut National de La Santé et de la Recherche Médicale).

Professor Associado da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil. Faculdade de Farmácia.

Endereço Profissional Completo:

Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos.
Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
CEP 31270-010 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 34996949 Fax: (31) 349969

RESUMO

O *Diabetes Mellitus* é uma doença metabólica de alta prevalência em todo o mundo que pode causar danos a vários sistemas do corpo humano. A hiperglicemia crônica leva a formação de produtos da glicolisação avançada que afetam negativamente o processo de osseointegração. O objetivo desse estudo foi revisar o conhecimento do diabetes enquanto doença sistêmica e suas implicações na terapia com implantes dentários. O levantamento bibliográfico foi realizado por meio de consulta eletrônica à base de dados Medline/Pubmed. Foram incluídos estudos experimentais, clínicos e de revisões literárias. A maioria dos estudos revisados apontaram para uma osseointegração prejudicada associada ao comprometimento cicatricial consequente do estado diabético. Entretanto, não há uniformidade metodológica nos estudos que avaliam as taxas de sucesso em humanos e, por isso, se faz necessário mais investigações controladas.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus; Osseointegração; Implantes Dentários; AGEs

ABSTRACT

Diabetes Mellitus is a chronic metabolic disease of high prevalence in the world that can cause damage to various body systems. The Chronic Hyperglycemia leads to the formation of Advanced Glycosylation End products that negatively affect the process of osseointegration. The aim of this study was to review the knowledge of diabetes as a systemic disease and its implications for therapy with dental implants. The bibliographic research was conducted through electronic query to the database Medline and studies recently published in Portuguese and English. Some experimental studies, clinical and literary revisions, pointed a poor osseointegration associated with the impaired healing resulting from the diabetic state. Moreover, there is no uniformity in the studies that evaluate success rates in humans and, therefore, is needed more controlled investigations.

Keywords: Diabetes Mellitus; Osseointegration, Dental Implants, AGEs

Introdução

O diabetes *mellitus* (DM) afeta milhões de pessoas, sendo um dos principais problemas de saúde pública da América Latina.¹ Nos Estados Unidos estima-se que 15,7 milhões de pessoas são acometidas pela doença o que representaria aproximadamente 6% da população.² Este distúrbio metabólico é uma condição primariamente definida pelo nível de hiperglicemia capaz de elevar o risco ao desenvolvimento de doenças micro e macrovasculares. O DM acarreta morbidade significativa com redução da expectativa e qualidade de vida.³

O estado hiperglicêmico é a maior implicação do diabetes e traz como consequência o acúmulo acelerado de produtos formados a partir da reação da glicose com proteínas e lipídios do corpo. Estes produtos (AGEs – produtos da glicosilação avançada) são irreversíveis, cumulativos e capazes de ligar-se à membranas das células por meio de receptores (RAGEs - receptores dos produtos da glicosilação avançada).¹ Os AGEs ligam-se aos RAGEs encontrados na parede celular de macrófagos, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e ósseas alterando suas funções e fenótipos. Estas células estão relacionadas aos mecanismos de defesa e cicatrização, podendo estes processos estarem comprometidos na ocorrência dessas interações.⁴ O acúmulo dos AGEs no tecido ósseo prejudica os processos de reparo e remodelação, fundamentais para a ocorrência e manutenção da osseointegração.⁵

Materiais e Métodos

Foi acessado eletronicamente a base de dados Medline/PubMed através do portal <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/e> (National Library of Medicine). As palavras-chave foram conjugadas pela junção *AND* para a pesquisa e foram: dental; implants; endosseous; osseointegration; diabetes mellitus; advanced glycosilation endoproducts. A lista de referência dos próprios artigos acessados também foi utilizada para busca de outros estudos. Jornais e periódicos foram consultados através de busca manual e trabalhos considerados pertinentes foram pré-selecionados. Estudos experimentais, clínicos e de revisão foram incluídos primariamente por meio da análise de abstracts e resumos. Os textos completos dos estudos considerados relevantes foram obtidos para análise individual, discussão entre os autores e posterior inclusão/exclusão.

Revisão da Literatura

1. Diabetes *Mellitus*

O diabetes *mellitus* pode ser decorrente da falta da produção de insulina pelas células β do pâncreas (tipo I) ou ser causado pela diminuição da resposta à mesma ocorrida devido à desregulação dos receptores do hormônio presente nas células periféricas (tipo II).⁶ Ambas as origens levam ao estado hiperglicêmico.⁷ Portanto, independente da causa primária e da classificação em que a condição se enquadra, o objetivo do tratamento de ambos os tipos é a manutenção dos níveis de glicose no sangue dentro dos padrões de “normalidade”.⁶

O critério recomendado pela Organização Mundial de Saúde em 2006 para diagnóstico de diabetes compreende os seguintes valores: glicose plasmática em jejum: valores glicêmicos $\geq 7,0$ mmol (126 mg/dl) ou valores $\geq 11,1$ mmol (200 mg/dl) 2 horas após ingestão de 75g de glicose (teste oral de tolerância à glicose).

Não existem dados suficientes para uma definição acurada do termo “níveis normais de glicose” ou “normoglicemia”. Para o uso destes termos recomenda-se o enquadramento de níveis de glicose associados com o baixo risco de desenvolvimento do diabetes ou doença cardiovascular, que são níveis inferiores aos usados para determinar a condição de hiperglicemia intermediária. Esta categoria caracteriza-se a partir da interpretação de mensurações que extrapolam a análise única dos valores de glicose em jejum sendo necessária a interpretação de valores conjugados entre os obtidos em jejum e após o teste de tolerância à glicose.³ Eles podem ser mostrados no quadro 1 abaixo:

Diabetes Glicose em jejum 2 horas após 75g de glicose oral	$\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dl) ou $\geq 11,1$ mmol/l (200mg/dl)
Tolerância Alterada à Glicose Glicose em jejum 2 horas após 75g de glicose oral	$< 7,0$ mmol/l (se mensurado) (126mg/dl) e $\geq 7,8 < 11,1$ mmol/l (140 e 200 mg/dl)
Glicose em Jejum Alterada Glicose em jejum 2 horas após 75g de glicose oral	6,1-6,9 mmol/l (110-125 mg/dl) Recomenda-se a mensuração

Quadro 1: Valores de referência para interpretação e ajuda no diagnóstico

Fonte: World Health Organization, 2006

Embora empregado rotineiramente como o único método diagnóstico devido à seu menor custo e praticidade, a mensuração da glicemia em jejum deixa de diagnosticar cerca de 30% de indivíduos diabéticos que apresentam níveis inferiores a 7,0 mmol/l mas que superam os valores de referência do teste oral de tolerância à glicose, além de não identificar aqueles que não são diabéticos mas apresentam tolerância alterada à glicose. Portanto, a entidade recomenda a realização do teste oral de tolerância à glicose além da mensuração em jejum, sempre que os valores da concentração plasmática em jejum estiverem entre 6,1 a 6,9 mmol/l. Os indivíduos que se encontrarem entre estes valores em jejum e estiverem entre os valores $\geq 7,8 < 11,1$ mmol/l após o teste oral de tolerância se enquadrariam em um estado de alerta, estando numa faixa intermediária.³

2. AGEs

Os produtos resultantes da ligação não-enzimática das proteínas com a glicose é um evento patofisiológico que tem sido reconhecido como fator causal das complicações diabéticas e doenças relacionadas à idade. A modificação das proteínas pela glicose é iniciada por interações entre grupos carbonis da glicose e grupos amino das proteínas formando um composto instável chamado “Schiff base”. Este composto sofre um rápido rearranjo estrutural e sua molécula se torna mais estável. O resultado destas modificações é a formação de compostos denominados Produtos Amadori. Estes produtos realizam uma série de interações químicas envolvendo reações de oxidação e desidratação resultando na formação dos conhecidos AGEs.⁸ Proteínas de longa duração, como o colágeno, acumula montantes substanciais de AGEs *in vivo*. Os AGEs também se ligam fortemente à outras proteínas resultando em ligações cruzadas intra e inter-moleculares deixando tecidos, células e vasos sanguíneos rígidos e disfuncionais.⁹

Em pacientes diabéticos o nível de acúmulo de AGEs e a extensão das ligações cruzadas entre as proteínas são acelerados em função da exposição à grandes quantidades de glicose no sangue.¹⁰ A hiperglicemia crônica afeta diversas estruturas teciduais, e, *in vitro*, estimula a reabsorção óssea.¹¹ Este estado inibe também a diferenciação osteoblástica, altera a reação do hormônio paratireóideo (que regula o metabolismo do fósforo e do cálcio),⁵ e ainda produz um efeito deletério à matriz óssea

e seus componentes prejudicando sua aderência, crescimento e acúmulo.¹² A homeostase mineral, a produção de osteóide e a formação óssea têm sido prejudicadas em estudo de diabetes experimental.¹³ Foi demonstrado uma redução de aproximadamente 40% de formação óssea na cicatrização de defeitos criados em crânios de camundongos diabético-induzidos, comparados ao grupo controle.⁵

Os efeitos do diabetes na cicatrização de fraturas também têm sido bem documentados experimental e clinicamente. Foi demonstrado que o diabetes retarda e prejudica a cicatrização e remodelação em ossos dos membros, em maxilares e ossos do crânio.^{14,15}

3. Diabetes Mellitus e os Implantes Dentários

Os conceitos biológicos relacionados aos efeitos prejudiciais do diabetes na osseointegração são associados à interação de AGEs com as células ósseas e proteínas. O DM e conseqüentemente a presença de AGEs produzem um ambiente desfavorável para a cicatrização periimplantar^{5,16-20} e, por alterar o processo de reparo ósseo, representa uma das complicações do diabetes *mellitus* de maior interesse na área da implantodontia (quadro 2).¹⁷

Vários autores tem pesquisado o efeito do diabetes mellitus na qualidade da osseointegração em estudos de modelo animal.^{16,18-24} Alguns estudos^{16,18,23} observaram os efeitos do diabetes-induzido em ratos e foi constatado um menor contato entre osso e implante comparados aos animais controle. Também foram apontadas diferenças qualitativas do osso neoformado no grupo de ratos diabéticos não-controlados, além de diferenças no processo de remodelação e deficiências no processo de mineralização.¹⁸ O curso da cicatrização óssea em torno de implantes endósseos foi comparada entre ratos saudáveis e com o diabetes controlados com suplementação de insulina. Os resultados mostraram que a terapia com insulina foi capaz de melhorar a formação de osso em torno dos implantes. Entretanto, parâmetros histométricos indicaram que embora a quantidade total de formação óssea fosse melhorada no grupo diabético controlado, o contato entre osso-implante foi significativamente menor nesse mesmo grupo quando comparados ao grupo dos saudáveis.²¹

Estudos Experimentais relacionando o Diabetes à Implantodontia						
Estudos	Proposta	Método de avaliação	Modelo Diabetes	Modelo de estudo	Resultados	Conclusões
Nevins et al., 1998	Identificar os efeitos do diabetes-induzido na osseointegração	Histometria	Diabetes tipo 1 (induzida por streptozotocin)	Animal (ratos Sprague-Dawley)	Menor índice de contato osso-implante comparando diabéticos e controles ($P<0.0001$); A quantidade de formação óssea foi similar entre os dois grupos ($P>0.05$).	O estudo demonstrou que o processo da osseointegração é afetado pelo diabetes-induzido.
Fiorellini et al., 1999	Avaliar o curso da cicatrização óssea em torno de implantes endósteos entre animais saudáveis e com diabetes controlados por insulina	Histologia e histomorfometria	Diabetes tipo 1	Animal (ratos)	Menor índice de contato entre osso-implante comparando diabéticos e controles	A insulina tem um papel importante na regulação do contato osso-implante em ratos com diabetes-induzido
Siqueira et al., 2003	Investigar o curso das modificações histológicas e ultraestruturais do processo da osseointegração sob a influência da insulina	Histologia e histomorfometria	Diabetes tipo 1 (induzida por aloxan)	Animal (ratos Wistar)	Em relação aos controles, houve redução de 50% na área de osso formado ($P<0.001$) e na superfície de contato osso-implante ($P<0.01$); Após 10 dias de cicatrização não houve diferenças estatísticas entre os grupos; Características semelhantes entre os animais controlados por insulina e os controles.	O reparo ósseo em torno de implantes endósteos é regulado, em parte, pela insulina. O sucesso da osseointegração está relacionado a um bom controle metabólico
Ottoni & Chopard, 2004	Quantificar a neoformação óssea	Histologia e histomorfometria	Diabetes tipo 1 (induzida por aloxan)	Animal (ratos Wistar)	Na medular houve diferenças significativas entre a quantidade de formação óssea nos canais medulares e o índice de contato osso-implante entre diabéticos e controles.	Seção não existente no estudo
Margonar et al., 2003	Avaliar a influência do diabetes mellitus e a terapia com insulina na cicatrização óssea em torno de implantes dentários utilizando o contra-torque de remoção	Medidor de torque	Diabetes tipo 1 (induzido por aloxan)	Animal (coelhos)	Em 4 semanas não houve diferenças significativas nos valores de torque de remoção $P=0.2$ entre os grupos diabéticos, controlados por insulina e controles; O grupo controle teve valores significativamente maiores do que os diabéticos e controlados por insulina nos períodos de 8 ($P=0.0001$ e $P=0.0002$, respectivamente) e 12 semanas ($P=0.0053$ e $P=0.001$, respectivamente); Não houve diferenças estatísticas entre os grupos diabéticos e controlados por insulina em nenhum dos períodos experimentais	O diabetes influencia negativamente a retenção biomecânica de implantes colocados na tíbia de coelhos. A insulina não induziu nenhuma modificação.
Kwon et al., 2005	Avaliar histologicamente o contato osso-implante em ratos diabéticos controlados e não-controlados por insulina, sendo o diabetes induzido após a ocorrência da osseointegração	Histologia e histometria	Diabetes tipo 1 (induzida por streptozotocina)	Animal (ratos Sprague-Dawley)	Os resultados indicaram que nos meses 1, 2, 3 e 4 houve maior contato osso-implante (BIC) entre os diabéticos controlados, comparados aos discompensados. As diferenças foram significantes nos meses 2, 3 e 4 ($P<0.001$)	A osseointegração dos implantes dentários nos diabéticos controlados por insulina foi mantida durante o período de 4 meses. O índice de contato osso-implante parece diminuir com o tempo em diabéticos discompensados
McCracken et al., 2006	Mesurar a resposta óssea em animais diabéticos controlados e não-controlados por insulina	Histologia	Diabetes tipo 1 (induzida por streptozotocina)	Animal (ratos)	A indução do diabetes é associada a um aumento da resposta óssea comparada aos controles.	Seção não existente no estudo.
Hasegawa et al., 2008	Examinar a cicatrização óssea periimplantar em torno de implantes de titânio no modelo animal de diabetes tipo 2	Histologia e Histomorfometria	Diabetes tipo 2 (por modificação genética)	Animal (ratos)	O volume ósseo foi consistentemente menor (da quarta à oitava semana) para o grupo diabético comparado ao controle na área cortical enquanto na medular o volume não foi afetado; O percentual de contato osso-implante foi consideravelmente menor no grupo diabético	O diabetes tipo 2 prejudicou a capacidade de osseointegração desproporcionalmente entre as áreas cortical e medular. Foram expressivas as reduções da quantidade óssea na cortical e o contato entre osso-implante no grupo diabético.
Casap et al., 2008	Investigar a osseointegração de implantes em um modelo de diabetes induzido nutricionalmente	Histomorfometria	Diabetes tipo 2 (induzida nutricionalmente)	Animal (ratos da raça Psammomys obesus)	Após 2 semanas de cicatrização os animais diabéticos tinham osso levemente menos maduro que os controles. Esta distinção não foi presente em 4 semanas pós-implantação. Nenhuma diferença foi encontrada na osseointegração e no volume trabecular ósseo entre os grupos ($P<0.05$)	Nenhuma diferença significativa na osseointegração ou no volume trabecular ósseo foi notada entre controles e diabéticos tipo 2, induzidos nutricionalmente.

Quadro 2: Estudos Experimentais relacionando o diabetes à implantodontia

Embora os estudos que relacionam o diabetes à implantodontia sejam em sua maioria realizados através do modelo de doença induzida quimicamente (diabetes tipo I), o impacto do diabetes do tipo II (induzido por modificação genética) na osseointegração em modelo animal foi analisado através de exames histológicos e histomorfométricos e foi demonstrado prejuízo na cicatrização óssea em torno dos implantes.¹⁹ O modelo de diabetes tipo II induzido nutricionalmente também foi utilizado para observação da osseointegração de implantes instalados na tíbia de animais, mas no entanto, não foram encontradas diferenças na cicatrização óssea e no volume trabecular ósseo entre diabéticos e controles.²⁴

No intuito de investigar a manutenção da osseointegração de implantes entre ratos com diabetes discompensado e controlados por insulina, foi analisado histometricamente a quantidade de contato osso-implante e seu comportamento em diferentes períodos. Foi observado que mesmo após a cicatrização óssea o controle glicêmico através da insulina foi capaz de manter níveis maiores de contato entre as interfaces ao passo que nos grupos discompensados esse índice diminuiu com o tempo.²⁵

Apesar de a maioria dos estudos relacionados à deficiência no processo de osseointegração de implantes em diabéticos sejam realizados em animais, estudos clínicos em humanos apresentam bons índices de sucesso no momento da reabertura e/ou durante o funcionamento de próteses. Entretanto, não há entre eles um padrão metodológico de coleta de dados que permita a obtenção de respostas conclusivas em torno dessa abordagem.^{2,17,26,27} Embora não esteja claro que o diabetes *mellitus* seja um determinante crítico para o insucesso da terapia com implantes em humanos, existem autores que ainda relacionam taxas mais altas de falhas em diabéticos, comparados aos não-diabéticos.²⁸

Sobre a repercussão do diabetes na cicatrização dos tecidos moles, esta depende do controle glicêmico no período pré e pós-operatório e da existência de complicações vasculares crônicas. Pacientes com controle metabólico ruim têm prejudicadas suas defesas imunes acarretando alteração funcional dos granulócitos e deterioração de sua atividade microbicida com maior predisposição à infecção da ferida. Além disso, as altas concentrações de glicose no sangue e em tecidos corpóreos estimulam o crescimento de patógenos micóticos, tais como *Candida*.⁶

Afim de evitar o prejuízo na cicatrização do tecido gengival, é necessário manter um bom controle glicêmico antes e após a cirurgia. Para a mensuração do nível

de glicose sanguínea nos períodos de 6 a 8 semanas prévias, é necessário o conhecimento dos valores HbA1c. Valores menores que 7% para HbA1c são considerados níveis de controle glicêmico aceitáveis.⁶

A cicatrização dos tecidos moles foram clinicamente avaliados seguidos à instalação de implantes percutâneos de superfície rugosa de titânio comercialmente puro e os padrões cicatriciais destes tecidos foram semelhantes para coelhos diabéticos e não-diabéticos.²⁹

Discussão

Os estudos disponíveis em animais utilizaram parâmetros histomorfométricos, bioquímicos e biomecânicos. A análise histológica dos tecidos e sua resposta à instalação de implantes em grupos diabéticos e não-diabéticos foi realizado em 8 estudos.^{16,18,20-24;29} Osso imaturo neoformado e menos organizado em torno de implantes foi observado em ratos diabéticos dispendidos quando comparados aos controle, o que sugere que a qualidade óssea é influenciada pela condição sistêmica.¹⁶ Estes dados apontam o diabetes como complicador da cicatrização óssea em torno dos implantes. O prejuízo da resposta óssea diabética pôde ser confirmado por meio de microscopia eletrônica onde foram constatadas células semelhantes à condrócitos envolvidas por uma matriz semelhante à tecido cartilaginoso no tecido periimplantar.²³ As diferenças qualitativas entre os tecidos ósseos foram confirmadas por estudo¹⁸, onde se observou formações ósseas mais bem definidas nos grupos controle quando comparados aos diabéticos.

A partir da histomorfometria, alguns estudos^{16,18,21,22,23,29} analisaram o contato da interface osso-implante e este se mostrou significativamente mais baixo em ratos diabéticos quando comparados aos controle. Também foi constatado o papel importante da insulina na manutenção e regulação do contato osso-implante em ratos com diabetes induzido.^{21,25}

A densidade óssea foi um dos parâmetros analisados em alguns estudos.^{16,24,29} Ela foi estatisticamente mais baixa em coelhos diabéticos do que em não-diabéticos nas áreas de 200, 400 e 600 μm em torno dos implantes.²⁹ Entretanto demonstrou-se em ratos que a densidade do osso medular que incluiu a região de 250 μm (excluindo a cortical) não diferiu entre os diabéticos e controles para este parâmetro, embora a quantidade de osso medular fosse diminuída nos animais diabéticos.¹⁶ Os resultados

estão de acordo com outro estudo²⁴ que também não demonstrou diferenças no volume trabecular ósseo entre animais diabéticos do tipo II e controles.

A análise bioquímica foi realizada em um estudo¹⁸ e constatou-se que níveis de osteocalcina sérica aumentaram consistentemente em ratos diabéticos, comparados aos não-diabéticos (controles), ao passo que fosfatase alcalina foi significativamente reduzida. Os autores sugerem a relação destes dados com a atividade anormal do osso e discorrem que a desregulação destes marcadores bioquímicos podem explicar a disparidade entre crescimento ósseo e osseointegração prejudicada. Estas observações podem relacionar a deficiência cicatricial óssea que defeitos criados em camundongos diabéticos apresentaram quando comparados aos grupos controle.⁵ Estes resultados confirmam as constatações de autores que advogam que o estado hiperglicêmico inibe a diferenciação osteoblástica, alterando a reação do hormônio regulador do metabolismo do fósforo e do cálcio, e produz um efeito deletério à matriz óssea e seus componentes.¹²

Diferentes superfícies de implantes (lisos ou rugosos) foram usadas nos estudos revisados.^{16,21,23,29} Um estudo experimental em coelhos²⁹ não mostrou diferenças estatisticamente significativas na densidade óssea e no contato implante-osso para implantes revestidos e não-revestidos. Mais estudos são necessários para elucidar o impacto da superfície do implante em animais diabéticos.

Não foram relatadas infecções atribuídas ao estado diabético em alguns estudos, o que sugere que a osseointegração pode ser conseguida mesmo com o prejuízo cicatricial consequentes deste estado.^{16,29} Também não foram observadas diferenças cicatriciais de tecido mole entre diabéticos e não-diabéticos após instalação de implantes.²⁹ Entretanto foi registrado em estudo²⁴ a morte de 21 dos 140 animais utilizados, consequentes de infecção severa. Vinte desses animais (95%) foram enquadrados em pobre controle metabólico. Sobre este aspecto, autores²⁶ recomendam a utilização de amoxicilina em pacientes diabéticos. Foi relatado em estudo³⁰ efeito positivo de bochechos com clorexidina 0,12%.

Diferentes definições de estado diabético foram obtidas nos estudos experimentais. Em alguns estudos foram considerados diabéticos animais que apresentavam glicose sérica que ultrapassasse 350 mg/dl,^{16,21} enquanto em outros o diagnóstico era dado quando os níveis foram maiores ou iguais a 300mg/dl.^{22,29} O valor de 200 mg/dl também foi utilizado para enquadrar animais nos grupos doentes.²² Houve estudo¹⁸ que não determinou a concentração sérica de glicose que definisse o estado

diabético. O critério para definição do estado diabético pode alterar os resultados obtidos através dos estudos experimentais.

Alguns estudos utilizaram a tíbia como leito receptor dos implantes^{18,23,29} enquanto outros elegeram o fêmur^{16,21,22}. A tíbia e o fêmur são ossos formados endocondralmente, enquanto que maxila e mandíbula exibem majoritariamente osteogênese intramembranosa. Isto deve ser considerado para extrapolação de considerações e aplicações clínicas.

Os estudos em humanos se propuseram a determinar o índice de sucesso de implantes em diabéticos tipo I e II em diferentes períodos^{2,21,26,27}. Taxas de sucesso na reabertura de 94,3% de um total de 227 implantes e 99,9% após as restaurações finais durante um período médio de acompanhamento de 11 anos foram encontrados.²⁶ Em outro estudo²⁷ altas taxas de sucesso na reabertura (96,3%) e 94,1% em acompanhamento de um a dez anos depois da instalação dos implantes. Foi determinado um índice de sucesso de 95,57% na reabertura, enquanto nenhum implante falhou após um período de 3 anos². Entretanto, alguns autores³⁰ sugerem que implantes endósseos em pacientes diabéticos tipo II é um risco ligeiramente elevado de insucesso a longo prazo. Um estudo revelou um índice menor de sucesso (85,6%) após um período de 6 meses a 6,5 anos de acompanhamento.¹⁷

Conclusões

- 1) O diabetes está associado a uma osseointegração mais pobre, com índices de contato osso-implante menores e um padrão de qualidade óssea inferior em estudos realizados em animais.
- 2) Embora a cicatrização seja prejudicada em um estado diabético, a osseointegração é um processo factível de ocorrer.
- 3) A insulina parece regular o padrão de manutenção óssea em torno de implantes, sendo importante no controle diabético e de suas complicações.
- 4) Alguns estudos clínicos apontam índices de sucesso satisfatórios, mas não há uniformidade metodológica relacionadas a tamanho de amostra, tempo de acompanhamento, randomização e critérios de inclusão/exclusão.
- 5) Se faz necessário a realização de mais estudos longitudinais, randomizados e controlados para consolidação de conclusões mais estruturadas.

Referências

1. Novaes Júnior BA, Macedo OG, Andrade, FP. Inter-relação doença periodontal e diabetes mellitus. *Periodontia* 2007;17(2):39-44.
2. Abdulwassie H, Dhanrajani PJ. Diabetes Mellitus and Dental Implants: a Clinical Study. *Implant Dent* 2002; 11:83-6.
3. World Health Organization. Definition and Diagnosis of Diabetes mellitus and Intermediate Hiperglycaemia. Geneva, Switzerland, 2006. Disponível em: http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf
4. Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology* 2000 2000;23:50-62.
5. Santana RB, Xu L, Chase HB, Amar S, Graves DT, Trackman PC. A role of advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. *Diabetes* 2003;52(6):1502-1510.
6. Valero AM, García, JCF, Ballester AH, Rueda L. Effects of diabetes on the osseointegration of dental implants. *Med. Oral Patol Cir. Bucal* 2007; 12(1).
7. Hrabrák A, Szabó A, Bajor T, Korner A. Differences of nitric oxide metabolism in streptozocin-treated rats and children suffering of type 1 diabetes. *Life Sciences* 2006;78:1362-1370.
8. Rahbar S, Figarola JL. Current Medicinal Chemistry. – Immun Endocr. Metab. Agents 2 (2002) 135-161.
9. Vasan, S, Foiles P, Founds H. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product-protein crosslinks *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2003;419(1):89-96.
10. Jerums G, Panagiotopoulos S, Forbes J, Osicka T, Cooper M. Envolving concepts in advanced glycation, diabetic nephropathy, and diabetic vascular disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2003;419(1):55-62.
11. He H, Liu R, Desta T, Leone C, Gerstenfeld LC, Graves DT. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology* 2004;145(1):447-452.

12. Weiss RE, Gora A, Nimni ME. Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone proteoglycans in experimental diabetes. *Diabetes* 1981;30(8):670-677.
13. Nyomba BL. Bone mineral homeostasis in spontaneously diabetic BB rats. Abnormal vitamin D metabolism and impaired active intestinal calcium absorption. *Endocrinology* 1989;124(2):565-572.
14. Follak N, Kloting I, Merk H. Influence of diabetic metabolic state on fracture healing in spontaneously diabetic rats. *Diabetes Metab Res Rev* 2005;21(3):288-296.
15. Gandhi A. et al. The effects of local insulin delivery on diabetic fracture healing. *Bone* 2005;37(4):482-490.
16. Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giannobile WV, Fiorelini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13(5):620-629.
17. Fiorellini JP, Chen PK, Nevins M & Nevins ML. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 2000; 20: 366-73.
18. McCracken MS, Wesson RA, Chavali R; Lemons JE. Bone associated with implants in diabetic and insulin-treated rats 2006; 17: 495-500.
19. Hasegawa H, Osawa S, Hashimoto K, Takeichi T, Ogawa T. Type 2 diabetes impairs implant osseointegration capacity in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23(2):237-246.
20. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, Pepato MT, Alba RC, Marcantonio E. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent* 2003; 12(4):333-339.
21. Fiorelini JP. et al. The effect of insulin therapy on osseointegration in a diabetic rats model. *Clinical Oral Implants Research* 1999;10(5):362-368.
22. Ottoni CE, Chopard RP. Histomorphometric evaluation on new bone formation in diabetic rats submitted to insertion of temporary implants. *Braz Dent J*, v.15, n.2, p.87-92, 2004.
23. Siqueira JT, Cavalher-Machado SC, Arana-Chavez VE, Sannomiya P. Bone formation around titanium implants in the rat tibia: role of insulin. *Implant Dent* 2003;12(3):242-249.

24. Casap N, Nimri S, Ziv E, Sela J, Samuni Y. Type 2 diabetes has minimal effect on osseointegration of titanium implants in *Psammomys obesus*. *Clin Oral Impl Res*. 2008;19: 458-464.
25. Kwon, PT; Rahman, SS; Kim, DM; Kopman, JA; Karimbux, NY; Fiorellini, JP. Maintenance of Osseointegration Utilizing Insulin Therapy in Diabetic rat Model. *J Periodontol* 2005, 76 (4): 621-26.
26. Balshi, TJ & Wolfinger GJ. Dental implants in diabetic patient: a retrospective study. *Implant Dentistry* 1999; 8: 355-59.
27. Farzad P; Andersson L & Nyberg J. Dental implant treatment in diabetic patients. *Implant Dentistry* 2002; II: 262-67.
28. Moy PK, Medina D, Shetty V, Aghaloo TL. Dental implant failure rates and associated risk factors. *The International Journal of Oral Maxillofacial Implants* 2005;20(4):569-577.
29. Gerritsen M, Lutterman JA & Jansen JA. Wound healing around bone-anchored percutaneous devices in experimental diabetes mellitus. *Journal of Biomedical Materials Research* 2000; 53:702-9.
30. Morris HF, Ochi & Winckler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: placement to 36 months. *Annals of Periodontology* 2000; 5: 157-65.

ARTIGO 2

Efeito da Liberação Local da Aminoguanidina na Retenção Biomecânica de Implantes em Ratos Diabético-Induzidos

-Gabriel Faria Aiala*, Peterson Antônio Dutra Oliveira**, Armando da Silva Cunha Júnior***

Autores:

Gabriel Faria Aiala*, Peterson Antônio Dutra Oliveira**, Armando da Silva Cunha Júnior***

***Gabriel Faria Aiala**

Graduado em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Especialização em Periodontia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Mestrado Profissionalizante em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil – Área de concentração em Implantodontia. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil.

Endereço Profissional Completo:

Gabriel Faria Aiala
Rua Pernambuco, 353 sala 1004 - Funcionários
30140130 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 32616991 (31) 96163446 fax: (31) 34181458

Endereço eletrônico para correspondência: e-mail: gabriel_aiala@hotmail.com

****Peterson Antônio Oliveira Dutra**

Graduação em Odontologia pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil
Especialização em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil
Mestrado em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil

Doutorado em Implantodontia pelo Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, SLMANDIC, Brasil

Professor Associado da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, PUC Minas, Brasil

Endereço Profissional Completo:

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Av. Dom José Gaspar, 500 - Coração Eucarístico
CEP 30535610 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 33194144 fax: (31) 3319416

***** Armando da Silva Cunha Júnior**

Graduação em Farmácia Bioquímica pela Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil
Mestrado em DEA Pharmacotechnie Et Biopharmacie pela Université de Paris XI (Paris-Sud), U.P. XI, França
Doutorado em Sciences Pharmaceutiques. Université de Paris XI (Paris-Sud, U.P. XI, França).
Pós-Doutorado pelo Institut National de La Santé et de la Recherche Médicale).
Professor Associado da Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil. Faculdade de Farmácia.

Endereço Profissional Completo:

Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Faculdade de Farmácia, Departamento de Produtos Farmacêuticos.

Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
CEP 31270-010 – Belo Horizonte, MG – Brasil
Telefones: (31) 34996949 Fax: (31) 34

ARTIGO 2

Efeito da Liberação Local da Aminoguanidina na Retenção Biomecânica de Implantes em Ratos Diabético-Induzidos

Propósito: Avaliar o impacto da colocação cirúrgica de um dispositivo (membrana de quitosana-MQ) carregado com aminoguanidina (AG) em leitos implantados na retenção mecânica de implantes endósseos em ratos saudáveis e com diabetes-induzido. **Materiais e Métodos:** Quarenta e oito ratos da raça Wistar foram randomicamente distribuídos em 6 grupos e receberam a inserção de um implante no fêmur esquerdo. Os grupos-controle: Grupo 1 - implante sem colocação de MQ; grupo 2 – implante com utilização de MQ sem carregamento medicamentoso; grupo 3 - implante com utilização de MQ carregada com AG na dose de 7,35 mmol/kg. Os animais do grupo teste tiveram o diabetes induzido quimicamente (Streptozotocina), sendo: Grupo 4 – implante instalado sem colocação de MQ; grupo 5 – implante com utilização de MQ sem carregamento medicamentoso; grupo 6 – implante com utilização de MQ carregada com AG na dose de 7,35 mmol/kg. Após 28 dias de cicatrização os animais foram sacrificados e as forças de contra-torque necessárias para o rompimento da interface osso-implante medidas. Os valores encontrados foram avaliados estatisticamente por meio de testes paramétricos (ANOVA). **Resultados:** As forças de contra-torque necessárias para romper as interfaces implante-osso foram significativamente menores nos grupos diabéticos não tratados com aminoguanidina quando comparados aos grupos saudáveis correspondentes a mesma modalidade de tratamento. Para os grupos que utilizaram a MQ como veículo para a liberação local deste fármaco (AG) as forças de contra-torque não apresentaram diferenças estatisticamente significativas independente da presença ou não do estado diabético.

Conclusões: O diabetes-induzido prejudicou o reparo ósseo periimplantar no modelo de estudo animal. A disposição local de aminoguanidina elevou os valores de contra-torque nos animais diabéticos ao nível dos saudáveis.

Palavras-Chave: dental implants, aminoguanidine, diabetes mellitus, chitosan, topic delivery

Introdução

A utilização de implantes dentários osseointegráveis como viabilizadores da reabilitação de pacientes total e parcialmente edêntulos tem sido prática efetiva e factível durante anos.^{1,2} Contudo, algumas condições sistêmicas podem limitar e contribuir para o insucesso desta modalidade de tratamento. O Diabetes Mellitus é um exemplo desta condição por acarretar prejuízo na resposta cicatricial óssea, reduzir o suprimento vascular devido à microangiopatias, diminuir a resposta imune, reduzir a produção de colágeno e aumentar a atividade da collagenase³. Entretanto, o impacto desta desordem metabólica na implantodontia ainda não está claro devido à falta de estudos controlados, o que faz com que sua abordagem seja controversa³. É hipotetizado que as disfunções teciduais no estado diabético sejam decorrentes da ligação dos produtos da glicosilação avançada (AGEs) às células importantes nos mecanismos de defesa e cicatrização, fundamentais para a ocorrência do processo da osseointegração⁴.

Os AGEs são formados a partir da ligação da glicose à proteínas e lipídios corpóreos e seu acúmulo se dá de forma acelerada no estado hiperglicêmico. Estes produtos são cumulativos, irreversíveis e sua interação com os tecidos ocorre por meio de sua ligação à receptores identificados na parede celular das diversas células (inclusive ósseas) levando a alterações funcionais importantes⁵. Dentre as estratégias para o tratamento das complicações diabéticas derivadas da interação dos AGEs às células estão os esforços para a prevenção e quebra das ligações já existentes. O potencial terapêutico de um inibidor dos AGEs, a Aminoguanidina (AG), tem sido investigado em diferentes modelos de estudo (quadro 3).^{11,15-22} Por sua capacidade de prevenir a formação destes produtos, ela atenua os efeitos deletérios decorrentes do diabetes tais como na prevenção de retinopatias,^{15,19} melhora da capacidade

angiogênica¹⁷, melhora dos mecanismos de funcionamento cardíaco²² e melhora na efetividade da osseointegração (medidas pelo maior índice de contato osso-implante).¹¹

Variações na utilização da Aminoguanidina e seus reflexos no estado diabético				
Estudos	Dose empregada	Via de administração	Animal utilizado	Conclusões
Hammes H-P et al., 1991	25 mg/kg Aminoguanidine hydrochloride, Riedel de Haen, Hanover, F.R.G. 50 mg/ml diluídos em água	Via Intraperitoneal Via Oral	Ratos Wistar	Preveniu o acúmulo dos AGEs, preveniu a proliferação anormal de células endoteliais
Teixeira AS and Andrade SP, 1999	50 mg/kg Aminoguanidine bicarbonate, Sigma	Via Intraperitoneal	Ratos Wistar	Proteção contra os efeitos deletérios da hiperglicemia, causada pela administração direta de glicose
Teixeira AS e al. 1999	1 mg/ml Aminoguanidine bicarbonate, Sigma, USA, diluídos em água	Via Oral	Ratos Wistar	Foi efetiva em prevenir a inibição do crescimento do tecido fibrovascular induzido pelo diabetes, mostrando um alto potencial terapêutico no manejo do prejuízo cicatricial causado pelo diabetes
Kern TS and Engerman RL, 2001	20 mg/kg, Aminoguanidine, em comprimidos	Via Oral	Cães	Preveniu a retinopatia, inibiu significativamente o desenvolvimento de microaneurismas retiniais, capilares acelulares, pericitos fantasmas, comparados aos diabéticos (controles)
Kopman JA et al., 2005	7,35 mmol/kg Aminoguanidine hydrochloride, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO	Via Intraperitoneal	Ratos Sprague-Dawley	Os efeitos do diabetes na osseointegração pode ser modificado positivamente pela administração sistêmica de aminoguanidina, medidos pelo contato osso-implante (MBIC)
Wu M-S et al., 2008	50 mg/kg Aminoguanidine, Sigma, St. Louis, MO, USA	Via Intraperitoneal	Ratos Wistar	O Aminoguanidina preveniu não somente a disfunção contrátil cardíaca, mas aumentou a resistência do ventrículo esquerdo em ratos com diabetes-induzido

Quadro 3. Estudos relacionados ao emprego da Aminoguanidina em diferentes doses e vias de administração e seus efeitos no estado diabético

Entretanto, além do potencial que a aminoguanidina apresenta para prevenir a formação dos AGEs, outros mecanismos de ação são identificados^{16,21}. A capacidade de inibição de enzimas envolvidas em importantes sistemas regulatórios do corpo - NO sintase e diamino oxidase (DAO) – fazem com que sua utilização sistêmica seja

cautelosa¹⁶. Com o objetivo de minimizar os possíveis efeitos colaterais, tornar o tratamento mais seguro e confortável, possibilitando uma administração única da medicação este estudo se propôs a observar os efeitos da liberação local deste fármaco na cicatrização óssea periimplantar, avaliada pela mensuração dos valores de contra-torque de implantes instalados em ratos diabético-induzidos.

O presente estudo optou pela utilização de uma membrana de quitosan como veículo de liberação local da aminoguanidina. O quitosan é um dos biopolímeros mais abundantes da natureza ao lado da celulose.²⁵ É derivado da quitina encontrada em cascos de crustáceos e está presente também naturalmente em alguns microorganismos e fungos.²⁵⁻²⁸ É largamente empregado e estudado na indústria farmacêutica devido à propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não-toxicidade aos tecidos vivos, além do potencial antimicrobiano. Tem sido utilizado na formulação de sistemas de liberação controlada de drogas possuindo uma extensa versatilidade para variação de formas farmacêuticas.²⁶ Demonstrou ser um eficaz veículo de liberação de vacinas de aplicação nasal contra vírus em modelo de estudo animal e humano.²⁷ Foi utilizado como ferramenta para redução de bolsas periodontais²⁹ e em decorrência de suas propriedades físicas, químicas e biológicas tem sido aplicado em diferentes formulações para liberação gênica e medicamentosa.³⁰

As alterações no processo de reparo tecidual representam as complicações do estado diabético de maior interesse na área da implantodontia. Vários estudos se concentram em pesquisar o efeito desta doença na qualidade da osseointegração.^{3,6-14} Alguns deles relatam um contato mais pobre entre as superfícies dos implantes e do tecido ósseo nos grupos diabéticos quando comparados aos controles.^{8,10,14} Outros apontam diferenças qualitativas na neoformação óssea periimplantar e deficiências de mineralização na presença desta disordem metabólica^{6-8,10}.

O diabetes mellitus é uma doença crônica, de distribuição universal, que acometeu cerca de 171 milhões de pessoas no mundo no ano 2000 e que apresenta projeção de prevalência para 2030 de 366 milhões de indivíduos.²³ Neste contexto, se torna importante o conhecimento das implicações desta doença na implantodontia e das possíveis estratégias de abordagem nesses pacientes, já que são mais susceptíveis a perda de dentes³.

Materiais e Métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal, da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PUCMinas, Brasil).

O experimento foi realizado com a utilização de 48 ratos da raça Wistar, pesando 321g em média, com idade de 7 meses, tendo ração (Nuvilab™) e água à vontade, alojados no biotério do Departamento de Ciências Biológicas da Puc-Minas.

Os 48 ratos foram divididos aleatoriamente em 6 grupos de oito animais, seguindo a seguinte lógica: :

Grupo 1 -> animais saudáveis com a instalação de implantes somente.

Grupo 2 -> animais saudáveis com instalação dos implantes e colocação da membrana de quitosan sem carregamento medicamentoso sobre o fêmur implantado.

Grupo 3 -> animais saudáveis com instalação dos implantes e colocação de membrana com carregamento medicamentoso de aminoguanidina (7,35 mmol/kg) sobre o fêmur implantado.

Grupo 4 -> animais diabéticos com instalação dos implantes somente.

Grupo 5 -> animais diabéticos com instalação de implantes sem colocação membrana sobre o fêmur implantado.

Grupo 6 -> animais diabéticos com instalação dos implantes e colocação de membrana com carregamento medicamentoso de aminoguanidina (7,35 mmol/kg) sobre o fêmur implantado.

Preparo das membranas de quitosana (carregadas e não-carregadas) com aminoguanidina

O preparo das membranas de quitosana, assim como seu respectivo carregamento medicamentoso (com aminoguanidina) utilizada no estudo como veículo de liberação local de AG nos sítios cirúrgicos foi realizado no Laboratório de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, Brasil).

Os dispositivos mucoadesivos foram preparados a partir de polímeros iônicos com e sem a adição de agentes plastificantes. Inicialmente os polímeros e/ou misturas de polímeros foram dissolvidos em solventes adequados com ou sem a adição de agentes plastificantes até atingirem uma viscosidade apropriada. O fármaco (Aminoguanidine Bicarbonate Salt; Sigma Chemical Co.®), St. Louis, MO) foi solubilizado em água e vertido sobre a solução polimérica. A partir dessa etapa o processo seguiu para a formação de um filme. Nesse processo a mistura foi depositada em moldes e em seguida seca em estufa apropriada com circulação de ar e temperatura controlada.²⁴

Indução do diabetes

O grupo 1 e o grupo 4 fizeram parte dos grupos-controle referentes aos animais saudáveis e diabéticos, respectivamente. O diabetes foi induzido nos grupos G4, G5 e

G6 através de injeção intraperitoneal de 70mg/kg de estreptozotocina (Streptozotocin Mixed Anomers; Sigma-Aldrich Brasil Ltda., São Paulo, Brasil).^{6,10} Os níveis sanguíneos de glicose foram monitorados por coleta de uma gota de sangue da artéria caudal de todos os animais, após realização de perfuração com lanceta apropriada (Thin Lancets; MediSence UK Ltd.®, Abingdon, Oxon, U.K.). O monitoramento foi realizado no momento da indução do diabetes, antes da cirurgia de instalação dos implantes (10 dias após a indução), no momento da cirurgia da instalação dos implantes (14 dias após a indução) e antes do sacrifício dos animais (28 dias após a instalação dos implantes). O sangue foi colocado imediatamente após a coleta numa fita receptora (Blood Glucose Test Strip; Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.) e acoplada ao leitor digital de glicose (Optium X-ceed; Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.). O estado diabético foi considerado para os níveis de glicose acima de 300mg/dl.^{9,10}

Cirurgia para instalação dos implantes

Os animais receberam parafusos autoroscantes do tipo usado em fixação de enxertos ósseos, fabricados em titânio grau IV (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) medindo 4 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro no fêmur esquerdo, 14 dias após a indução diabética.

Os animais foram anestesiados através de injeção intramuscular na região do fêmur, da mistura de 1ml de solução de Cloridrato de ketamina (50mg) (Vetanarcol; Laboratório König S.A, Avellaneda, Argentina) a 1ml de Xilazina (200mg) (Dopaser; Laboratório Calier S.A, Barcelona, Espanha) sendo a dose empregada de 0,2ml/100g peso⁹.

A região do fêmur direito foi tricotomizada, limpa e desinfetada com solução alcoólica de iodo (Riodeine, Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil) em sua porção ântero-medial.

Foram realizadas incisões no sentido horizontal utilizando lâmina de bisturi número 15 sendo os músculos e demais tecidos afastados por dissecação romba (fig.1). Após a exposição óssea ocorreu o preparo do leito receptor utilizando-se uma broca (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) de 1,3 mm de diâmetro acoplada a um contra-ângulo (W&H® Dentalwerk Bürmoos GmbH, Burmoos, Áustria) com irrigação constante e abundante com solução de soro fisiológico estéril a rotações de 1000 RPM (fig.2). O implante (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) foi inserido através de chave manual (NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil) até que a cabeça do mesmo tocasse o osso cortical e apresentasse estabilidade mecânica (fig.3). Nos animais dos grupos 2, 3, 5 e 6, após a instalação dos implantes, o fêmur implantado foi revestido com membrana carregada (grupos 3 e 6) ou não-carregadas (grupos 2 e 5) com aminoguanidina (na concentração de 7,35 mmol/kg) (fig.4). A sutura foi realizada com fio de seda 4-0 (Biosut Ltda., Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) utilizando-se pontos simples removidos após sete dias (fig.5). Para possibilitar a uniformidade das quantidades utilizadas do fármaco, as membranas foram medidas e recortadas no momento da cirurgia no tamanho de 2x1 cm.

Os procedimentos cirurgicos e de manipulação foram realizados obedecendo aos princípios de biossegurança.



Figura 1. Incisão e dissecação romba



Figura 2. Preparo do leito receptor

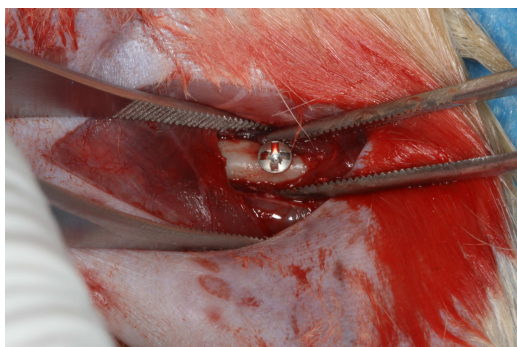


Figura 3. Implante instalado

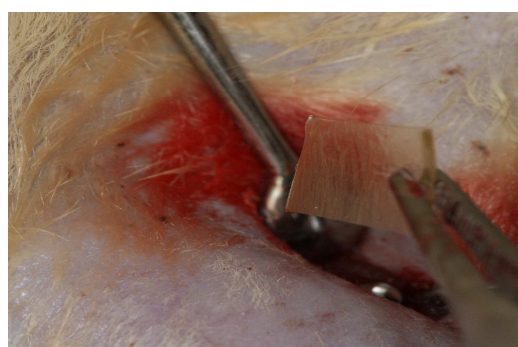


Figura 4. Instalação da membrana carregada

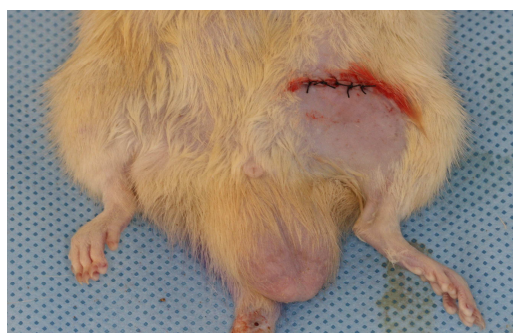


Figura 5. Suturas

Controle Pós-Cirúrgico

Os animais receberam analgésico, paracetamol (10mg/Kg) em gotas diluídas em água potável e administradas por via oral por um período de cinco dias, iniciado após o procedimento cirúrgico.¹⁰ Todos os animais foram pesados semanalmente durante todas as etapas do experimento, para a adequação das doses dos medicamentos.

Sacrifício dos Animais e Mensuração dos Contra-Torques

Os animais foram submetidos a uma overdose de Cloridrato de Ketamina (300mg/kg) no quadragésimo segundo dia de experimento (após 28 dias de cicatrização óssea). Os fêmures foram removidos cirurgicamente e o tecido muscular sobrejacente separado do osso. Em seguida os fêmures foram colocados num torno tipo morsa de bancada afim de garantir um correto alinhamento em relação ao torquímetro (Modelo 1200ATG-N-S, Tohnich, Tokio, Japan). Com utilização de uma chave padronizada (NEODENT®), Curitiba, Paraná, Brasil) com encaixe apropriado para o implante instalado, foi conectado o torquímetro e a cabeça do implante. Este mediu e registrou a força máxima necessária para a ruptura do implante à interface óssea. Nenhuma força foi aplicada na direção vertical para evitar alterações nos dados.

Análise Estatística

O ensaio foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x3, sendo duas condições de saúde: saudáveis e diabéticos e três formas de tratamento: implante sem colocação de nenhum dispositivo, implante + colocação de membrana não-carregada e implante com colocação de membrana carregada com AG constituindo, portanto, seis grupos experimentais. Foi avaliada a variável contra-torque medida em N/cm e variação de glicose do dia da cirurgia ao dia do sacrifício.

Foram realizados os testes de Lilliefors e Bartlett para verificar normalidade e homogeneidade de variâncias dentro de tratamentos, respectivamente.

Para análises da variação de glicose e contra-torque foram realizadas as análises de variância e comparação das médias utilizando-se o teste de t (t-student) em nível de 5% de probabilidade.

A análise foi realizada utilizando-se o programa SISVAR (Sistema para análise de variância) e SAEG.

Resultados

Doze animais foram excluídos por causas diversas: Cinco por apresentarem sinais de trinca ou fratura do fêmur implantado no momento cirúrgico ou no registro do contra-torque (isto ocorreu em um animal no grupo 1, um do grupo 4, dois do grupo 5 e um do grupo 6). Outros cinco foram excluídos por apresentarem abertura de suas feridas antes do período de remoção das suturas (um do grupo 1, dois do grupo 2 e dois do grupo 3). Dois animais (um do grupo 4 e um do grupo 6) apresentaram sinais de infecção e também foram excluídos do estudo.

Foram realizadas mensurações dos níveis de glicose nos dias 1, 10, 14 e 42 do experimento. A média dos valores encontrados para todos os grupos estão dispostas no quadro 4.

Quadro 4. Média dos Níveis de Glicose Plasmática (mg/dl) nos diferentes grupos de acordo com os períodos experimentais				
Níveis de Glicose (mg/dl)				
	Dia 1	Dia 10	Dia 14	Dia 42
Grupos				
G1	195,6 (145-248)	120,1 (100-148)	101,1 (87-109)	104,5 (95-114)
G2	90,2 (78-98)	96,6 (64-111)	162,3 (107-224)	93,5 (54-146)
G3	121,5 (87-172)	96,6 (42-143)	105,8 (97-129)	74,8 (45-111)
G4	112,8 (90-151)	423,3 (383-500)	450,3 (405-500)	465,3 (327-500)
G5	97,6 (82-114)	407,5 (356-500)	406,8 (376-453)	441,3 (351-500)
G6	113,3 (90-150)	429,1 (324-500)	407,0 (349-438)	403,3 (386-438)

Quadro 4. Média dos Níveis de Glicose Plasmática para os diferentes Grupos de acordo com os Tenpos Experimentais

Após injeção de streptozotocin nos grupos G4, G5 e G6 o estado diabético (>300 mg/dl) foi conseguido e mantido durante todo o período do experimento. No dia da indução diabética o nível médio de glicose sanguínea para todos os seis grupos era de

120,2 mg/dl. Os níveis glicêmicos médios entre os grupos saudáveis (G1, G2, G3) no dia 1 foi 131,2 mg/dl, 103,7 mg/dl no décimo dia, 127 mg/dl no décimo quarto dia e 91,2 mg/dl no dia do sacrifício. Em contraste, após a indução nos grupos (G4, G5, G6), os animais tiveram uma média glicêmica de 420 mg/dl no dia 10, 421,3 mg/dl no dia 14 e 436,6 mg/dl no dia do sacrifício como mostra o gráfico 1.

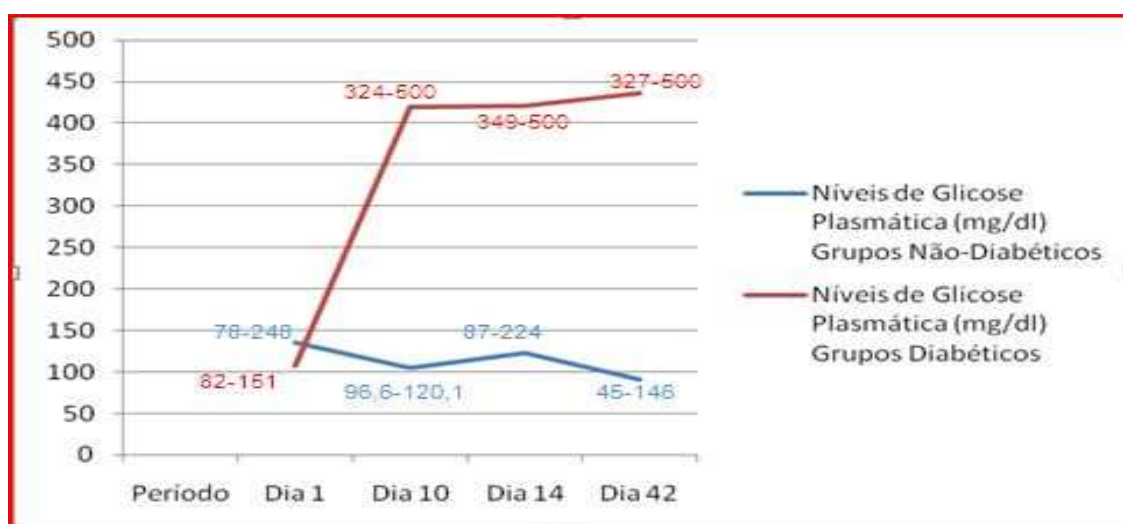


Gráfico 1. Média dos Níveis de Glicose Plasmática nas Diferentes Condições Sistêmicas em Diferentes Tempos

No dia do sacrifício dos animais, após a realização da remoção cirúrgica do fêmur e dos tecidos moles circunjacentes foi realizada a mensuração das forças de contra-torque necessárias para romper as interfaces implante-osso, como mostradas no tabela 1.

TABELA 1 – Valores de contra-torque médios de acordo com a condição de saúde e modalidades de tratamento

Grupos/saúde*	Saudáveis	diabéticos
Implante	2,66 ^{Aa}	1,26 ^{bA}
Membrana	2,48 ^{Aa}	1,26 ^{bA}
Membrana + AG	2,10 ^{aA}	1,81 ^{aA}

* médias seguidas de letras distintas minúsculas nas linhas e maiúscula nas colunas diferem significativamente pelo teste de t ($P < 0,05$)

As forças de contra-torque necessárias para o rompimento das interfaces implante-osso medidas por N/cm dos grupos 1 e 2 (saudáveis) foram estatisticamente superiores aos grupos diabéticos correspondentes à mesma modalidade de tratamento (4 e 5). Os valores médios foram de 2,66 N/cm do grupo 1, versus 1,26 N/cm do grupo 4, e 2,48 N/cm do grupo 2 contra 1,26 N/cm mensuradas no grupo 5. Entretanto, para a modalidade que incluía implantes+membrana carregada com aminoguanidina (G3 e G6) não houve diferença estatística para os valores de contra-torque medidos independente do estado glicêmico. A média para o grupo 3 foi de 2,10 N/cm comparando a 1,81 N/cm do grupo 6.

Entre os grupos G1, G2 e G3, correspondentes aos animais saudáveis, não houve diferença estatística entre os valores encontrados entre si, assim como entre os grupos G4, G5 e G6, correspondentes aos diabéticos. Entretanto os valores médios foram ligeiramente mais altos no grupo que incluía membrana + aminoguanidina em sua modalidade de tratamento. Isto pode ser observado no gráfico 2.

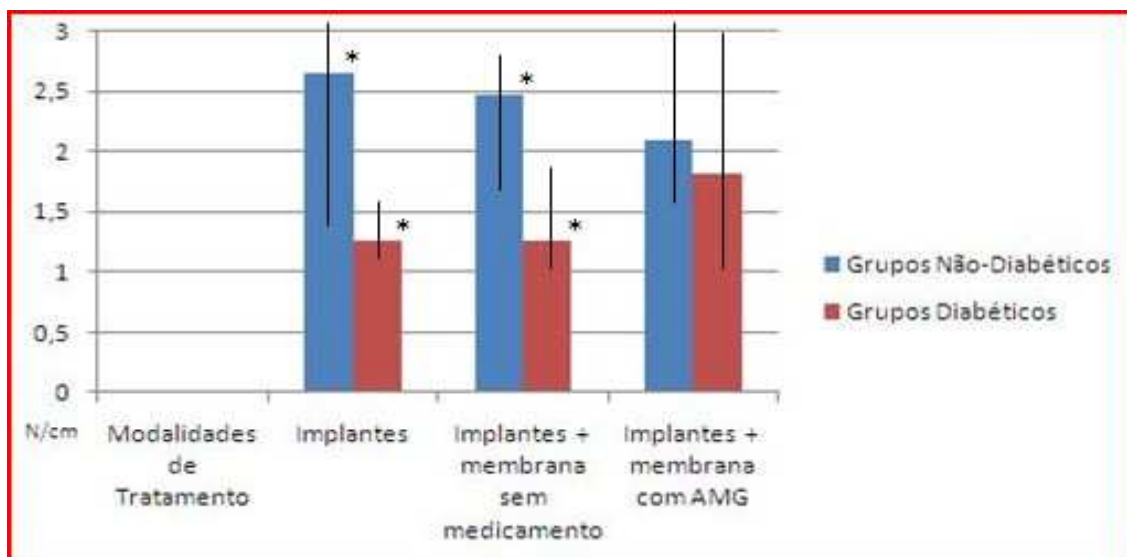


Gráfico 2. Média dos Valores de Contra-Torque (N/cm) de acordo com Condição Sistêmica e Modalidades de Tratamento. *valores estatisticamente distintos pelo teste t ($p < 0,05$)

Discussão

Embora bem tolerado pelo tecido ósseo,^{31,32,33} nenhum dos trabalhos relacionados à implantodontia utilizou o chiosan como ferramenta farmacêutica além do presente estudo. O emprego da aminoguanidina foi realizado pelos diversos estudos em diferentes doses e vias de administração com o objetivo de testar seu potencial atenuador dos efeitos deletérios do diabetes.^{11,15,18,19,22} Os estudos analisados apresentam uma utilização mais frequente do fármaco por via sistêmica, em administrações diárias, com observação de resultados positivos nas áreas da oftalmologia, implantodontia, cardiologia e cicatrização tecidual. Contudo, ainda não há uma dose padronizada e específica para otimização dos resultados aliada à diminuição dos riscos de reações sistêmicas possivelmente indesejáveis. Apenas Benencia e colaboradores³⁴ utilizaram AG via aplicação ocular tópica afim de testar a influência da inibição da enzima óxido nítrico sintase.

Kopman et al.¹¹ observaram os efeitos positivos da aminoguanidina na cicatrização óssea periimplantar de animais diabéticos através de um aumento significativo do contato ósseo medular e a superfície do implante (MBIC) comparado ao grupo controle-diabético. Estes achados estão de acordo com os resultados deste estudo que apresentou valores comparáveis de contra-torque entre animais diabéticos e não-diabéticos tratados com aminoguanidina. Ambos os estudos utilizaram a mesma concentração de AG sendo o primeiro por via intraperitoneal e o segundo via local.

Santana et al.⁴ identificaram a presença dos receptores de AGEs (RAGEs) nas células ósseas e confirmaram a contribuição dos produtos da glicosilação avançada para a diminuição da cicatrização deste tecido, corroborando as observações do presente estudo e de vários outros que relataram um prejuízo na cicatrização óssea periimplantar em animais diabéticos avaliados por diferentes métodos.^{6-11,14} Estes estudos mostraram

o impacto do diabetes mellitus para o prejuízo da qualidade óssea periimplantar^{6,7} e através de menores índices de contato entre as interfaces osso-implante^{8,10,11,14} em grupos doentes. O índice de contato e a qualidade óssea periimplantar são considerados importantes fatores que influenciam mecanicamente os valores de contra-torque.^{35,36}

Os dados deste estudo mostraram resistências mecânicas significativamente menores para os grupos diabéticos não-tratados com aminoguanidina comparados aos grupos-controle para a mesma modalidade de tratamento num período de observação de quatro semanas. Nevins et al.⁶ demonstrou uma menor quantidade de contato osso-implante em animais diabéticos neste mesmo período de cicatrização comparados ao grupo controle. Entretanto, Margonar et al.⁹ não encontraram diferenças significativas nos contra-torques dos implantes entre nenhum dos grupos experimentais para este período de observação.

Recentes estudos tem evidenciado que ambos os tipos de diabetes (I e II) estão associados a um aumento no risco de fraturas. Embora o diabetes tipo I seja associado com uma menor densidade óssea e o diabetes tipo II a uma maior densidade, ambos os tipos demonstram uma maior fragilidade óssea,³⁹ o que poderia justificar o índice de 55% dos animais excluídos por fratura.

A hiperglicemia também está associada com uma resposta imune alterada pela migração deficitária de leucócitos polimorfonucleares, por uma resposta fagocitária menos eficiente e resposta inflamatória exacerbada à produtos microbianos.⁴⁰ Dois animais foram excluídos do estudo por apresentarem sinais de infecção e ambos se enquadraram em grupos diabéticos.

Embora os achados dos estudos de modelo animal diabético indiquem prejuízo na cicatrização óssea periimplantar e na retenção mecânica de implantes,^{6-8,10,11,14} estudos longitudinais em humanos demonstraram taxas de sucesso similares utilizando pacientes

diabético-controlados quando comparados a pacientes não-diabéticos.^{1,37,38} Apesar disso, ainda faltam mais estudos controlados em humanos para definição das previsibilidades neste perfil de pacientes.

Conclusões

O diabetes-induzido é capaz de alterar a força de contra-torque necessária para o rompimento da interface osso-implante, sugerindo que a doença prejudica o reparo ósseo periimplantar no modelo de estudo animal. Entretanto, a liberação local de aminoguanidina foi capaz de atenuar esse prejuízo cicatricial e elevar a retenção mecânica de implantes no estado diabético.

Referências

1. Adell R, Lekholm U, Rockler B, & Branemark P-I. A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.
2. Jemt T & Lekholm U. Oral implant treatment in posterior partially edentulous jaws: a five-year follow-up report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:635-640.
3. Fiorellini JP & Nevins ML. Dental implant considerations in the diabetic patient. *Periodontol* 2000 2000;23:73-77.
4. Santana RB, Xu L, Chase HB, Amar S, Graves DT, Trackman PC. A role of advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. *Diabetes* 2003;52(6):1502-1510.
5. Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schimdt AM. Hyperglycemia, glycoxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontol* 2000 2000;23:50-62.
6. Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giannobile WV, Fiorelini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13(5):620-629.
7. McCracken M, Lemons JE, Rahemtulla F, Prince CW, Feldman D. Bone response to titanium alloy implants placed in diabetic rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:345-354.
8. Siqueira JT, Cavalher-Machado SC, Arana-Chavez VE, Sannomiya P. Bone formation around titanium implants in the rat tibia: role of insulin. *Implant Dent* 2003;12(3):242-249.
9. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, Pepato MT, Alba RC, Marcantonio E. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent* 2003; 12(4):333-339.
10. Ottoni, C. E.; Chopard, R. P. Histomorphometric evaluation on new bone formation in diabetic rats submitted to insertion of temporary implants. *Braz Dent J* 2004;15(2):87-92.

11. Kopman JA, Kim DM, Rahman SS, Arandia JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. *J Periodontol* 2005;76(4):614-620.
12. Kwon PT, Rahman SS, Kim DM, Kopman JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Maintenance of osseointegration utilizing insulin therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol* 2005; 76(4):621-626.
13. Casap N, Nimri S, Ziv E, Sela J, Samuni Y. Type 2 diabetes has minimal effect on osseointegration of titanium implants in *Psammomys obesus*. *Clin Oral Impl Res* 2008;19:458-464.
14. Hasegawa H, Osawa S, Hashimoto K, Takeichi T, Ogawa T. Type 2 diabetes impairs implant osseointegration capacity in rats. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23(2):237-246.
15. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88(24):11555-11558.
16. Nilsson B-O. Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflamm Res* 1999;48(10):509-515.
17. Teixeira AS, Andrade SP. Glucose-induced inhibition of angiogenesis of rat sponge granuloma is prevented by aminoguanidine. *Life Sci* 1999;64(8):655-662.
18. Teixeira AS, Caliari MV, Rocha OA, Machado RD, Andrade SP. Aminoguanidine prevents impaired healing and deficient angiogenesis in diabetic rats. *Inflammation* 1999;23(6):569-581.
19. Kern TS, Engerman RL. Pharmacological inhibition of diabetic retinopathy – aminoguanidine and aspirin. *Diabetes* 2001;50:1636-1642.
20. Vasan S, Foiles P, Founds H. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product-protein crosslinks. *Arch Biochem and Biophys* 2003; 419(1):89-96.
21. Tournalley PJ. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem and Biophys* 2003; 419:31-40.
22. Wu M-S, Liang J-T, Lin Y-D, Wu ET, Tseng YZ, Chang KC. Aminoguanidine prevents the impairment of cardiac pumping mechanics in rats with streptozotocin and nicotinamide-induced type 2 diabetes. *Br J Pharmacol* 2008; 154:758-764.

23. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-1053.
24. Lee JW, Park JH, Robinson R. Bioadhesive-based dosage forms the next generation, *J Pharm Sci* 2000; 89:850-866.
25. Shi C, Zhu Y, Ran X, Wang M, Su Y, Cheng T. Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivates in Regenerative Medicine. *J Surg Res* 2006; 133:185-192.
26. Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. *Pharm Res* 1998; 15:1326-1331.
27. Illum L, Jabbal-Gill I, Hinchcliffe M, Fisher AN, Davis SS. Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines. *Adv Drug Del Rev* 2001; 51:81-96.
28. Paños I, Acosta N, Heras A. New drug delivery systems based on chitosan. *Curr Drug Discov Technol* 2008; 5:333-341.
29. Berger J, Reist M, Mayer JM, Felt O, Gurny R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 57
30. Prabaharam M, Mano JF. Chitosan based particles as controlled drug delivery systems. *Drug Deliv* 2005; 12:41-57.
31. Ge Z, Baguenard S, Lin LY, Wee A, Khor E. Hidroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. *Biomaterials* 2004;25:1049
32. Lee YM, Park YJ, Lee SJ, Ku Y, Han SB, Klokkevold PR, Chung CP . The bone regenerative effect of platelet-derived growth factor-BB delivered with a chitosan/tricalcium phosphate sponge carrier. *J Periodontol* 2000;71:418.
33. Kim IS, Park, JW, Kwon IC, Baik BS, Cho BC. Role of BMP, betaig-h3, and chitosan in early bony consolidation in distraction osteogenesis in a dog model. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:1966.
34. Benencia F, Courrèges MC, Gamba G, Cavalieri H, Massouh EI. Effect of aminoguanidine, a nitric oxide synthase inhibidor on ocular infection with herpes simplex virus in Balbi/c mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(6):1277-1284.
35. Sennerby L, Thomsen P, Ericsson LE. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992; 7:62-70.

36. Johansson C, Albrektsson T, Integration of screw implants in rabbit: A 1-yr follow up of removal torque of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1987;2:69-75.
37. Balshi TJ, Wolfinger GJ. Dental implants in the diabetic patient: a retrospective study. *Implant Dent* 1999;8:355-359.
38. Shernoff AF, Colwell JA, Bingham SF. Implant for type II diabetic patients: interim report. *Implant Dent* 1994;3:183-185.
39. Schwartz AV, Sellmeyer DE. Diabetes, Fracture and Bone Fragility. *Curr Osteoporos Rep* 2007;5:105-111.
40. Soory M. Hormone mediation of immune responses in the progression of diabetes rheumatoid arthritis and periodontal diseases. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2002;2:13-25.