

**EFEITOS DA AMINOGLUCANIDINA NO
REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR EM
RATOS COM DIABETES INDUZIDO**

Rodrigo Porto Guimarães

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**Efeitos da aminoguanidina no reparo ósseo
periimplantar em ratos com diabetes induzido**

Rodrigo Porto Guimarães

**Belo Horizonte
2008**

Rodrigo Porto Guimarães

Efeitos da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Implantodontia.

Orientadora:

Profa. Dra. Alcione Maria Soares Dutra Oliveira

Co-orientador:

Prof. Peterson Antônio Dutra de Oliveira

Belo Horizonte

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

G963e Guimarães, Rodrigo Porto
Efeitos da aminoguanidina no reparo ósseo perimplantar em ratos com diabetes induzido / Rodrigo Porto Guimarães. Belo Horizonte, 2008.
42f. : Il.

Orientadora: Alcione Maria Soares Dutra Oliveira
Co-orientador: Peterson Antônio Dutra de Oliveira
Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

1. Diabetes mellitus. 2. Remodelação óssea. 3. Osseointegração. 4. Guanidinas. I. Oliveira, Alcione Maria Soares Dutra. II. Oliveira, Peterson Antônio Dutra de. III. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

CDU: 616.314-089.23

FOLHA DE APROVAÇÃO

*À minha esposa,
meus pais e minhas irmãs,
que me acompanharam nessa conquista.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar que no final de cada batalha não importam as feridas abertas, o mais importante é sempre renascer. Isso é essencial para nossa felicidade.

À minha orientadora Profa. Dra. Alcione Maria Soares Dutra Oliveira, pela atenção doada à orientação da dissertação.

Ao meu co-orientador Prof. Peterson Antônio Dutra de Oliveira, pelo profissionalismo e enorme contribuição para a realização deste trabalho.

À minha esposa e fiel companheira, pela extrema paciência nesses dois anos marcados por ausências e dificuldades.

A meus pais e minhas irmãs, que sempre foram o norte da minha vida e sempre me fizeram pensar que as pessoas só recebem da vida o que nela investiram.

Aos meus colegas de mestrado, por terem assimilado de maneira tão grandiosa o trabalho em grupo e o compartilhamento dos conhecimentos aprendidos.

A todos os professores do mestrado em Implantodontia, que me ensinaram a ter uma visão crítica diferenciada, referente a um mestre.

Ao funcionário do Departamento de Ciências Biológicas, João Roberto de Freitas, que contribuiu para o sucesso deste trabalho ao prestar seus serviços técnicos referentes ao manuseio de animais.

Ao Prof. Roberval de Almeida Cruz, coordenador-geral do mestrado em Odontologia, pela atenção ao curso de Implantodontia.

Ao colega Breno Dias de Assis, *in memoriam*, que por toda competência e profissionalismo demonstrado, merece todo o mérito de ser intitulado mestre.

SUMÁRIO

Lista de artigos	7
Resumo	8
Introdução geral.....	9
Objetivos do estudo	11
Considerações gerais	12
Abstract	13
Referências.....	14
Anexo	15
Artigo I	16
Artigo II	26

LISTA DE ARTIGOS

Esta dissertação gerou as seguintes propostas de artigos:

- I. Efeitos adversos do *diabetes mellitus* no reparo ósseo periimplantar 16
- II. Efeitos da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido..... 26

O artigo I será publicado na Revista Arquivo Brasileiro de Odontologia e o artigo II no periódico The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants

RESUMO

O *diabetes mellitus* é uma doença crônica que apresenta várias complicações advindas do estado diabético e representa um dos principais problemas de saúde pública do mundo moderno. Este trabalho é apresentado em duas seções no formato de artigos científicos. O primeiro artigo consiste de uma revisão de literatura, que considera os aspectos relativos às complicações geradas pelo estado diabético e suas conseqüências no processo de remodelação óssea periimplantar. O segundo avalia os efeitos da administração da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido. Para tanto, uma amostra composta de trinta e seis ratos foi randomicamente dividida em seis grupos de seis animais: (G1) animais saudáveis sem administração de aminoguanidina, (G2) e (G3) animais saudáveis com administração diária de 10 mg/kg e 20 mg/kg peso de aminoguanidina, respectivamente, (G4) animais diabéticos sem administração de aminoguanidina, (G5) e (G6) animais diabéticos com administração diária de 10 mg/kg e 20 mg/kg peso de aminoguanidina, respectivamente. Um implante osseointegrável de titânio foi introduzido no fêmur dos animais, e após o procedimento cirúrgico foi iniciado o protocolo de aplicações de aminoguanidina. Vinte e oito dias após a cirurgia, os animais foram sacrificados, os implantes foram removidos, por meio da aplicação de contratorque, e a força máxima requerida para sua remoção foi registrada utilizando-se um torquímetro analógico. **Resultados:** Na ausência da administração de aminoguanidina, a média dos valores de força de contratorque para remoção dos implantes no grupo de animais saudáveis foi estatisticamente superior a média dos valores obtidos para o grupo de diabéticos. Entre os grupos de animais saudáveis não foi observada diferença estatisticamente significativa nas médias dos valores de contratorque para remoção dos implantes, independentemente das dosagens administradas de aminoguanidina. Entre os grupos de animais diabéticos observou-se que a administração de 20 mg/kg peso de aminoguanidina elevou os valores de força de contratorque ao nível dos valores encontrados para os grupos de animais saudáveis. **Conclusão:** A inibição de produtos avançados da glicosilação por meio da administração da aminoguanidina pode suprimir os prejuízos causados pelo diabetes no processo de reparo ósseo periimplantar.

Palavras-chave: Aminoguanidina. *Diabetes mellitus*. Osseointegração. Periimplante

INTRODUÇÃO GERAL

O *diabetes mellitus* é uma síndrome complexa de origem multifatorial, caracterizada por um distúrbio metabólico, em que a capacidade de metabolização de glicídios se encontra prejudicada. A insuficiência de insulina ocasiona a entrada diminuída de glicose sanguínea nos tecidos e a elevação da glicemia, que, em sua forma mais grave, é acompanhada de cetose e ou proteólise. Alterações no metabolismo das proteínas e dos lipídios também são identificadas. Uma elevação crônica na glicose sanguínea está associada ao desenvolvimento de doenças dos pequenos vasos (microangiopatia) e danos em vários órgãos, especialmente, olhos, rins, coração, nervos e vasos sanguíneos (PIMENTA, 1997).

A classificação e o diagnóstico do *diabetes mellitus* têm passado por alterações nos últimos anos. Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1999), a classificação do diabetes é baseada nos tipos etiológicos, e não nos tipos de tratamento. Os dois tipos mais comuns de diabetes são: tipo I, que indica o processo de destruição das células β , e o tipo II, caracterizada pela desordem da ação de insulina ou de sua secreção. Uma terceira categoria, menos comum, inclui o diabetes causado por um defeito precedente específico e identificável, como um defeito genético ou uma doença da porção exócrina do pâncreas. De acordo com a Associação Americana de Diabetes, valores de glicose plasmática entre 100 a 125 mg/dl são diagnosticados como pré-diabetes, e valores iguais ou maiores de 126 mg/dl são diagnosticados como diabetes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

A grande parte dos pacientes diabéticos pertence a uma das duas classes etiopatogênicas: *diabetes mellitus* tipo I e *diabetes mellitus* tipo II. No Brasil, assim como na maioria dos outros países, o *diabetes mellitus* tipo II é o estado hiperglicêmico mais comum dessas duas classes, constituindo cerca de 90% dos diabéticos. No *diabetes mellitus* tipo I, a predisposição genética múltipla é necessária, mas não suficiente para causar a doença. Fatores ambientais devem dar início ao processo auto-imune nas células β . O *diabetes mellitus* tipo II é uma doença ou uma síndrome freqüentemente associada a uma forte predisposição genética, geralmente mais intensa do que no diabetes tipo I. A manifestação do componente genético está sujeita a uma importante influência de fatores ambientais.

Assim, o risco de se desenvolver o diabetes tipo II aumenta com a idade, a obesidade e o sedentarismo (PIMENTA, 1997).

As taxas de *diabetes mellitus* estão aumentando em números alarmantes, particularmente o *diabetes mellitus* não-insulinodependente. Dados epidemiológicos de 1997 mostram que 124 milhões de pessoas em todo o mundo apresentavam diabetes, dos quais 97% tinham diabetes tipo II. Estimativas para o ano de 2010 apontam um número total de pessoas diabéticas de aproximadamente 221 milhões (AMOS; MCCARTY; ZIMMET, 1997; PEPPA; URIBARRI; VLASSARA, 2003).

A hiperglicemia é considerada a principal causa das complicações do diabetes. Seus efeitos deletérios são atribuídos, entre outros fatores, à constituição de um grupo heterogêneo de moléculas formado de uma reação não-enzimática de açúcar com grupos protéico, lipídico e ácido nucléico. Esse grupo heterogêneo é chamado de produtos das glicosilação avançada (AGEs). Além da produção endógena de AGEs, esses também podem ser introduzidos no corpo por fontes exógenas. O tabaco, por exemplo, é uma forma bem estabelecida de fonte exógena de AGEs, e estudos recentes têm mostrado que a dieta também é uma importante fonte de AGEs (PEPPA; URIBARRI; VLASSARA, 2003).

Os indivíduos diabéticos apresentam maior risco para infecções e complicações cardiovasculares do que os não-diabéticos. A perfusão tecidual e doenças microvasculares têm uma importante correlação com a cicatrização tecidual. Em diabéticos o processo de cicatrização dos tecidos duros e moles é prejudicado em consequência de mudanças microvasculares, da diminuição do metabolismo protéico e pela função deficiente dos neutrófilos (PELED *et al.*, 2003).

Os relatos de estudos que investigam os efeitos do estado diabético na cicatrização mostram prejuízos substanciais no mecanismo de reparo tecidual, provocados pelas alterações qualitativas e quantitativas dos componentes de regeneração tecidual. No entanto, são necessários maiores esclarecimentos relativos às consequências das alterações hiperglicêmicas na fisiologia dos tecidos periimplantares o que justifica novas linhas de investigações que buscam o melhor entendimento do processo cicatricial em indivíduos diabéticos.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Geral

- Avaliar os efeitos da administração da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido.

Específicos

Revisar o conhecimento sobre os efeitos adversos do *diabetes mellitus* no processo de remodelação óssea periimplantar.

Avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar de ratos saudáveis e diabético-induzidos.

Comparar o nível de osseointegração nos diferentes grupos de estudo a partir da mensuração da força de contratorque necessária para o rompimento da interface osso-implante.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

No presente estudo pode-se considerar que diversos autores investigaram os efeitos do *diabetes mellitus* no processo de reparo tecidual. A maioria dos estudos aponta prejuízos no processo de reparo tecidual e os relacionam a alterações no metabolismo de glicose e proteínas, acúmulo tecidual de moléculas glicosiladas e suas interações com células ósseas, colágeno e proteínas não-colágenas.

A indicação e o planejamento de reabilitações orais com a utilização de implantes osseointegráveis em indivíduos diabéticos vêm sendo discutidos e analisados em vários estudos. Entretanto, na atualidade observa-se que não há consenso na literatura sobre a previsibilidade de tratamentos com implantes dentários realizados em pacientes diabéticos nem protocolo definido para um aumento dessa previsibilidade.

Os resultados das pesquisas que abordam essa linha de investigação não fornecem dados consistentes que permitem estabelecer critérios cientificamente embasados para montar um protocolo de indicações cirúrgicas na implantodontia em pacientes diabéticos.

Por fim, observa-se que alguns estudos são conflitantes, portanto são necessárias novas pesquisas para uma melhor elucidação dos conhecimentos nessa área.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease which presents a number of complications stemming from a diabetic state and represents one of the main public health problems of the modern world. This work is presented in two sections in the form of scientific articles. The first article consists of a review of the literature which considers the aspects relative to complications generated by the diabetic state and their consequences in tissue repair and bone remodeling. The second article assesses the effects of the administration of aminoguanidine on peri-implant bone repair in rats with induced diabetes. For this, a sample comprised of 36 rats were randomly divided into six groups of six animals each: (G1) healthy animals without the administration of aminoguanidine, (G2) and (G3) healthy animals with a daily administration of 10mg/Kg and 20mg/Kg of aminoguanidine, respectively, (G4) diabetic animals without the administration of aminoguanidine, and (G5) and (G6) diabetic animals with a daily administration of 10 mg/Kg and 20 mg/Kg of aminoguanidine, respectively. A titanium osseointegrated implant was introduced into the femur of the animals. After the surgical procedure, the aminoguanidine application protocol was begun. Twenty eight days after the surgery, the animals were sacrificed, screws were removed by applying a counter torque, and the maximum force required for their removal was registered using an analogical torque meter. **Results:** Among the healthy groups (G1, G2, G3), no statistically significant difference could be observed in the average counter-torque values, regardless of the administration of aminoguanidine. However, in the diabetic groups, the effect of the administration of 20mg/kg of aminoguanidine (G6) presented a significant increase in the average counter-torque value ($p < 0.05$), as compared to effects on the diabetic group without the administration of aminoguanidine (G4), but presented no statistically significant difference from that of the healthy animal groups. **Conclusion:** It can be concluded that the inhibition of advanced glycosilation products by means of the administration of aminoguanidine can overcome the damages caused by diabetes in the peri-implant bone remodeling process.

Key words: Aminoguanidine. Diabetes *mellitus*. Osseointegration. Periimplant.

REFERÊNCIAS

1. AMOS, A. F.; MCCARTY, D. J.; ZIMMET, P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to 2010. **Diabet Med** **14** (Suppl 5), p.S1-S85, 1997.

PELED, M. et al. Dental implants in patients with type 2 diabetes mellitus: a clinical study. **Implant Dentistry**, Haifa, Israel, v.12, n.2, p.116-122, 2003.
2. PEPPA, M.; URIBARRI, J.; VLASSARA, H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works, **Clinical diabetes**, v.21, n. 4, p.186-187, 2003.
3. PIMENTA, W. P. **Diabetes Mellitus**. Faculdade de Medicina de Botucatu: UNESP, p.1-23, 1997.
4. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications**. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization, 1999.

ANEXO**CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 115/2008, relativo ao projeto intitulado Efeito da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzida, que tem como responsável(is) Alcione Maria Soares Dutra de Oliveira, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, tendo sido aprovado na reunião de 27/08/2008.

Este certificado expira-se em **27/08/2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº115/2008, related to the project entitled The effect of aminoguanidine on periimplant bone repair in rats with induced diabetes, under the supervisors of Alcione Maria Soares Dutra de Oliveira, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, and was approved in August 27, 2008.

This certificate expires in **August 27, 2013**.

Belo Horizonte, 02 de setembro de 2008.

Prof. Humberto Pereira Oliveira

Coordenador do CETEA / UFMG

Artigo I

EFEITOS ADVERSOS DO *DIABETES MELLITUS* NO REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR

Rodrigo Porto Guimarães
Peterson Antônio Dutra de Oliveira
Alcione Maria Soares Dutra Oliveira

Resumo

Alterações no processo de reparação tecidual representam um dos efeitos prejudiciais do diabetes *mellitus* de maior interesse na área da implantodontia. Diversas evidências científicas demonstram que o estado hiperglicêmico é considerado a principal causa de complicações sistêmicas e locais advindas dessa condição. O objetivo da presente revisão foi revisar o conhecimento sobre os efeitos adversos do diabetes *mellitus* no processo de reparo ósseo perimplantar. A pesquisa da literatura pertinente ao tema foi realizada a partir de consulta à base de dados MEDLINE. A busca foi limitada a estudos na língua inglesa. Foram selecionados estudos experimentais e clínicos, bem como revisões literárias. Diversos estudos demonstraram efeitos prejudiciais do diabetes no processo de osseointegração, em decorrência de alterações nas diversas etapas da cicatrização na interface osso-implante. No entanto, na atualidade, ainda não existe um protocolo que leve em consideração o estabelecimento de critérios objetivos para indicação de tratamento com implantes osseointegráveis em indivíduos diabéticos. Os dados de estudos que abordam essa linha de investigação são conflitantes, e novas pesquisas devem ser desenvolvidas em busca de melhor entendimento do processo cicatricial perimplantar em diabéticos.

Palavras-chave: Diabetes *mellitus*. Osseointegração. Periimplant.

INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* é uma síndrome complexa de origem multifatorial, caracterizada por um distúrbio metabólico, em que a capacidade de metabolização de glicídios fica prejudicada, levando ao quadro de hiperglicemia. A insulina é um hormônio peptídeo que promove a utilização de glicose, a síntese de proteínas e a formação e o armazenamento de lipídios neutros. A insuficiência de insulina diminui a entrada de glicose sanguínea nos tecidos, eleva a glicemia e provoca alterações no metabolismo das proteínas e dos lipídios.^(1,2)

Os dois tipos mais comuns de diabetes são: tipo I, que indica o processo de destruição das células β , e tipo II, caracterizada pela desordem da ação de insulina, de sua secreção ou ambas. Uma terceira categoria, menos comum, inclui o diabetes causado por um defeito precedente específico e identificável como um defeito genético. Valores de glicose plasmática entre 100 a 125 mg/dl são diagnosticados como pré-diabetes, e níveis iguais ou maiores de 126 mg/dl são definidos como diabetes.⁽²⁾

As taxas de prevalência de *diabetes mellitus* estão aumentando em números alarmantes, particularmente o diabetes tipo II. Estimativa para o ano de 2010 apontam um número total de pessoas diabéticas de aproximadamente 221 milhões.^(3,4) No Brasil o *diabetes mellitus* tem grande impacto na saúde pública, e a sua prevalência na população urbana entre 30 a 69 anos é de 7,6 %, comparável à de vários países.⁽¹⁾

A hiperglicemia é considerada a principal causa das complicações do diabetes. Seus efeitos deletérios são atribuídos, entre outros fatores, à constituição de um grupo heterogêneo de moléculas formado de uma reação não-enzimática de açúcar com grupos protéico, lipídico e ácido nucléico. Esse grupo heterogêneo é chamado de produtos da glicosilação avançada (AGEs). Além da produção endógena de AGEs, esses também podem ser introduzidos no corpo por fontes exógenas.⁽⁴⁾

Os conceitos biológicos dos efeitos do diabetes na osseointegração são relacionados à interação de AGEs com a formação de células ósseas e proteínas. A presença de AGEs pode produzir um ambiente desfavorável para a

osseointegração. ⁽⁵⁾ Alteração no processo de reparo tecidual representa uma das complicações do *diabetes mellitus* que vem sendo vastamente estudada na área da implantodontia. Entretanto, fatores associados à hiperglicemia, ação da insulina ou à formação dos AGEs precisam ser mais criteriosamente estudados. ^(6, 7)

Este trabalho tem como objetivo revisar o conhecimento sobre os efeitos do *diabetes mellitus* no processo de reparo ósseo periimplantar.

MÉTODOS DA REVISÃO

A pesquisa da literatura foi conduzida a partir de consultas à base de dados MEDLINE. A utilização dos operadores booleanos (AND, OR e AND NOT) foi fundamental para a recuperação da informação desejada e tornou a pesquisa mais complexa. A estratégia de pesquisa incluiu uma série de termos específicos (*diabetes mellitus AND dental implants OR osseointegration; dental implants AND diabetes complications OR perimplant*). Um total de 209 trabalhos foi identificado após a busca eletrônica na base de dados, em literatura médica e odontológica internacional, dos quais 50 foram pré-selecionados pelo título. Além da base de dados MEDLINE, a lista de referências bibliográficas dos artigos pré-selecionados foi consultada. Foram considerados elegíveis os estudos experimentais, clínicos e as revisões literárias publicadas em língua inglesa no período de 1994 a outubro de 2008, totalizando 26 investigações. Inicialmente foi feita uma análise dos resumos dos artigos que preenchiam os critérios de inclusão por um único revisor, e os textos completos dos resumos pré-selecionados foram obtidos, analisados e incluídos nesta revisão.

REVISÃO DE LITERATURA

Estudos clínicos prospectivos demonstram associação significativa entre hiperglicemia e complicações microvasculares em diabéticos. A perfusão tecidual e as doenças microvasculares têm uma importante função na cicatrização tecidual. O processo de cicatrização dos tecidos duros e moles é igualmente prejudicado em indivíduos diabéticos por causa da diminuição do metabolismo protéico.^(8, 9, 10)

O envolvimento dos AGEs no desenvolvimento de doenças ósseas em diabéticos é bem estabelecido. Esses produtos provocam distúrbios na adesão, no crescimento e no acúmulo de matriz celular; além disso, podem alterar o DNA e as proteínas nucleares⁽⁵⁾. O colágeno modificado por AGEs afeta a diferenciação de células osteoblásticas. Outro fator importante que pode afetar a osseointegração e o metabolismo ósseo é a menor atividade de somatomedina. A somatomedina possui um efeito similar ao da insulina na síntese de colágeno ósseo, porém estimula a proliferação de osteoblastos, ao contrário da insulina.⁽⁷⁾ Vasan *et al.*⁽¹¹⁾ relataram que as estratégias de tratamento das complicações resultantes do estado de diabetes incluem a inibição da formação de AGEs. Os receptores de AGEs foram identificados em macrófagos, células endoteliais e vários outros tipos celulares, e são implicados no *turn-over* protéico, na remodelação tecidual e na inflamação.^(12,13)

Kopman *et al.*⁽¹⁴⁾ verificaram que o número e a função dos osteoblastos são gravemente suprimidos em ratos diabéticos, resultando na diminuição de osteóide, bem como na taxa de aposição mineral e nos níveis de osteocalcina plasmática. Comentam também que a formação e o acúmulo de AGEs gerados pelas altas concentrações de glicose no sangue resultam em alterações na solubilidade colágena, causando alterações nas propriedades estruturais e funcionais dos tecidos conjuntivos.

Segundo Fiorellini *et al.*⁽⁵⁾, o sucesso dos implantes dentários depende do contato direto do implante com o osso, o que se obtém pelo mecanismo de reparo ósseo e pela manutenção a longo prazo da osseointegração, que é dependente da remodelação óssea fisiológica. Os autores salientam que diversos estudos clínicos relatam que o estado diabético é responsável por alterações no metabolismo ósseo

e mineral, diminuindo a taxa de formação óssea e alterando a remodelação no processo de osseointegração.

Avaliando 187 implantes em 89 pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2, Shernoff *et al.* ⁽¹⁵⁾ encontraram uma taxa de falhas de 2.2% a curto prazo e aumento expressivo das perdas para 7.3% após 1 ano. Os autores discutem esses resultados ressaltando que as falhas se relacionam à presença da condição diabetes ou à reabilitação protética imprópria sobre os implantes.

Em estudo experimental, Katayama *et al.* ⁽¹⁶⁾ avaliaram o efeito do aumento da concentração de AGEs no colágeno ósseo em ratos diabético-induzidos e pesquisaram alterações na função das células osteoblásticas causadas pela glicosilação do colágeno tipo I. Observou-se que o aumento dos níveis de colágeno glicosilado no grupo diabético induzido foi mais significativo do que no grupo controle. Além disso, constatou-se que as células osteoblásticas cultivadas em colágeno tipo I modificado por AGEs tinham suas expressões fenotípicas inibidas de forma dose-dependente. A atividade de fosfatase alcalina e a secreção de osteocalcina foram inibidas pela glicosilação do colágeno tipo I. Esses resultados indicam que a modificação do colágeno tipo I por AGEs afeta a diferenciação dos osteoblastos.

Há evidências de redução da biossíntese de óxido nítrico (NO) nos indivíduos portadores de *diabetes mellitus*. ⁽¹⁾ O NO é uma importante molécula sinalizadora presente no osso, produzida mediante vários estímulos, como citocinas inflamatórias, estresse mecânico e hormônio sexual. ⁽¹⁷⁾ Esse óxido media a função das células ósseas e a remodelação do osso. ^(17,18) De acordo com Lee *et al.* ⁽¹⁹⁾, a inibição de NO endotelial prejudica a cicatrização tecidual e a angiogênese. Estudo experimental em ratos demonstrou que a produção da enzima óxido nítrico sintase (NOS) é induzida durante a fase inicial de cicatrização tecidual e que a inibição sistêmica dessa enzima pelo L-NAME, inibidor de NOS, reduz a magnitude da resposta cicatricial. ⁽²⁰⁾

Ralston ⁽¹⁷⁾ relatou que o NO exerce um efeito bifásico na atividade de células ósseas. Altas concentrações de NO inibem a reabsorção óssea pela supressão da diferenciação de novos osteoclastos e pela diminuição da função de reabsorção por osteoclastos maduros. Baixas concentrações de NO potencializam a reabsorção óssea por indução de citocinas e parecem ser essenciais para a função normal de

osteoclastos. Similarmente, o crescimento e a diferenciação de osteoblastos são inibidos por altas concentrações de NO, enquanto baixas concentrações de produção de NO por enzimas óxido nítrico sintase constitutiva (NOSc) regulam o crescimento e a função normal dos osteoblastos.

Fiorellini *et al.* ⁽⁵⁾, em um estudo retrospectivo, avaliaram 215 implantes inseridos em 40 indivíduos diabéticos controlados. A taxa de sucesso dos implantes foi de 85,6%, e as falhas ocorreram durante o primeiro ano após a colocação da prótese. Os autores realçaram que o metabolismo ósseo apresenta-se alterado de diferentes formas nos indivíduos diabéticos, citando a ocorrência de diminuição na taxa de formação óssea, na quantidade do contato osso-implante e alterações nos processos de remodelação. A análise dos resultados mostrou uma taxa de sobrevida menor de implantes dentários em pacientes diabéticos do que os índices descritos na literatura para a população geral.

Abdulwassie e Dhanrajani⁽²¹⁾ acompanharam durante três anos 25 pacientes diabéticos bem controlados. A taxa de sucesso dos implantes foi de 95,7%, e as falhas ocorreram durante a fase de cicatrização. Os dados do estudo indicam que resultados aceitáveis podem ser alcançados em pacientes diabéticos controlados.

Siqueira *et al.* ⁽²²⁾, em um estudo experimental, analisaram a superfície de contato osso-implante em grupos de ratos diabéticos, diabéticos tratados com insulina e controle saudáveis, 21 dias após a cirurgia de inserção dos implantes. Os resultados demonstraram que as características ultra-estruturais da interface osso-implante, observadas em animais diabéticos sob influência de insulina, assemelham-se àquelas do processo de osseointegração normal. Esses resultados sugerem que a reparação óssea ao redor de implantes endósseos é regulada pela insulina, evidenciando que o controle do *status* metabólico de diabéticos é essencial para o sucesso da osseointegração.

Margonar *et al.* ⁽²³⁾, em estudo experimental, observaram a influência do *diabetes mellitus* e da insulino-terapia na retenção biomecânica de implantes dentários em tibia de coelhos. Nos grupos controle saudáveis, diabético-induzido e diabético-induzido tratado com insulina foi avaliada a força de contratorque necessária para a remoção dos implantes. Os autores constataram que, apesar do efetivo controle glicêmico realizado pelo tratamento de insulina, os valores de torque reverso para a remoção dos implantes foram mais baixos no grupo de diabéticos tratados com insulina do que naqueles do grupo controle saudáveis.

Otoni e Chopard⁽²⁴⁾ propuseram-se a quantificar a neoformação óssea nas regiões periosteal, cortical e medular ao redor de implantes temporários inseridos em fêmures de ratos Wistar diabético-induzidos. Nesse estudo, 10 ratos foram divididos em dois grupos: controle e diabético-induzido. A neoformação óssea nas regiões periosteal e cortical junto ao implante não demonstrou diferenças significativas entre os grupos. Além disso, uma trabeculagem óssea bem definida foi observada nas amostras do grupo controle, mas o mesmo não foi observado no grupo diabético.

Know *et al.*⁽⁷⁾ avaliaram a manutenção da osseointegração em um modelo animal com diabetes induzido pós-implantação. Os autores relataram diferenças entre os grupos diabéticos com administração de insulina e aqueles sem complementação em relação ao contato osso-implante (COI) nos períodos de um, dois, três e quatro meses. Concluíram que nos ratos diabéticos com suplementação de insulina, a manutenção do COI pode ser mantida; entretanto, pode decrescer com o tempo nos ratos diabéticos sem controle glicêmico.

Kotsovilis *et al.*⁽⁶⁾, em uma revisão sobre implantes inseridos em animais e pacientes diabéticos, concluíram que a maioria dos estudos experimentais mostram uma resposta de cicatrização óssea periimplantar prejudicada em animais diabéticos em comparação com grupos controle de forma quantitativa e qualitativamente. Por outro lado, segundo Nevis *et al.*⁽²⁵⁾ nenhuma falha de implante ou complicações por infecção foi atribuída ao diabetes, e isso significa que a osseointegração pode ser estabelecida, apesar de um prejuízo na cicatrização óssea.

Mccracken *et al.*⁽²⁶⁾ conduziram um estudo para mensurar o reparo ósseo ao redor de implantes em ratos diabéticos não-controlados e insulinocontrolados. Nesse estudo, 152 ratos foram divididos em três grupos: controle, diabético e diabético insulinocontrolado. Após a análise histológica observou-se não haver diferença estatística na formação de osso adjacente ao implante entre o grupo controle e o grupo diabético insulinocontrolado.

CONCLUSÃO

A maioria dos estudos revistos aponta que o estado diabético não controlado influencia negativamente o reparo ósseo periimplantar, contudo não consideram o diabetes uma contra-indicação absoluta para a terapia de implantes osseointegrados. Reconhece-se ser necessário, em estudos futuros, o estabelecimento de critérios objetivos, tais como tipo de diabetes, tempo de duração da doença, níveis de hemoglobina glicosilada, controle da formação de AGEs, entre outros, para uma indicação precisa da terapia com implantes em pacientes portadores de diabetes.

REFERÊNCIAS

1. Pimenta WP. Diabetes mellitus. Faculdade de Medicina de Botucatu: UNESP, p. 1-23, 2007.
 2. World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of diabetes *mellitus* and its Complications. Report of a WHO Consultation. Geneva: World Health Organization, 1999.
 3. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to 2010. *Diabet Med* 14 (Suppl 5): S1-S85, 1997.
 4. Peppia M, Uribarri J, Vlassara H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works, *Clinical diabetes*. 2003; 21(4):186-7.
- Fiorellini JP et al. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. *The international journal of periodontics & restorative dentistry*. 2000b; 20(4):367-73.
5. Kotsovilis S. et al. A comprehensive and critical review of dental implant placement in diabetic animals and patients. *Clin Oral Impl Res*. 2006; 17: 587-99.
- Kwon PT et al. Maintenance of osseointegration utilizing insulin therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol*. 2005 Apr; 76(4):621-62.
6. Fiorellini JP, Nevins ML. Dental implant considerations in the diabetic patient. *Periodontology*. 2000a; 23:73-7.

7. Jakuš V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol. Res.* 2004; 53: 131-42.

Peled M et al. Dental implants in patients with type 2 diabetes mellitus: a clinical study. *Implant Dentistry.* 2003; 12(2):116-22.

8. Vasan S et al. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product–protein crosslinks. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2003; 419:89–96.
9. Schmidt AM et al. The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1498: 99-111.
10. Vlassara H. The AGE receptor in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001; 17:436-43.

Kopman JA et al. Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. *J Periodontol.* 2005 Apr; 76(4):614-20.

Shernoff AF, Cowell JA, Bingham SF. Implants for type II diabetic patients: interim report. VA Implants in Diabetes Study Group. *Implant Dent.* 1994; 3:183-5.

11. Katayama Y et al. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. *J Bone Miner Res.* 1996; 11:931-7.
12. Ralston SH. Nitric oxide and bone: What a gas. *Br J Rheumatol* 1997; 36:831-8.
13. Chae HJ et al. Nitric oxide is a regulator of bone remodelling. *J Pharm Pharmacol.* 1997; 49:897–902.
14. Lee PC et al. Impaired wound healing and angiogenesis in e NOS deficient mice. *Am J Physiol.* 1999; 277:H1600-H8.
15. Murrell GAC et al. Modulation of tendon healing by nitric oxide. *Inflamm Res.* 1997; 46:19-27.

Abdulwassie H, Dhanrajani PJ. Diabetes *mellitus* and dental implants: a clinical study. *Implant Dentistry.* 2002; 11(1):83-85.

Siqueira JT et al. Bone formation around titanium implants in the rat tibia: role of insulin. *Implant Dentistry.* 2003; 12(3):242-9.

Margonar R. et al. The influence of diabetes *mellitus* and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dentistry*. 2003; 12(4):333-9.

Otoni CE, Chopard RP. Histomorphometric evaluation of new bone formation in diabetic rats submitted to insertion of temporary implants. *Braz Dent J*. 2004; 15(2):87-92.

16. Nevis ML et al. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes, *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998; 13:620-9.

McCraken MS et al. Bone associated with implants in diabetic and insulin-treated rats. *Clin Oral Impl Res*. 2006; 17:494-500.

ARTIGO II

EFEITOS DA AMINOQUANIDINA NO REPARO ÓSSEO PERIIMPLANTAR EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO**Effects of aminoguanidine on periimplant bone repair in rats with induced diabetes**

Rodrigo Porto Guimarães
Peterson Antônio Dutra de Oliveira
Alcione Maria Soares Dutra Oliveira

Resumo

Objetivos: Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da administração de aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar em ratos com diabetes induzido. **Materiais e métodos:** Trinta e seis ratos foram randomicamente divididos em seis grupos: (G1) animais saudáveis sem administração de aminoguanidina, (G2) e (G3) animais saudáveis com administração diária de 10 mg/kg e 20 mg/kg peso de aminoguanidina, respectivamente; (G4) animais diabéticos sem administração de aminoguanidina, (G5) e (G6) animais diabéticos com administração diária de 10 mg/kg e 20 mg/kg peso de aminoguanidina, respectivamente. Os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para a inserção de um implante no fêmur e após 28 dias de cicatrização foram sacrificados. Após o sacrifício os implantes foram removidos por meio da aplicação de contratorque, e a força máxima requerida para sua remoção foi registrada com um torquímetro analógico. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste *t - student*. **Resultados:** Nos grupos saudáveis não foi observada diferença estatisticamente significativa nos valores de contratorque médio para remoção do implante. Já nos grupos diabéticos, a

administração de 20 mg/kg peso de aminoguanidina elevou os valores de contratorque médio dos animais do grupo G6 ao nível dos grupos de animais saudáveis. **Conclusão:** A administração de 20 mg/kg peso de aminoguanidina em animais diabéticos apresentou efeito benéfico na cicatrização periimplantar comparando-se estatisticamente a animais saudáveis.

Palavras-chave: Aminoguanidina. *Diabetes mellitus*. Osseointegração.

INTRODUÇÃO

Os efeitos deletérios da hiperglicemia são atribuídos, entre outros fatores, à constituição de um grupo heterogêneo de moléculas chamado de produto da glicosilação avançada (AGEs). Os conceitos biológicos que explicam os efeitos do diabetes na osseointegração são relacionados à interação de AGEs com a formação de células ósseas e de proteínas, podendo produzir um ambiente desfavorável para a osseointegração.⁽¹⁾ ⁽²⁾ Os aspectos biológicos comprometidos pela formação de AGEs precisam ser criteriosamente estudados na implantodontia.^(3,4) O diabetes *mellitus* tem sido considerado como contra-indicação para o uso de implantes dentários ⁽¹⁾, muito embora estudos longitudinais realizados em humanos tenham demonstrado que a taxa de sobrevida dos implantes inseridos em diabéticos controlados é similar à dos indivíduos não-diabéticos.^(5, 6, 7)

A fim de amenizar ou mesmo suprimir os efeitos danosos do acúmulo de AGEs nos tecidos, diversas substâncias têm sido testadas com resultados promissores. A aminoguanidina tem demonstrado capacidade para inibir a formação de AGEs do colágeno e membrana basal *in vivo* e *in vitro*, suprimindo o desenvolvimento da retinopatia diabética experimental⁽⁸⁾ e prevenindo outras complicações sistêmicas da hiperglicemia como patologia cardiovascular, renal e do metabolismo ósseo.⁽³⁾

Os relatos de estudos que investigam os efeitos do estado diabético na cicatrização tecidual mostram prejuízos substanciais no mecanismo de reparo de tecidos duros e de tecidos moles provocados pelas alterações qualitativas e quantitativas dos componentes de regeneração tecidual. Entretanto, é preciso

buscar mais esclarecimentos sobre as conseqüências das alterações hiperglicêmicas na fisiologia dos tecidos periimplantares de indivíduos diabéticos. A projeção do exponencial incremento da prevalência do número de indivíduos diabéticos no mundo^(9,10) e o aumento da expectativa de vida da população justificam novas linhas de investigações na busca de um melhor conhecimento do processo cicatricial periimplantar em diabéticos. Este estudo avaliou os efeitos da administração da aminoguanidina no reparo ósseo periimplantar de ratos com diabetes induzido.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Este experimento utilizou 36 ratos Wistar machos com idade média de cinco meses, alojados sob um ciclo de doze horas, luz/escuridão, com acesso à alimentação e água à vontade, durante o período de observação. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os animais foram aleatoriamente divididos em seis grupos: Grupo 1 - Animais saudáveis sem administração de aminoguanidina. Grupo 2 - Animais saudáveis com administração diária de 10 mg/kg de aminoguanidina. Grupo 3 - Animais saudáveis com administração diária de 20 mg/kg de aminoguanidina. Grupo 4 - Animais diabéticos sem administração de aminoguanidina. Grupo 5 - Animais diabéticos com administração diária de 10 mg/kg de aminoguanidina. Grupo 6 - Animais diabéticos com administração diária de 20 mg/kg de aminoguanidina.

Indução de *diabetes mellitus*

O *diabetes mellitus* foi induzido nos grupos 4, 5 e 6 a partir de uma injeção intraperitoneal (i.p) de Alloxan monohidratado¹ dissolvido em solução fisiológica salina na concentração de 1 g/50 ml e aplicada seguindo a dosagem de 84 mg/kg peso. O volume aplicado variou de acordo com o peso de cada animal. Os grupos 1, 2 e 3 receberam apenas 1 ml de solução salina fisiológica através de injeção intraperitoneal.⁽¹¹⁾

¹ Sigma Chemical Co.®, St. Louis, MO

Avaliação dos níveis glicêmicos

Os níveis de glicose sanguínea foram avaliados a partir de amostras de sangue coletado da artéria caudal dos animais.^(12,13) Foi coletada uma gota de sangue em uma fita receptora², que foi imediatamente acoplada ao leitor digital de glicose (glicosímetro)³. A glicemia foi avaliada no dia da aplicação do agente indutor, 10 dias após a indução, no momento da cirurgia (14 dias pós-indução) e no dia do sacrifício dos animais (28 dias após a inserção dos implantes). Níveis de glicose sanguínea maiores do que 250 mg/dl foram considerados como indicadores da presença do estado diabético.

Técnica cirúrgica

Os animais foram anestesiados por meio de uma injeção intramuscular com uma solução de 1 ml de Cloridrato de ketamina⁴ (50 mg) misturado a 1 ml de Xilazina⁵ (200mg) na proporção de 0,2 ml/100g peso.⁽¹³⁾

Após os procedimentos de antissepsia uma incisão no sentido horizontal com lâmina de bisturi número 15 foi realizada na porção ântero-medial do fêmur, e os músculos afastados por dissecação roma. Um leito receptor foi preparado utilizando-se uma broca⁶ de 1,3 mm de diâmetro acoplada a um contra-ângulo⁷ específico sob irrigação constante e abundante com solução fisiológica. A broca foi posicionada perpendicularmente ao eixo longitudinal do osso, e a perfuração cortical realizada em baixa rotação (800 rpm) sem atingir a cortical oposta. Um parafuso auto-roscante de titânio grau IV⁸, com 4 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro foi inserido com uma chave manual⁹ e considerado adequado quando apresentou estabilidade. A sutura foi realizada com fio de seda 4.0¹⁰, com pontos simples

² Blood Glucose Test Strip (Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.)

³ Optium X-ceed (Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.)

⁴ Vetanarcol® (Laboratório König S.A, Avellaneda, Argentina).

⁵ Dopaser® (Laboratório Calier S.A, Barcelona, Espanha).

^{6,12,13} NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil.

⁷ W&H® Dentalwerk Bürmoos GmbH, Burmoos, Áustria.

⁸ NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil

⁹ NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil.

¹⁰ Biosut Ltda.®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

isolados. Uma dose única de benzilpenicilina na concentração de 0,06 ml/kg foi administrada por via intramuscular.⁽¹³⁾

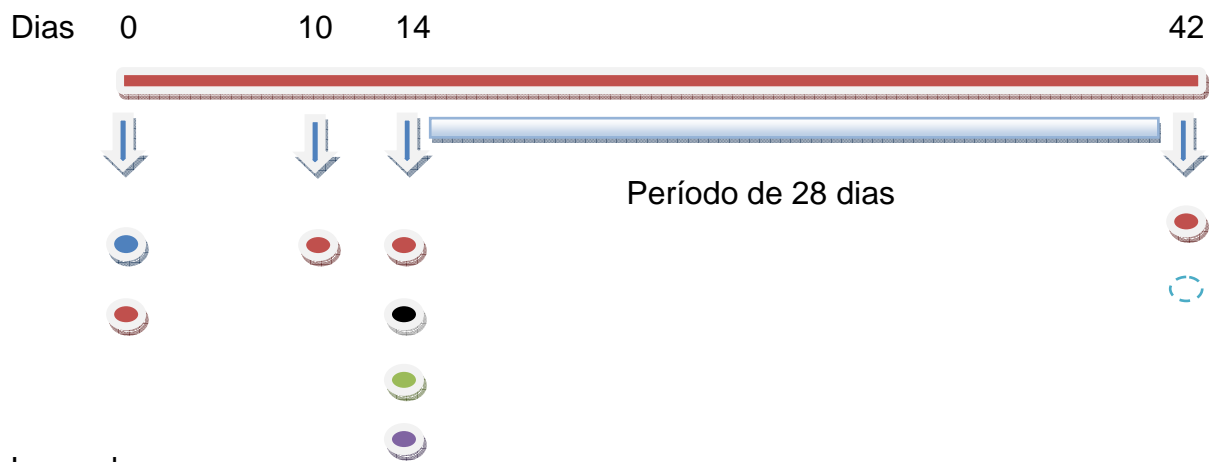
Após o procedimento cirúrgico os animais receberam o analgésico, Paracetamol (10 mg/kg peso) de 8 em 8 horas, em gotas diluídas em água potável e administradas por via oral durante dois dias.⁽¹³⁾ Todos os animais foram pesados semanalmente durante todas as etapas do experimento, para adequação das doses dos medicamentos.

Aplicação de aminoguanidina

Os grupos 2, 3, 5 e 6 receberam administração intraperitoneal diária de bicarbonato de aminoguanidina cristalina¹¹ durante 28 dias. Nos grupos 2 e 5 foram administradas no dia da inserção dos implantes dosagens de 10 mg/kg peso de aminoguanidina e nos grupos 3 e 6 dosagens de 20 mg/kg peso de aminoguanidina. Nas diferentes diluições, as soluções foram preparadas diariamente antes das aplicações. Os grupos 1 e 4 receberam administração intraperitoneal diária de solução fisiológica durante 28 dias.

¹¹ Aminoguanidine Bicarbonate salt (Sigma Chemical Co.®, St. Louis, MO)

Escala temporal dos experimentos



Legenda:

- - Aplicação de 1 ml de solução salina fisiológica nos grupos 1, 2 e 3
- Indução do *diabetes mellitus* nos grupos 4, 5, 6
- - Teste glicêmico
- - Cirurgia para Inserção dos implantes
- - Início da administração diária de aminoguanidina nos grupos 2, 3, 5, 6
- Início da administração diária de solução salina fisiológica nos grupos 1 e 4
- - Administração de benzilpenicilina
- - Sacrifício

Figura 1: Escala temporal dos experimentos

Força de torque para remoção dos implantes

Os animais foram sacrificados 28 dias após a implantação, com uma overdose de clorohidrato de Ketamina (300 mg/kg), e os fêmures removidos cirurgicamente e limpos.⁽¹³⁾ Logo a seguir estes foram colocados em um torno tipo morsa de bancada, para garantir estabilidade e o correto alinhamento em relação ao torquímetro.¹² Um modelo de chave¹³ padronizado com encaixe apropriado para o parafuso foi adaptado a um torquímetro, que registrou a força de torque máxima

¹² Modelo 1200ATG-N-S (Tohnich, Tokyo, Japan).

¹³ NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil.

exigida para a ruptura da interface osso-implante, e os valores foram anotados para análise.⁽¹⁴⁾

Análise estatística

Para o estudo da variável resposta, força de contratorque, foi realizada a análise de variância e a comparação das médias, utilizando-se o teste de t - *student*. Os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$). Os dados foram apresentados de forma descritiva por meio de médias, desvios-padrão e gráfico. Todos os testes foram realizados no *software* SAS 6.4 (Sistema de Análises Estatísticas).⁽¹⁵⁾

RESULTADOS

A Tabela. 1 apresenta os resultados relativos à análise de variância. Pode-se observar que houve diferença estatística entre as condições de saúde ($p = 0.0168$) e as doses de aminoguanidina ($p = 0.0075$) mostrando uma interação não-significativa entre as condições pelo teste F ($p = 0.3496$).

Tabela 1. Análise de variância dos valores de contratorque de ratos saudáveis e diabéticos submetidos a doses de aminoguanidina

FV	Fc	P Valor
Condição de saúde (CS)	6.383	0.0168*
Aminoguanidina (A)	5.754	0.0075**
CS*A	1.087	0.3496
Erro	-	-

Total	-	-
-------	---	---

*Significativo a 5% pelo teste F ($P < 0.05$) CV = 30.32%
 * * Significativo a 1% pelo teste F ($P < 0.05$)

A Tabela 2 e o Gráfico 1 demonstram a presença de interação que não foi identificada pelo teste F na análise de variância. Essa interação pode ser observada pelos diferentes comportamentos dos níveis de aminoguanidina em relação à condição de saúde. Na ausência da administração de aminoguanidina, a média dos valores de contratorque obtida no grupo de animais saudáveis foi estatisticamente superior à média obtida para o grupo de diabéticos ($p < 0,05$). Nos grupos de animais saudáveis nota-se que não houve diferença significativa entre as médias dos valores de contratorque ($p > 0,05$). Nos grupos de animais diabéticos observa-se que a administração de 20 mg/kg peso de aminoguanidina elevou a média dos valores da força de contratorque ao nível das médias obtidas para os grupos de animais saudáveis ($p > 0,05$).

Tabela 2. Valores de contratorque médios com os respectivos erros padrão de acordo com a condição de saúde e as doses de aminoguanidina

Aminoguanidina/saúde*	Saudáveis	Diabéticos
G1,G4 (0)	2.24 (± 0.5769) ^{aA}	1.18 (± 0.1483) ^{bB}
G2,G5 (10)	2.22 (± 0.8280) ^{aA}	1.88 (± 0.5019) ^{aAB}
G3,G6 (20)	2.77 (± 0.7280) ^{aA}	2.54 (± 0.6580) ^{aA}

*Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem significativamente pelo teste de t ($P < 0.05$)

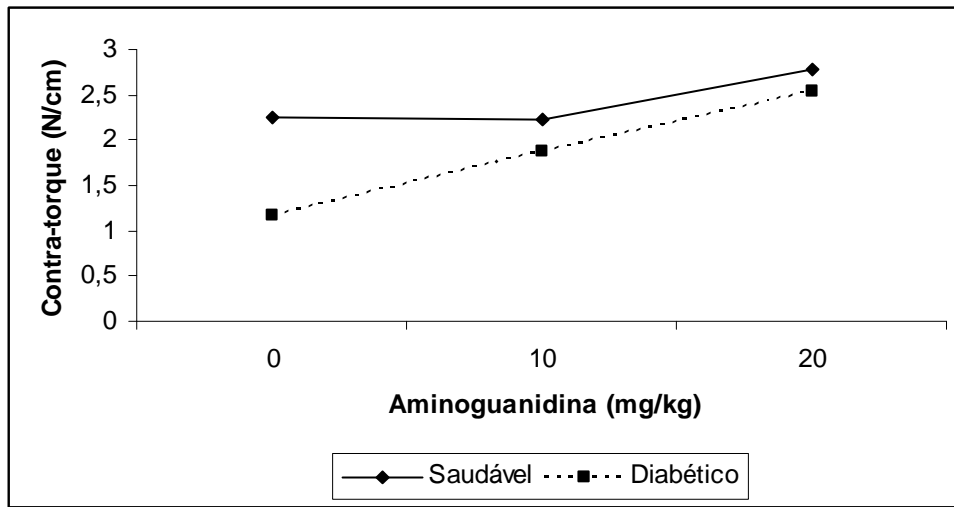


Gráfico 1 - Variação dos valores médios de contratorque segundo os níveis de aminoguanidina e condição de saúde dos animais.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a capacidade da aminoguanidina em prevenir os efeitos dos AGEs no reparo ósseo periimplantar de ratos com diabetes induzida, por aloxano, a partir do teste mecânico de contratorque. Pode-se demonstrar que a administração diária de 20 mg/kg peso de aminoguanidina no grupo de animais diabéticos induzidos resultou em forças médias de contratorque estatisticamente comparáveis aos grupos de animais saudáveis, demonstrando que nessa concentração a aminoguanidina é capaz de prevenir os efeitos negativos do diabetes no reparo ósseo periimplantar. Já, nos grupos de animais saudáveis a aminoguanidina não demonstrou, independentemente das variações de dosagens, nenhuma alteração na cicatrização óssea pós-implantação.

Nossos achados corroboram os resultados do estudo de Margonar et al.⁽¹⁴⁾, que utilizou o teste biomecânico para avaliação da influência do diabetes no reparo tecidual e mostrou valores de torque reverso estatisticamente menores para remoção dos implantes em animais diabéticos com reposição de insulina quando comparado ao grupo controle não diabético. Os resultados da presente investigação estão de acordo com as respostas obtidas nos experimentos que utilizaram ratos com diabetes induzido por streptozotocina ou aloxano, demonstrando um nível de contato osso implante estatisticamente menor em animais diabéticos em comparação com os controles saudáveis por meio de análise histomorfométrica.⁽⁴⁾

Estudos associam as complicações advindas do estado diabético à formação e acúmulo dos AGEs nos tecidos. Hammes et al.,⁽¹⁶⁾ Beisswenger et al.⁽¹⁷⁾ e Vlassara et al.⁽¹⁸⁾ Alterações na função da insulina podem gerar modificações na síntese de matriz osteoblástica na alteração de estímulo à produção de fator de crescimento semelhante à insulina^(19,20). Várias investigações relacionam a interação dos AGEs nas diversas etapas do processo de osseointegração desde distúrbios na adesão e crescimento celular, deposição da matriz óssea, alteração do DNA e de proteínas nucleares, podendo produzir um ambiente desfavorável para a osseointegração^(21,22,23,24,25) Os resultados do presente estudo sugerem que a presença de AGEs nos tecidos periimplantares afetou negativamente o reparo ósseo periimplantar nos animais diabéticos. Esse fato se deve a menor força de contratorque necessária para o rompimento da interface osso implante nos animais

diabéticos, sem administração de aminoguanidina, em comparação com os controles saudáveis.

Teixeira e Andrade⁽⁸⁾ utilizaram a aminoguanidina com o objetivo de minimizar os prejuízos causados pelo aumento de glicose no processo de angiogênese enquanto Hammes et al.⁽¹⁶⁾ empregaram esta medicação na prevenção da retinopatia diabética. Esses estudos mostraram que a aminoguanidina apresentou propriedades de inibição da ação prejudicial dos AGEs.

Os resultados do presente estudo estão em conformidade com aqueles relatados por Kopman et al.⁽³⁾ que avaliaram o efeito da administração de 7,35 mmol/kg peso de aminoguanidina na cicatrização periimplantar em ratos com diabetes induzida (DI). Os dados demonstraram efeito positivo, estatisticamente significativo ($p < 0,01$), da administração da aminoguanidina no grupo DI em comparação com o grupo controle (DI sem aminoguanidina) em relação à quantidade de contato de osso medular com a superfície implantar. Pode-se demonstrar no presente estudo que a administração de 20 mg/kg peso de aminoguanidina em ratos diabéticos induzidos elevou a força de contratorque necessária para rompimento do contato osso-implante a níveis estatisticamente iguais aos mensurados para animais do grupo saudável.

A indicação de implantes osseointegráveis na presença de diabetes continua sendo um assunto controverso. Apesar das evidências de que o diabetes *mellitus* pode prejudicar a osseointegração^(2,13,14), várias investigações têm demonstrado sucesso no tratamento de implantes dentários em indivíduos diabéticos controlados.^(5,6,7,26) Deve-se reconhecer que não existe até hoje, um protocolo que estabeleça critérios objetivos como, por exemplo, a influência do tempo de início da doença, os níveis de hemoglobina glicada, dentre outros, para o aumento da previsibilidade do tratamento com implantes dentários em pacientes diabéticos.^(2,3,4)

CONCLUSÃO

O processo de osseointegração foi afetado negativamente no modelo de diabetes induzido por aloxano. A aplicação de aminoguanidina não apresentou influência na força de contratorque para remoção dos implantes nos grupos de animais saudáveis

enquanto 20 mg/kg peso de aminoguanidina em animais diabéticos mostrou efeitos positivos no processo de osseointegração.

REFERÊNCIAS

1. Kwon PT et al. Maintenance of osseointegration utilizing insulin therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol.* 2005 Apr; 76(4):621-62.
2. Fiorellini JP, Nevins ML. Dental implant considerations in the diabetic patient. *Periodontology.* 2000a; 23:73-7.
3. Kopman JA et al. Modulating the effects of diabetes on osseointegration with aminoguanidine and doxycycline. *J Periodontol.* 2005 Apr; 76(4):614-20.
4. Kotsovilis, S. et al. A comprehensive and critical review of dental implant placement in diabetic animals and patients. *Clin Oral Impl Res.* 2006; 17: 587-99.
5. Balshi TJ, Wolfinger, GJ. Dental implants in the diabetic patient: a retrospective study. *Implant dentistry, Vol. 8, p. 355-359, 1999.*
6. Fazard P, Anderson I, Nyberg J. Dental implant treatment in diabetic patients. *Implant Dent.* 2002; 2:262-7.
7. Abdulwassie H, Dhanrajani PJ. Diabetes mellitus and dental implants: a clinical study. *Implant Dent.* 2002;11(1):83-5.
8. Teixeira AS, Andrade SP. Glucose-induced inhibition of angiogenesis in the Rat sponge Granuloma is prevented by aminoguanidine. *Life Sciences.* 1999; 61(8):655-62.
9. Amos AF, McCarty DJ, ZIMMET P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to 2010. *Diabet Med.* 1997;14 (Suppl 5): S1-S85.
10. Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: what is new and what works, *Clinical diabetes.* 2003; 21(4):186-7.
11. Andersen CCP et al. Relationship between periodontitis and diabetes: Lessons from rodent studies. *J Periodontol.* 2007; 78(7):1265-75.
12. Pablos AB. Avaliação da influência das drogas antiinflamatórias não esteroidais sobre a reparação óssea no diabetes experimental [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003.

13. Ottoni CE, Chopard RP. Histomorphometric evaluation of new bone formation in diabetic rats submitted to insertion of temporary implants. *Braz Dent J.* 2004; 15(2):87-92.
14. Margonar R et al. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent.* 2003; 12(4):333-9.
15. Statistical Analysis System Institute. SAS/STAT®: user's guide. Statistics version 6.4. Cary, 1996. 168p.
16. Hammes HP et al. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:11555-8.
17. Beisswenger PJ et al. Formation of immunochemical advanced glycation end products precedes and correlates with early manifestations of renal and retinal disease in diabetes. *Diabetes.* 1995; 44:824-9.
18. Vlassara H et al. Advanced glycation endproducts induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 91:11704-8.
19. Canalis E. Effect of insulin-like growth factor 1 on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *J. Clin. Invest.* 1980; 66:709-19.
20. Thissen JP et al. Nutritional regulation of insulin-like growth factors. *Endocr Rev* 1994;15:80-101.
21. Fiorellini JP et al. A retrospective study of dental implants in diabetic patients. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000b; 20(4):367-73.
22. Schmidt AM et al. The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochim Biophys Acta*, v. 1498, p. 99-111, 2001.
23. Vlassara H. The AGE receptor in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001; 17:436-43.
24. Southerland JH et al. Diabetes and periodontal infection: Making the connection. *Clinical Diabetes.* 2005; 23(4):171-8.
25. Katayama Y et al. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. *J Bone Miner Res.* 1996; 11:931-7.
26. Peled, M et al. Dental implants in patients with type 2 diabetes mellitus: a clinical study. *Implant Dent.* 2003; 12(2):116-22.