

PETERSON ANTÔNIO DUTRA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA OXIGENIO-TERAPIA HIPERBÁRICA NA  
REPARAÇÃO ÓSSEA PERI-IMPLANTAR NO DIABETES EXPERIMENTAL**

CAMPINAS  
2009

PETERSON ANTÔNIO DUTRA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA OXIGENIO-TERAPIA HIPERBÁRICA NA  
REPARAÇÃO ÓSSEA PERI-IMPLANTAR NO DIABETES EXPERIMENTAL**

Tese apresentada ao Centro de Pós-  
Graduação / CPO São Leopoldo Mandic  
como requisito para a obtenção do título  
de Doutor em Odontologia

Área de concentração: Implantodontia

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Joly

CAMPINAS  
2009

**Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca "São Leopoldo Mandic"**

OI48a Oliveira, Peterson Antônio Dutra de.  
Avaliação da influência da oxigenio-terapia hiperbárica na  
reparação óssea peri-implantar no diabetes experimental /  
Peterson Antônio Dutra de Oliveira. - Campinas: [s.n.], 2009.  
79f.: il.

Orientador: Júlio Cesar Joly.  
Tese (Doutorado em Implantodontia) - C.P.O. São Leopoldo  
Mandic - Centro de Pós-Graduação.

1. Diabetes Mellitus. 2. Oxigenoterapia. 3. Osseointegração.  
4. Implante Dentário. I. Joly, Júlio Cesar. II. C.P.O. São Leopoldo  
Mandic - Centro de Pós-Graduação. III. Título.

**C.P.O. - CENTRO DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS  
SÃO LEOPOLDO MANDIC**

**Folha de Aprovação**

**PARA:** Peterson Antônio Dutra de Oliveira

**TESE:** “AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA OXIGENIO-TERAPIA HIPERBÁRICA NA REPARAÇÃO ÓSSEA PERI-IMPLANTAR NO DIABETES EXPERIMENTAL”

O aluno acima indicado apresentou aquela TESE junto ao Centro de Pós-Graduação, para obtenção do grau de **Doutor em Odontologia**, área de concentração: **Implantodontia** em **25** de **Agosto** de **2009**, e após apreciação pela Comissão Examinadora abaixo nominada, foi considerada aprovado.

Prof. Dr. Julio Cesar Joly - Presidente

Prof. Dra. Patrícia ramos Cury - 1º Membro

Profa. Dr. Rui Barbosa de Brito Junior - 2º Membro

Prof. Dr. José Eustáquio da Costa - 3º Membro

Prof. Dr. Fernando de Oliveira Costa - 4º Membro

## **DEDICATÓRIA**

*À minha esposa, Alcione  
e aos nossos filhos Pedro e Henrique, meus grandes amores.*

*Aos meus pais “Seu” Tunico e Dona Cecé que, do modo de cada  
um, deixaram-me como legado a busca de uma vida digna.*

*Aos meus irmãos Sandra e Anderson, meus segundos pais.*

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Profa. Dra. Patrícia Ramos Cury pelo profissionalismo e enorme contribuição para a realização deste trabalho.

À Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais pelo auxílio PUC.

À Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic.

Aos meus colegas de doutorado, pelo prazer do convívio e o compartilhamento dos conhecimentos, em especial aos amigos Alethéia e Sérgio.

Agradecimento especial aos amigos Maurício Cosso, Clifor Andrade, pelo companherismo durante esta jornada.

Ao funcionário do Biotério do Departamento de Ciências Biológicas da Pontifícia universidade Católica de Minas Gerais, João Roberto de Freitas, pela ajuda e exemplo de carinho e respeito no manuseio dos animais.

Aos funcionários do Instituto de Ciências Biológicas III da Universidade de São Paulo - Laboratório de Tecidos Mineralizados - Marta e Boleta.

Ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais na pessoa da Profa. Gerluza Aparecida Borges Silva pela segura orientação na captura e análise das imagens, extensivo à acadêmica Cristiane Aparecida de Sousa.

Ao Dr. Marcos Salles pelo apoio na fase laboratorial e incentivo durante o trabalho.

*"De tudo ficaram três coisas:  
a certeza de que estamos sempre a começar,  
a certeza de que é preciso continuar,  
e a certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.*

*Portanto, devemos:  
fazer da interrupção um caminho novo,  
da queda, um passo de dança,  
do medo, uma escada,  
do sonho, uma ponte,  
da procura, um encontro."*

*Fernando Sabino*

## RESUMO

O *Diabetes Mellitus* é uma doença crônica com alta taxa de prevalência em diferentes populações constituindo-se um problema de saúde pública. O estado hiperglicêmico pode alterar, de formas variadas, o reparo ósseo peri-implantar comprometendo assim a osseointegração. A Oxigenoterapia Hiperbárica (OTH) tem se mostrado eficaz no aumento da oxigenação dos tecidos, na promoção da angiogênese e da diferenciação celular. Este estudo teve como objetivo avaliar a influência da OTH na reparação óssea peri-implantar no diabetes induzido. Quarenta e oito ratos foram randomicamente divididos em seis grupos: (G1) animais saudáveis sem OTH, (G2) animais saudáveis submetidos a 10 sessões de OTH antes da implantação, (G3) animais saudáveis submetidos a 10 sessões de OTH depois da implantação, (G4) animais com diabetes induzido sem OTH, (G5) animais com diabetes induzido submetidos a 10 sessões de OTH antes da implantação, (G6) animais com diabetes induzido submetidos a 10 sessões de OTH depois da implantação. Os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para a inserção de um implante no fêmur e após 28 dias de cicatrização foram sacrificados. Os níveis de osseointegração foram mensurados a partir do contato osso/implante pela análise histomorfométrica. Os dados foram submetidos aos testes Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, ANOVA e *t de student*. Nos grupos sem aplicação de OTH, o estado diabético alterou negativamente a média de porcentagem do contato osso/implante (COI) de 59,85% nos saudáveis para 30,47% nos diabéticos ( $p < 0,05$ ). Na comparação dos grupos de animais saudáveis e diabéticos submetidos à OTH não ocorreu diferença estatisticamente significativa, independentemente do período de aplicação, demonstrando que a OTH nos animais antes (70,03% - 51,39%) e depois da implantação (65,37% - 47,18%) elevou a média da porcentagem COI nos animais diabéticos ao nível dos animais saudáveis. O reparo ósseo peri-implantar foi afetado negativamente no modelo de diabetes induzido. A OTH elevou a porcentagem de contato osso/implante nos animais diabéticos ao nível dos saudáveis

Palavras-chave: Oxigenoterapia Hiperbárica. *Diabetes Mellitus*. Osseointegração.

## ABSTRACT

*Diabetes Mellitus* is a chronic disease with a high prevalence rate in different populations, constituting a public health problem. The hyperglycemic state can alter peri-implant bone repair in a number of ways, in turn compromising osseointegration. Hyperbaric Oxygen Therapy (HBOT) has proven to be efficient in increasing the oxygenation of the tissues as well as in promoting angiogenesis and cellular differentiation. This study aimed to assess the influence of HBOT on peri-implant bone repair in induced diabetes. Forty-eight mice were randomly divided into six groups: (G1) healthy animals without HBOT, (G2) healthy animals that underwent 10 sessions of HBOT before the implant, (G3) healthy animals that underwent 10 sessions of HBOT after the implant, (G4) animals with induced diabetes without HBOT, (G5) animals with induced diabetes that underwent 10 sessions of HBOT before the implant, (G6) animals with induced diabetes that underwent 10 sessions of HBOT after the implant. The animals underwent surgery to insert an implant into the femur and, after 28 days of healing, were sacrificed. The levels of osseointegration were measured based on the bone/implant contact (BIC) using the histomorphometric analysis. The data were submitted to the Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, ANOVA, and Student t tests. In the groups in which the HBOT was not applied, the diabetic state negatively altered the average BIC percentage from 59.85% in the healthy animals to 30.47% in the diabetic animals ( $p < 0.05$ ). Upon comparing the healthy animal groups to the diabetic animal groups that underwent HBOT, no statistically significant difference could be observed, regardless of the period of application, thus demonstrating that HBOT in the animals before (70.03% - 51.39%) and after (65.37% - 47.18%) the implant raised the average BIC percentage in the diabetic animals to the level of the healthy animals. The peri-implant bone repair was negatively affected within the induced diabetes model. The HBOT raised the BIC percentage in the diabetic animals to the level of the healthy animals.

Keywords: Hyperbaric oxygen therapy. Dental implants. Diabetes. Osseointegration

## LISTA DE FIGURAS

Quadro 1 - Fatores de risco para o diabetes Tipo II.....	17
Quadro 2 - Classificação do Diabetes Mellitus.....	18
Quadro 3 - Critérios de diagnóstico para o <i>Diabetes Mellitus</i> .....	20
Quadro 4 - Incidência do <i>Diabetes Mellitus</i> tipo 1 no Brasil.....	21
Figura 1 - Prevalência do <i>Diabetes Mellitus</i> no mundo.....	22
Quadro 5 - Estudos de avaliação da cicatrização peri-implantar em ratos com diabetes induzido.....	33
Figura 2 - Variação da pressão em função da altitude e do meio.....	37
Figura 3 - Variação do volume em função da pressão.....	38
Figura 4 - Variação da pressão e dissolução do gás em meio líquido.....	38
Figura 5 - Fluxograma do estudo.....	48
Figura 6 - Leito receptor preparado.....	50
Figura 7 - Parafuso inserido.....	50
Figura 8 - Vista lateral da câmara hiperbárica aberta.....	51
Figura 9 - Computador de controle de automação da câmara hiperbárica.....	51
Figura 10 - Vista interior da câmara hiperbárica.....	52
Quadro 6 - Sequência de embebição, iniciada pela solução 1 e terminada com a solução 5, com o intuito de substituir o etanol proveniente da sequência de desidratações pelo glicometacrilato Technovit 7200 VLC para inclusão.....	54
Figura 11 - Aumento de 2X.....	56
Figura 12 - Aumento de 10X.....	56
Figura 13 - Osseointegração total.....	56
Figura 14 - Falta de osseointegração.....	56
Tabela 1 - Médias da variação de peso em relação à condição de saúde e aplicação da OTH.....	59
Gráfico 1 - Variação do peso em função da condição de saúde e da aplicação da OTH.....	59
Tabela 2 - Médias da variação de glicose sanguínea entre os grupos saudáveis e diabéticos.....	60
Tabela 3 - Médias da variação de glicose sanguínea nos grupos diabéticos.....	60
Tabela 4 - Testes de Lilliefors e de Bartlett.....	61
Tabela 5 - Análise de variância dos valores de contato osso/implante em relação aplicação de OTH e a condição de saúde.....	61
Tabela 6 - Médias de porcentagem de contato osso/implante nos diferentes grupos.....	62
Gráfico 2 - Variação dos valores da % de contato osso/implante segundo a aplicação de OTH e a condição de saúde dos animais.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%vol	Porcentagem em volume
AGES	Advanced Glycation End Products - produtos finais da glicosilação avançada
ATA	Atmosfera absoluta
ATP	Síntese de adenosina trifosfato
Bfgf	Fator de crescimento básico para fibroblastos
CETEA	Comitê de Ética de Pesquisa em Animal
CFM	Conselho Federal de Medicina
COI	Contato entre osso e implante
DI	Diabetes experimentais induzidas
DISZT	Diabetes induzida por <i>streptozotocina</i>
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
DMID	<i>Diabetes Mellitus</i> insulino-dependente
DMNID	<i>Diabetes Mellitus</i> não insulino dependente
FNT	Fator de necrose tumoral
GJ	Glicose em jejum
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IGJ	Intolerância à glicose em jejum
kg/m <sup>2</sup>	Quilograma por metro quadrado
KPa	Quilo Pascal
Mesh	Número de malhas por polegada linear
Mgz	Megahertz
mg/dl	Miligramma por decilitro

mg/kg	Miligrama por quilograma
mmHg	Milímetros de mercúrio
N/cm	Newtons por centímetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
OTH	Oxigenoterapia Hiperbárica
PVPI	polivinilpirrolidona-iodo
rhBMP-2	Proteína morfogenética do osso humano recombinante
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
TTOG	Teste de tolerância oral a glicose
USP	Universidade de São Paulo
WHO	World Health Organization - Organização Mundial de Saúde
ZDF	Doença periodontal induzida em ratos diabéticos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Diabetes Mellitus - definição e classificação .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Diagnóstico e aspectos epidemiológicos .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3 Manifestações sistêmicas e locais do <i>Diabetes Mellitus</i>.....</b>	<b>23</b>
<b>2.4 <i>Diabetes Mellitus</i> e os implantes orais.....</b>	<b>26</b>
<b>2.5 <i>Diabetes Mellitus</i> e reparo ósseo peri-implantar - estudos em animais.....</b>	<b>29</b>
<b>2.6 Oxigenoterapia hiperbárica .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6.1 Princípios físicos básicos relacionados à terapia de oxigênio hiperbárico .....</b>	<b>36</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>45</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>45</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Aspectos éticos.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Plano amostral - desenho do estudo.....</b>	<b>46</b>
<b>4.3 Indução do diabetes.....</b>	<b>47</b>
<b>4.4 Técnica cirúrgica para colocação dos implantes .....</b>	<b>49</b>
<b>4.5 Aplicação oxigênio hiperbárico .....</b>	<b>51</b>
<b>4.6 Análise histomorfométrica .....</b>	<b>53</b>
<b>4.6.1 Preparo das lâminas .....</b>	<b>53</b>
<b>4.6.2 Processamento para microscopia de luz .....</b>	<b>55</b>
<b>4.7 Análise estatística .....</b>	<b>57</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>58</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>71</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO CEEA .....</b>	<b>79</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A condição Diabetes Mellitus (DM) resulta de alterações metabólicas de etiologia variada caracterizada por hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas como consequência de alterações na secreção, ação ou ambos da insulina (Word..., 1999; American..., 2005).

Os principais efeitos da hiperglicemia crônica no metabolismo ósseo estão associados à ligação dos produtos finais da glicosilação avançada (AGEs) com os componentes da matriz extracelular resultando em modificações no reparo ósseo peri-implantar desde a formação do coágulo, reabsorção, formação da matriz, deposição e mineralização do osteóide e na fase de manutenção da osseointegração (Fiorellini, Nevins, 2005).

O efeito das alterações sistêmicas dos pacientes no comprometimento da obtenção e manutenção da osseointegração permanece controverso (Steenberghe, 2004). Em 1988, o Instituto Nacional de saúde e Desenvolvimento dos Estados Unidos, incluiu o Diabetes Mellitus como contraindicação para terapia com implantes dentais devido à possibilidade de complicações pós-cirúrgicas resultantes de alterações no processo cicatricial. Muito embora em estudos retrospectivos (Balshi, Wolfinger, 1999; Fiorellini et al., 2000) os índices de sucesso dos implantes dentais em pacientes diabéticos sejam elevados e semelhantes à população não diabética em outras investigações a taxa de insucesso apresenta-se maior, principalmente, após o primeiro ano de implantação (Shernoff et al., 1994; Fiorellini et al., 2000; Morris et al., 2000; Olson et al., 2000). Estudos em animais demonstraram o efeito

deletério do estado hiperglicêmico para o reparo ósseo peri-implantar nos aspectos qualitativos e quantitativos do osso neoformado (Takeshita et al., 1998; Nevins et al., 1998; Gerritsen et al., 2000; McCracken et al., 2000).

A Oxigenoterapia Hiperbárica (OTH) consiste na inalação de 100% de oxigênio em um ambiente de pressão elevada >1,5 atmosferas (ATA; 150 KPa), tipicamente de 2 a 3 ATA (200-300 KPa) (Mayer et al., 2005). Os efeitos da OTH são vários e alguns ainda não são totalmente compreendidos. Sabe-se que a elevação da pressão leva a um aumento da solubilidade do oxigênio no sangue, favorecendo sua difusão nos tecidos. Os resultados positivos da OTH no reparo dos tecidos peri-implantares puderam ser demonstrados em animais por Nilsson et al. (1988); Johnsson et al. (1999); Chen et al. (1999), além de um efeito sinérgico osteoindutor na aplicação da proteína morfogenética do osso humano recombinante (rhBMP-2) (Okubo et al., 2001) e de favorecer a incorporação dos implantes de titânio puro instalados imediatamente com enxerto de osso autógeno (Sawai et al., 1998).

Não obstante, devido a seus diversos efeitos biológicos, a terapia de oxigênio hiperbárico ainda não foi objeto de investigação em relação a sua influência no reparo ósseo peri-implantar na presença do diabetes induzido.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Diabetes Mellitus - definição e classificação

A condição *Diabetes Mellitus* resulta de alterações metabólicas de etiologia variada caracterizada por hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo dos carboidratos, gorduras e proteínas como consequência de alterações na secreção, ação ou ambos da insulina (Word..., 1999; American..., 2005).

A exemplo de outras patologias de características multifatoriais a classificação e os critérios de diagnóstico do diabetes vêm sofrendo alterações através dos tempos decorrentes, dentre outros fatores, dos avanços no entendimento da etiopatogenia da doença. A Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou em 1965, pela primeira vez, a classificação do diabetes e, posteriormente, três outras atualizações foram propostas pelo comitê responsável em 1980, 1985 e 1999. Historicamente, o *Diabetes Mellitus* é classificado, basicamente, em quatro tipos com base na etiologia e na apresentação clínica das alterações: tipo 1, tipo 2, diabetes gestacional e outros tipos específicos (World Health Organization, 1999).

Nas primeiras classificações, o diabetes tipo 1 foi definido como *Diabetes Mellitus* insulino-dependente (DMID) sendo caracterizado como resultante da destruição de caráter autoimune das ilhotas de células beta pancreáticas causando a interrupção da produção da insulina (Atkinson, MaClaren, 1994). Pacientes com esta condição apresentam sintomas agudos que incluem a produção excessiva de urina (poliúria), sede excessiva (polidipsia), fome excessiva (polifagia), fadiga, visão embaçada e cetoacidose. Ao que tudo indica, alguns genes parecem estar

relacionados com a prevalência do diabetes tipo 1, contudo, estudos mais específicos são ainda necessários para se determinar de forma mais clara a influência genética nesta patologia (Oliver, Tervonen, 1994; Miley, Terezhalmay, 2005).

O *Diabetes Mellitus* tipo 2 (definido como não-insulino dependente - DMNID) é mais comum que o tipo 1 sendo, usualmente, de acometimento tardio e caracterizado por uma redução gradual na produção da insulina ou na resistência das células do corpo para ação desta. O Diabetes tipo 2 é o mais prevalente totalizando praticamente 90% dos casos diagnosticados. Fatores como sedentarismo, dieta desequilibrada e rica em gorduras e carboidratos levam normalmente à obesidade fazendo do DM tipo 2 a doença crônica metabólica mais prevalente nos seres humanos (Zimmet et al., 2001; Bloomgarden, 2006). Os fatores relacionados com a obesidade são responsáveis pelo aumento dos níveis de insulina, o que diminui a expressão de seus receptores gerando uma resistência tecidual ao hormônio (Bloomgarden, 2006).

O quadro 1 apresenta os principais fatores de risco para o desenvolvimento do DM do tipo 2 de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD).

Idade $\geq$ 45 anos
História familiar de DM (pais, filhos e irmãos)
Excesso de peso (IMC $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup> )
Sedentarismo
HDL-c baixo ou triglicérides elevados
Hipertensão arterial
DM gestacional prévio
Macrossomia ou história de abortos de repetição ou mortalidade perinatal
Uso de medicação hiperglicemiante (por exemplo: corticosteróides, tiazídicos, betabloqueadores)

Quadro 1 - Fatores de risco para o diabetes Tipo II.

Fonte: Sociedade..., 2003

O *Diabetes Mellitus* gestacional é a diminuição da tolerância à glicose, de magnitude variável, diagnosticada pela primeira vez na gestação, podendo ou não persistir após o parto. Abrange os casos de DM e de tolerância à glicose diminuída detectados na gravidez em cerca de 2% das mulheres grávidas (Sociedade..., 2003; American..., 2005). Apesar de ser um estado transitório, o DM gestacional aumenta a chance de se instalar o DM tipo 2 após a gravidez. Este fato ocorre, em média, com 40-50% das pacientes nos próximos cinco anos (Committee..., 1997).

O quadro 2 apresenta a classificação atual do DM, e as demais formas de diabetes, baseada na sua etiologia, eliminando, conforme recomendação da OMS, o termo *Diabetes Mellitus* insulino dependente (DMID) e não insulino dependente (DMNID).

<p><b>I - Diabetes tipo 1</b></p> <p>Destrução das células beta levando à deficiência completa da insulina</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A. autoimune</li> <li>B. idiopático</li> </ul>
<p><b>II - Diabetes tipo 2</b></p> <p>Graus variados de diminuição de secreção e resistência à insulina</p>
<p><b>III - Outros tipos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Defeitos genéticos da função da célula <math>\beta</math></li> <li>B. Defeitos genéticos da ação da insulina</li> <li>C. Doenças do pâncreas exócrino</li> <li>D. Endocrinopatias</li> <li>E. Indução por drogas ou produtos químicos</li> <li>F. Infecções</li> </ul>
<p><b>IV - Diabetes gestacional</b></p>

Quadro 2 - Classificação do Diabetes Mellitus.

Fonte: Sociedade..., 2004

## 2.2 Diagnóstico e aspectos epidemiológicos

Os critérios de diagnóstico para o DM apresentam características evolutivas conforme os avanços científicos das técnicas e dos estudos nas mais variadas áreas do conhecimento médico. Conforme a SBD (2003), a padronização dos primeiros testes de sobrecarga de glicose data de 1958, uma época que ainda não se dispunha das diretrizes das organizações mundiais de saúde nem o consenso das sociedades científicas.

Segundo o Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus em 1997, os valores de glicemia utilizados para o diagnóstico de diabetes não se baseiam em sintomatologia, mas sim na probabilidade de evolução para retinopatia ou nefropatia. De acordo com Gross et al. (2002) e Sociedade..., (2004), tanto no diabetes tipo 1, quanto no tipo 2, uma glicemia mais elevada promove maior risco para complicações, e um controle glicêmico mais rigoroso cursa com menos complicações crônicas. Nesse sentido, pacientes com glicemia > 200 mg/dl, após duas horas de sobrecarga com 75 g de glicose, apresentam riscos elevados. Em relação à glicemia de jejum, valores acima de 126 mg/dl se correlacionam relativamente bem com os valores de duas horas após sobrecarga acima de 200 mg/dl, de modo que glicemias de jejum > 126 mg/dl em duas ocasiões confirmam o diagnóstico. Apesar de boa especificidade, a glicemia em jejum tem baixa sensibilidade para afastar diabetes (Harris et al., 1997), ou seja, uma glicemia de jejum normal não é suficiente para afastar o diagnóstico de diabetes, sendo, muitas vezes, necessário realizar o teste de sobrecarga. O teste oral de sobrecarga com glicose deve ser realizado após um jejum de oito a 14 horas e com, pelo menos, três dias de dieta sem restrição de carboidratos (> 150 g/dia). Desde 2003, a Associação Americana de Diabetes, por meio do mesmo comitê, vem adotando um novo critério para diagnóstico de intolerância à glicose. Também, tentando equalizar o número de casos diagnosticados pelo teste de tolerância oral a glicose (TTOG) com os casos diagnosticados pela glicose em jejum (GJ), o critério para diagnóstico de intolerância à glicose em jejum (IGJ) baixou para 100 mg/dl (Committee..., 2004; Genuth et al., 2003; Sociedade..., 2004). O quadro 3 apresenta os critérios diagnósticos atuais para as variações dos níveis glicêmicos.

VALORES GLICÊMICOS		
	Glicemia em jejum	Glicemia 2 horas
Diabetes	$\geq 126$ mg/dl	$\geq 200$ mg/dl
Tolerância diminuída a glicose	$< 126$ mg/dl	140 a 199 mg/dl
Intolerância de jejum	101 a 125 mg/dl	$< 140$ mg/dl
Normal	$\leq 100$ mg/dl	$< 140$ mg/dl

Quadro 3 - Critérios de diagnóstico para o *Diabetes Mellitus*.

Fonte: American..., 1994

Os pacientes diabéticos representam uma parcela significativa da população. Estimativas da OMS, em 2001, estabelecem um número entre 150 a 200 milhões de pessoas diabéticas no mundo, com a previsão de duplicação destas taxas nas próximas duas décadas (Zimmet et al., 2001).

Estudo realizado por Wild et al. (2004) estimou que o número total de pessoas diabéticas no mundo, independentemente do tipo de diabetes e da idade, deverá passar de 171 milhões (2000) para 366 milhões (2030). Os autores realçaram que a prevalência continuará alta tanto em homens quanto nas mulheres e que a população urbana de países desenvolvidos e em desenvolvimento deverá duplicar os casos de diabetes neste período. No Brasil, os números projetam um aumento de 4,6 milhões de diabéticos em 2000 para 11,3 milhões em 2030. A figura 1 ilustra os dados de projeção dos casos de DM em todo o mundo de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO).

No Brasil, segundo dados da SBD e do Ministério da Saúde, em um censo nacional realizado de 1986 a 1989, a prevalência do diabetes varia conforme

a região demográfica atingindo, em média, 7,6% da população entre 30 e 69 anos. Atualmente, a SBD estima a prevalência entre 10 a 11% da população brasileira, ou seja, por volta de 5.000.000 de pessoas portadoras da doença (SBD, 2005).

O DM tipo 1 é considerado uma das doenças infanto-juvenis crônicas mais comuns nos países em desenvolvimento, podendo, entretanto, ocorrer em qualquer idade (Molbak et al., 1995). Conforme a SBD (2003), no Brasil, este é o tipo mais frequente em crianças e adolescentes com picos de incidência dos 10 aos 14 anos, sendo que os dados sobre esta doença no Brasil são escassos, apresentando prevalência estimada de 0,2% e incidência variável (quadro 4)

<b>Níveis de incidência</b>	<b>Cidade</b>	<b>Estado</b>	<b>Incidência 1/100.000</b>
<b>Baixa</b>	Grande Campo	Paraíba	3,5
<b>Intermediária</b>	Londrina	Paraná	5,8
<b>Elevada</b>	São Paulo	São Paulo	7,6
	Bauru (SP)	São Paulo	9,8
	Passo Fundo	Rio Grande do Sul	12,4

Quadro 4 - Incidência do *Diabetes Mellitus* tipo 1 no Brasil.

Fonte: Sociedade..., 2003.

## Prevalência de Diabetes

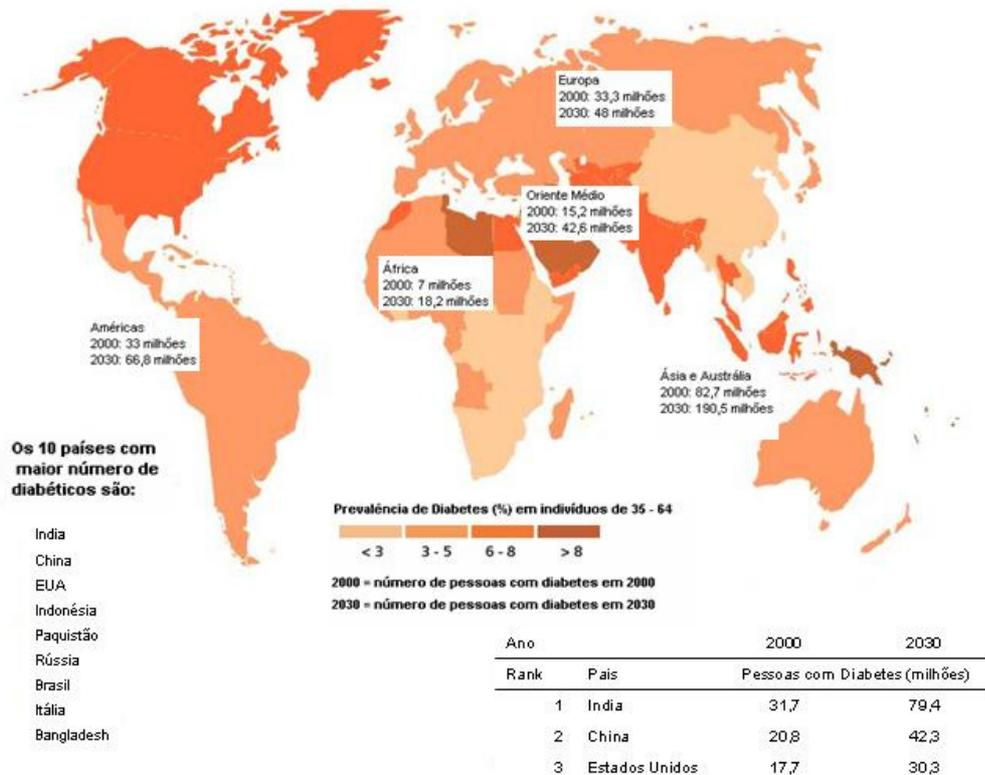


Figura 1 - Prevalência do *Diabetes Mellitus* no mundo

Fonte: Word..., 2008

O Diabetes tornou-se uma das principais causas de doenças e mortes prematuras na maioria dos países, principalmente em decorrência do aumento do risco de doença cardiovascular. O número de mortes atribuídas anualmente ao diabetes em todo o mundo é de cerca de 3,2 milhões, seis mortes a cada minuto (Word..., 2008).

Em todo o mundo os gastos diretos de saúde com o diabetes situam-se 2,5% a 15% dos orçamentos anuais da saúde variando em função da prevalência local do diabetes e da sofisticação dos tratamentos disponíveis. Dados da Associação Americana de Diabetes em 2008 relataram que o custo total estimado com o DM nos Estados Unidos da América no ano de 2007 foi de US\$ 174 bilhões

divididos em gastos com tratamento direto (US\$ 27 bilhões), complicações clínicas decorrentes do diabetes (US\$ 58 bilhões) e gastos com custos médicos (US\$ 31 bilhões) medicamentos (US\$ 12 bilhões) e os demais gastos relacionados com despesas hospitalares, absentismo, perda de produção, desemprego devido à deficiência e mortalidade precoce (American..., 2007).

### **2.3 Manifestações sistêmicas e locais do *Diabetes Mellitus***

Os efeitos da hiperglicemia crônica resultante do estado diabético desencadeiam alterações agudas e crônicas de ordem sistêmica em especial aquelas relacionadas com modificações microvasculares - retinopatias (glaucoma, cegueira), nefropatias, neuropatias e nos grandes vasos (aterosclerose) predispondo os pacientes às doenças cardiovasculares - infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral (Fiorellini, Nevins, 2005). A cetoacidose é uma das alterações graves decorrentes da condição hipoglicêmica provocada pelo aceleração do metabolismo dos lipídios. Esta alteração metabólica, mais comum no DM tipo 1, leva à formação excessiva de corpos cetônicos hepáticos propiciando a cetoacidose diabética, baixando o pH do sangue, podendo levar ao coma e à morte (American..., 2005).

As doenças cardiovasculares são responsáveis por 50% a 80% das mortes de pessoas com diabetes. Fatores de risco para doenças cardíacas em pessoas com diabetes incluem pressão arterial alta, colesterol sérico elevado, obesidade e tabagismo. A neuropatia diabética é, provavelmente, a complicação mais comum. Estudos sugerem que até 50% das pessoas com diabetes possam ser afetadas em níveis diferentes. Os principais fatores de risco desta condição são o

nível e a duração da elevação de glicose no sangue. Esta é, também, uma das principais causas de impotência em homens diabéticos (Word..., 2008).

A retinopatia diabética é uma das principais causas de cegueira e deficiência visual. Achados de várias Investigações sugerem que, após 15 anos de diabetes, aproximadamente 2% das pessoas se tornam cegas, enquanto cerca de 10% desenvolvem grave deficiência visual. O pé diabético é doença decorrente de alterações nos vasos sanguíneos e nervos, muitas vezes leva à ulceração e amputação dos membros inferiores, sendo o diabetes considerado como a causa mais comum de amputação não-traumática destes (Word..., 2008).

As manifestações bucais do Diabetes Mellitus foram descritas, conforme Albrecht et al. (1988), há mais de 100 anos e podem mostrar-se mais graves em indivíduos com o tipo 1, comparados com o diabetes tipo 2, não controlados. Diversos estudos relacionam, de maneira direta ou indireta, a influência da hiperglicemia diabética no meio bucal, destacando-se as alterações na diminuição do fluxo salivar e concomitante inchaço das glândulas parótidas (American..., 1994; Fisk, 2004), predispondo os pacientes ao aumento da cárie (Hallmon, Mealey, 1992), doença periodontal e reparação deficiente dos tecidos moles (Bartolucci, Parks, 1981; Archer et al., 1984; Løe, 1993; Gian-Grasso, Nagelberg, 1997; Grossi, Genco, 1998; Cutler et al., 1999; American..., 2000; Graves et al., 2005), além de alterações no padrão ósseo peri-implantar em animais com diabetes induzida (Iyama et al., 1997; Takeshita et al., 1997a, 1998; Nevins et al., 1998; Fiorellini et al., 1999; Gerritsen et al., 2000; McCracken et al., 2000; Kopman et al., 2005; Kwon et al., 2005).

As alterações microvasculares, decorrentes de alterações bioquímicas celulares e moleculares, são capazes de alterar as propriedades funcionais das

proteínas intra e extracelulares, algumas vezes, até com alterações patológicas da expressão genética, por meio da formação de metabólitos que contêm glicose. De especial interesse é o efeito destas reações na osteogênese. Conforme Fiorellini & Nevins (2005), existem reações moleculares irreversíveis entre os metabólitos da glicose e as proteínas para formarem bases Schiff, as quais, por sua vez, transformam-se em produtos iniciais da glicosilação tipo Amadori. Esses produtos por meio de rearranjos químicos com proteínas e lipídeos dão origem aos produtos finais da glicosilação avançada (AGES - Advanced Glycation End Products) que são macromoléculas com vida longa. Estes produtos têm caráter cumulativo nos tecidos e guardam correlação com o aumento dos níveis de glicose e do tempo, sugerindo que pequenas variações nos níveis glicêmicos podem afetar a concentração dos AGES nos tecidos (Lalla et al., 1998; 2001). Estas variações causam alterações qualitativas e quantitativas nos componentes da matriz extracelular como no colágeno, laminina e vitronectina, com reflexos marcantes na reparação peri-implantar (Weis et al., 1981; Spanheimer, 1988).

A insulina é um hormônio importante não só para o controle da glicemia, mas também para modulação do crescimento normal do esqueleto. Esse hormônio não regula a reabsorção óssea, mas tem um papel estimulador na síntese de matriz óssea apresentando efeito tanto direto quanto indireto no metabolismo ósseo. A insulina estimula diretamente os osteoblastos a sintetizarem a matriz e atuam indiretamente ativando a produção do fator I de crescimento semelhante à insulina pelo fígado. Esse fator I aumenta a síntese da matriz por dois mecanismos: aumentando o número de osteoblastos presentes e regulando a função dos osteoblastos diferenciados (Nevins et al., 1998).

Fiorellini & Nevins (2005) mencionaram que tais alterações no metabolismo ósseo estão associadas à ligação dos produtos finais da glicosilação com os componentes da matriz extracelular. Os autores identificam vários elementos modificadores do processo de cicatrização peri-implantar como a formação do coágulo (modificações nas proteínas da cicatrização), a fase de reabsorção (número diminuído de osteoclastos), o período de formação da matriz (inibição da formação do coágulo), a etapa de depósito e mineralização do osteóide (número diminuído de osteoblastos, mineralização reduzida das proteínas) e a fase de manutenção da osseointegração (renovação óssea reduzida, alteração na homeostasia óssea, modificação do estado diabético).

#### **2.4 *Diabetes Mellitus* e os implantes orais**

Em 1988, o *National Institute of Health Consensus Development* dos Estados Unidos, incluiu o Diabetes Mellitus como contraindicação para terapia com implantes dentais devido à possibilidade de complicações pós-cirúrgicas resultantes de alterações no processo cicatricial.

Fiorellini & Nevins (2005) realçaram que o impacto das doenças sistêmicas sobre o tecido de integração do implante não está claro, embora certas situações possam ser relacionadas como contraindicação para o tratamento com implante dentário. Apesar disso, casos bem documentados da terapia com implantes em pacientes com enfermidades tais como, diabetes, artrite e doenças cardiovasculares, são relatados na literatura com sucesso. Entretanto, segundo os autores, “até hoje não existem pesquisas clínicas controladas examinando os efeitos da saúde sistêmica sobre a interface implantes tecidos”.

Em vários estudos retrospectivos os índices de sucesso em pacientes diabéticos variaram de 85,6% (Fiorellini et al., 2000) a 94,3% (Balshi, Wolfinger, 1999), ou seja, índices de perdas próximos dos estudos em pacientes não diabéticos. No entanto, deve-se ressaltar que, em uma parcela considerável dos estudos, a taxa de insucesso é maior após um ano (Shernoff et al., 1994; Fiorellini et al., 2000; Morris et al., 2000; Olson et al., 2000) dando a entender que o risco para perda de implantes em pacientes diabéticos está mais relacionada com as etapas de reabertura e com o início de aplicação de carga mecânica (Beikler, Flemming, 2003). De acordo com Olson et al. (2000), este fato sugere que alterações microvasculares decorrentes do estado hiperglicêmico possam conduzir a uma diminuição da resposta imune e uma redução na remodelação óssea contribuindo para a perda do implante.

É interessante observar que, nos dias atuais, permanece controversa a influência da presença do DM como fator de risco para perda de implantes. Conforme Beikler & Flemming (2003), orientações definitivas, com critérios objetivos, incluindo o tipo de diabetes, a idade do início da doença e o controle metabólico a longo prazo, ainda não foram estabelecidos. Dessa forma, na opinião de Blanchaert, (1998), nenhum paciente que não demonstre controle rigoroso dos níveis de glicose pode ser considerado como candidato para cirurgia de implantes. Kotsovilis et al. (2006), em um extenso trabalho de revisão, destacam que, na maioria dos estudos clínicos, a presença do diabetes não representa uma contraindicação para colocação dos implantes desde que os pacientes estejam sob controle metabólico. Entretanto, os autores também realçam a necessidade do estabelecimento, em estudos futuros, de critérios objetivos, tais como, o tipo de diabetes, o tempo de

duração da doença, os níveis de hemoglobina glicada para uma indicação precisa da terapia com implantes na presença do diabetes.

Outro aspecto que tem sido investigado, principalmente em alguns estudos em animais, é o provável efeito do fator idade, ou do envelhecimento, no reparo ósseo peri-implantar.

Shirota et al. (1993) avaliaram os efeitos do envelhecimento na reparação do osso ao redor de implantes recobertos com hidroxiapatita inseridos na tíbia de ratos machos divididos em três grupos: grupo jovem (seis semanas de vida), grupo adulto (12 semanas) e grupo de idosos (dois anos). Os autores reportam pela observação histológica que nos grupos jovem e adulto os implantes foram circundados por tecido ósseo compacto e maduro. Já no grupo dos animais idosos tanto no aspecto medular quanto na cortical os implantes foram circundados por tecido fibroso.

Takehita et al. (1997b) avaliaram em ratos saudáveis, a influência da idade nos aspectos qualitativos e quantitativos do osso neoformado ao redor de implantes de titânio inseridos na tíbia dos animais. Três grupos foram definidos: grupo jovem (seis semanas de vida), grupo adulto (22 semanas) e grupo de idosos (80 semanas). A avaliação histomorfométrica demonstrou diferenças significativas na porcentagem de contato osso implante entre os animais do grupo jovem (40%), os do grupo adulto (29%) e os do grupo idoso com 1,5%. A espessura do osso neoformado ao redor dos implantes também mostrou diferença estatística entre o grupo idoso e o grupo jovem e adulto. Os autores sugerem que a baixa porcentagem de osso formada no experimento é devido à reação tecidual diferenciada ao material ser marcadamente influenciada pela idade dos animais.

## **2.5 *Diabetes Mellitus* e reparo ósseo peri-implantar - estudos em animais**

Os modelos de diabetes experimentais induzidas (DI) são responsáveis por importantes avanços científicos e por considerável parcela do conhecimento atualmente disponível sobre as diferentes formas do Diabetes Mellitus em seres humanos (Rees, Alcolado, 2005).

Liu et al. (2006), usando um modelo de doença periodontal induzida em ratos diabéticos (ZDF), demonstraram que o estado diabético aumentou de forma significativa o infiltrado inflamatório, o número de osteoclastos em atividade além de incrementar a apoptose das células da linhagem dos osteoblastos no grupo com diabetes em comparação aos controles (não diabéticos). Os autores concluíram que o diabetes aumenta a resposta inflamatória do hospedeiro e a reabsorção óssea prejudicando assim a formação de novo osso.

Para avaliar se o diabetes tipo 1 altera a resposta inflamatória Graves et al. (2005), em um modelo animal com diabetes induzida por streptozotocina (DISZT), inocularam cepas de *P. gingivalis* em ratos. Demonstrou-se, após três dias da inoculação, diferenças significativas em relação à expressão de proteínas quimiotáticas para macrófagos e monócitos e fator de necrose tumoral (FNT) entre os grupos teste e controle. Os autores concluíram que a resposta inflamatória é prolongada na presença do diabetes.

Alterações nos aspectos quantitativos no osso que recebeu implantes de hidroxiapatita em ratos com diabetes induzida com streptozocina (DISTZ) foram demonstradas por Takeshita et al. (1997a). Os autores relataram diferenças entre os grupos controle e teste em relação à porcentagem de contato ósseo e espessura de osso peri-implantar menores no grupo com DI.

Iyama et al. (1997), avaliando a quantidade e distribuição da formação óssea ao redor de implantes recobertos com hidroxiapatita, observaram semelhanças entre o padrão de distribuição óssea entre os grupos controle e com DISTZ. Entretanto, quantitativamente, o grupo com DI apresentou menor neoformação óssea e praticamente ausência do marcador de cálcio no período final da cicatrização, demonstrando insuficiência de mineralização do osso.

Takehita et al. (1998) examinaram a influência do Diabetes na formação óssea ao redor de implantes de titânio inseridos na tíbia de ratos. Os autores relataram que os implantes do grupo controle apresentaram maior contato entre osso implante e maior espessura do osso circundante em comparação ao grupo dos animais diabéticos.

Nevins et al. (1998), estudando o processo de reparação óssea no diabetes experimental não controlada, observaram osseointegração em ambos os grupos, controle e DI, porém, com uma diferença na qualidade do osso neoformado nesse último, o qual apresentou uma morfologia óssea imatura e desorganizada, além de um menor contato com o implante em comparação com os controles.

Fiorellini et al. (1999), em um experimento com DI, avaliaram o efeito da reposição de insulina na neoformação óssea. Os autores demonstraram que apesar da insulina contribuir positivamente, melhorando a aposição óssea peri-implantar, o grupo com DI apresentou menor contato osso/implante em comparação com o grupo controle.

Gerritsen et al. (2000) identificaram, por meio de avaliações histológicas e histomorfométricas, uma menor densidade na cortical óssea ao redor de implantes instalados no grupo com DI em relação aos controles. Em contraste com a maioria

dos estudos, não detectaram diferença entre a porcentagem de contato ósseo entre os grupos estudados.

McCracken et al. (2000) avaliaram a porcentagem de osseointegração, através da interface linear osso/implante, associada com a porcentagem de volume ósseo e a frequência de contato e observaram que o grupo com DI apresentou uma menor quantidade de osseointegração, apesar da porcentagem de volume ósseo ter sido maior que a observada nos controles.

Giglio et al. (2000) avaliaram o efeito do DI na cicatrização peri-implantar (implante laminar) colocados na tíbia de ratos. Na avaliação microscópica realizada 14 e 30 dias após a implantação os autores relatam diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) em ambos os períodos com maior contato osso/implante nos animais do grupo controle em comparação com os do grupo com DI.

Siqueira et al. (2003) avaliaram, em um modelo animal (ratos) com diabetes induzida, o efeito da administração de insulina no reparo ósseo peri-implantar. Os animais foram divididos em três grupos: grupo 1 formado por animais diabéticos sem reposição de insulina, o grupo 2 com diabetes induzida e reposição de insulina diariamente e o grupo 3 de animais saudáveis. Na avaliação histomorfométrica pôde-se verificar, em relação ao grupo controle, uma redução de 50% na área de osso neoformado e no contato osso/implante nos animais com DI sem reposição de insulina. Os autores concluíram sugerindo a importância da insulina no reparo ósseo peri-implantar e no sucesso da osseointegração.

Margonar et al. (2003) pesquisaram sobre a influência do DI e da terapia com insulina na retenção biomecânica de implantes colocados na tíbia de coelhos. Os autores demonstraram diferenças significativas no torque necessário para remoção dos implantes entre o grupo controle (32,3 N/cm e 39,2 N/cm) os diabéticos

(20,3 N/cm e 25,2 N/cm) e diabéticos com reposição de insulina (13,8 N/cm e 22,0 N/cm) nos períodos experimentais de oito e de 12 semanas, respectivamente.

Kopman et al. (2005) avaliaram o efeito da administração da aminoguanidina e da doxiciclina na cicatrização peri-implantar em ratos com DI. Os autores relataram um efeito positivo ( $p < 0,01$ ) da administração da aminoguanidina no grupo DI em comparação com os do grupo controle (DI sem aminoguanidina) em relação à quantidade de contato ósseo de osso medular com a superfície do implante. Os animais diabéticos que receberam doxiciclina não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle diabético ( $p > 0,05$ ).

Kwon et al. (2005) avaliaram a manutenção da osseointegração (contato entre osso e implante - COI) em um modelo animal com DI pós-implantação. Os autores relataram diferenças entre os grupos diabéticos com administração de insulina e aqueles sem complementação em relação ao COI nos períodos de um, dois, três e quatro meses sendo que esta diferença foi especialmente maior ( $p < 0,001$ ) após o segundo mês de avaliação. Os autores concluíram que, durante o período do estudo, nos ratos diabéticos com suplementação de insulina a manutenção do COI pode ser mantida realçando, entretanto, que o COI parece decrescer com o tempo nos ratos diabéticos sem controle glicêmico.

Kotsovilis et al. (2006), em um estudo de revisão de experimentos realizados em animais, destacaram que, das 11 investigações que preencheram os critérios de inclusão do estudo, a grande maioria aponta para uma cicatrização óssea prejudicada, nos aspectos qualitativos e quantitativos em animais com diabetes induzida em comparação com os controles saudáveis.

O quadro 5 sumariza os estudos que avaliaram a cicatrização peri-implantar em ratos com diabetes induzida.

Autor/ano publicação	Animal Espécie / sexo / idade (semanas)	Diabetes: Indução-dosagem Nível diabético glicose (mg/dL)	N animais / grupos	Tipo de implante Local de inserção	Aval. estatística	Resultados
Takeshita et al. (1997a)	Ratos, Wistar, machos, 5	STZ 100mg/Kg $\geq$ 300mg/dL	18 DI - 36 imp 10 saúde - 20 imp	Hidroxiapatita densa Tíbia	t- Students	COI DI 69,7% COI CS 96% (p<0,005) EOC DI - 15,4 $\mu$ m EOC CS- 28 $\mu$ m p<0,001)
Iyama et al. (1997)	Ratos, Wistar, machos, 4	STZ 80mg/Kg $\geq$ 300mg/dL	5 DI - 10 imp 5 saúde - 10imp Pareados sexo-idade	Hidroxiapatita densa Tíbia	Sem análise estatística	Grupo DI - quase completa ausência de formação óssea no endóstio e perióstio
Takeshita et al. (1998)	Ratos, Wistar, machos, 5	STZ 100mg/Kg $\geq$ 300mg/dL	24 DI - 48 imp 24 CS - 48 imp Pareados sexo-idade	Titânio Tíbia	t - Students	COI DI < Saúde (p<0,05) EOC DI < Saúde (p<0,05) após 84 dias AOC DI, Saúde (p<0,05) após 56 e 84 dias
Nevins et al. (1998)	Ratos, Sprague-Dawley machos, 6	STZ 70mg/Kg $\geq$ 350mg/dL	10 DI - 30 imp 10 saúde -30 imp Pareados sexo-idade	Tit cp TPS Fêmur	Anova Bonferroni / Dunn	DOM - 4 semanas - DI - 0,12 $\pm$ 0,06% DOM - 4 semanas - CS - 0,10 $\pm$ 0,04% NS DOM - DI e CS - 8 semanas - NS COI - 4 semanas - DI - 29 $\pm$ 4% CS - 50 $\pm$ 11% (Anova p<0,005%) COI - 8 semanas - NS
Fiorellini et al. (1999)	Ratos, Sprague-Dawley machos , 6	STZ 70mg/Kg $\geq$ 350mg/dL	5 CI - 15 imp Pareados sexo-idade 15 imp - CSH estudo Nevins et al 1998	Tit cp TPS Fêmur	TNP - T-test para comparação histométrica Teste pareado T-test inter-examinadores	DOM - CI < DOM CS - (p<0,05) COMI -CI < DOM CS - (p<0,05) COI - CI e COI - CS - NS
McCracken et al. (2000)	Ratos, Sprague-Dawley machos, 16	STZ 65mg/Kg NE	16 DI e 16 CS Pareados sexo-idade	Titânio Tíbia	Manova Fisher's pos hoc analise	OI DI - 16,2% OI CS - 24,5% (p<0,01) VO DI - 25% VO CS - 6,2% (p<0,0001)
Giglio et al. (2000)	Ratos Wistar machos NE	Aloxano 65mg/Kg >180mg/dL	20 DI CS 20	Tit cp - laminar tíbia	Anova	% OI 14 dias -DI 55% CS 97% OI 90 dias - DI 56% CS 91%
Siqueira et al. (2003)	Ratos, Wistar, machos, 12	Aloxano 42mg?Kg >200mg/dL	18 DI - 36 imp 8 IT - 16 imp 17 CS - 34 imp Pareados sexo-idade	Tit cp Tíbia	Anova Tukey-Kramer	10 dias pós-implante: DI e CS - NS para : ACO e COI Após 21dias: ACO DI 50% < ACO CS (p<0,001) COI DI 50% < COI CS (p<0,01)
Otoni & Chopard (2004)	Ratos, Wistar machos, NE	Aloxano 30mg/Kg >300mg/dL	5 DI - 15 imp 5CS - 15 imp	Titânio	Anova	TNOF / NOFSP DI / NOFCM - DI < CS (p<0,05) COIRIM / TNOCI - DI < CS (p<0,05) COIRC DI e CS - NS
Kwon et al. (2005)	Ratos, Sprague-Dawley machos, 4	STZ 70mg/Kg >300mg/dL	28 DI - 28 imp 4 grupos - IT 4 grupos - SIT	Titânio Fêmur	Anova	COIRIM IT > COIRIM SIT (p<0,001) 2, 3 e 4 meses, COIRIM - 1 mês - NS

AOC - área de osso circundante; ACO área de crescimento ósseo EOC - espessura do osso circundante; COI - contato osso implante; DI - diabetes induzida; DOM - densidade do osso medular; COMI - contato osso medular implante; CS - controle saudável; CI - controle diabético com administração de insulina; CSH - controle saudável histórico; imp - implante; OI - osseointegração; VO - volume ósseo; IT - insulino terapia; SIT - sem insulino terapia; TNP - teste não paramétrico; Tit cp - titânio comercialmente puro; TPS Plasma spray de titânio; TNOCI - total de novo osso em contato com o implante; TNOF -total de novo osso formado; NOFSP - Novo osso formado no sítio periosteal; NOFCM - novo osso formado no canal medular; COIRC - Contato osso implante na região cortical; COIRIM Contato osso implante na região intra-medular; TNOCI - total de novo osso em contato com o implante; STZ - Streptozotocina; NE - não especificado; NS - não significativo.

#### Quadro 5 - Estudos de avaliação da cicatrização peri-implantar em ratos com diabetes induzido

## 2.6 Oxigenoterapia hiperbárica

A oxigenoterapia hiperbárica (OTH) consiste na inalação de 100% de oxigênio em um ambiente de pressão elevada >1,5 atmosferas (ATA; 150 KPa), tipicamente de 2 a 3 ATA (200-300 KPa) (Mayer et al., 2005).

Segundo Desola et al. (1998), o primeiro estudo do uso clínico da OTH foi direcionado para o tratamento da doença descompressiva tendo sido publicado em 1939. Posteriormente, nos anos 60, após a demonstração dos efeitos benéficos da OTH na oxigenação tissular e no combate à infecções anaeróbias, novos campos de aplicação puderam ser determinados. Entretanto, como realçado pelos autores, a OTH foi aplicada durante muitos anos sem fundamentos de base científica para sua indicação, muitas delas inadequadas, o que acarretou um lógico desprestígio do papel real desta técnica terapêutica.

No Brasil, o Conselho Federal de Medicina estabeleceu, por meio da Resolução nº 1.457 de 1995, as definições, características e fundamentos da oxigenoterapia hiperbárica reconhecendo este procedimento terapêutico como consagrado nos meios científicos e incorporado ao acervo de recursos médicos, de uso corrente em todo o País. Atualmente, diversas entidades em todo o mundo definem, a partir de dados cientificamente embasados, as indicações e contraindicações para terapia com oxigênio hiperbárico (Conselho..., 2007).

Indicações:

- a) doenças descompressivas;
- b) embolia traumática pelo ar ou embolia gasosa;
- c) envenenamento ou intoxicação por monóxido de carbono, por cianetos e por fumaça de incêndios;

- d) infecções de tecidos moles por bactérias necrotizantes, mistas ou anaeróbias; (mionecroses, fasciites necrotizantes, celulites necrotizantes, gangrena gasosa, Síndrome de Fournier);
- e) isquemias agudas de tecidos moles e membros (síndromes compartimentais, lesões por esmagamento, síndromes de reperfusão pós-traumática e pós-revascularização, enxertos refratários ou comprometidos, deiscências de suturas e reimplantação pós-amputação);
- f) queimaduras térmicas, químicas ou elétricas;
- g) síndrome de surdez súbita;
- h) fase aguda de anemias graves e na impossibilidade de reposição de sangue;
- i) osteomielites refratárias;
- j) lesões e necroses por radiação/radioterapia: lesões actínicas de mucosas, radiodermites e osteorradionecroses;
- k) isquemia retiniana aguda;
- l) pneumoencéfalo;
- m) vasculites agudas de etiologia alérgica, medicamentosa ou por toxinas biológicas (aracnídeos ou ofídios) e vasculites crônicas autoimunes;
- n) lesões de origem isquêmica, infectadas ou não, como úlceras de pele, mal perfurante plantar e demais lesões diabéticas;
- o) processos inflamatórios crônicos com fístulas enterocutâneas como na doença de Crohn, enterorragias por retocolites e colite pseudomembranosa;
- p) abscessos intra-abdominais e intracranianos (Conselho...,2007).

Contraindicações:

- a) pneumotórax não drenado ou história de pneumotórax espontâneo (absoluta);
- b) infecções das vias aéreas superiores / sinusites crônicas;
- c) infecções virais;
- d) cirurgias torácicas prévias recentes;
- e) enfisema pulmonar;
- f) cirurgia otorrinolaringológica recente;
- g) neurite óptica;
- h) gravidez;
- i) idade inferior a dois anos;
- j) terapêutica com doxorubicina (absoluta);
- k) anestesia peridural há menos de seis horas;
- l) esferocitose congênita;
- m) febre alta;
- n) neoplasias;
- o) história de convulsões (Conselho..., 2007).

### ***2.6.1 Princípios físicos básicos relacionados à terapia de oxigênio hiperbárico***

A terra é envolvida por uma camada de gases nomeada atmosfera terrestre. Essa atmosfera exerce uma pressão sobre a superfície do planeta denominada pressão atmosférica que, ao nível do mar, corresponde a 760 mmHg ou uma atmosfera absoluta, ou seja 1 ATA. A pressão de 760 mmHg ou 1 ATA é medida na superfície. Se um corpo sobe, se afastando da terra, será submetido a

uma pressão cada vez menor, ainda que esta redução ocorra muito gradualmente, e se for mergulhado, devido à maior densidade do meio líquido, sofrerá os efeitos de uma pressão cada vez maior, pressão essa que dobra a cada dez metros de profundidade (figura 2).

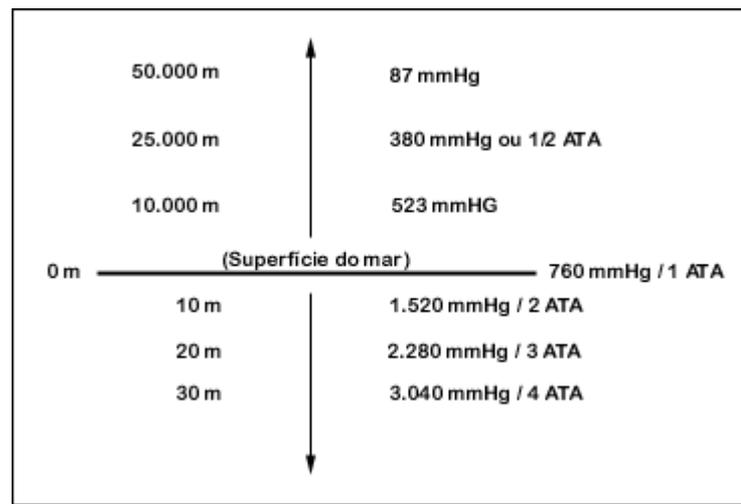


Figura 2 - Variação da pressão em função da altitude e do meio.

Fonte: Instituto..., 2007.

Basicamente, duas leis da física explicam o mecanismo de ação da Oxigenoterapia Hiperbárica (figuras 3 e 4).

A Lei de Boyle - Marriot:

"Sendo constante a temperatura, o volume de um gás varia de forma inversamente proporcional à pressão ambiente".



Figura 3 - Variação do volume em função da pressão

Fonte: Instituto..., 2007

Lei de Henry:

“A quantidade de gás que se dissolve em um meio líquido, é diretamente proporcional à pressão exercida por este gás sobre o líquido”.

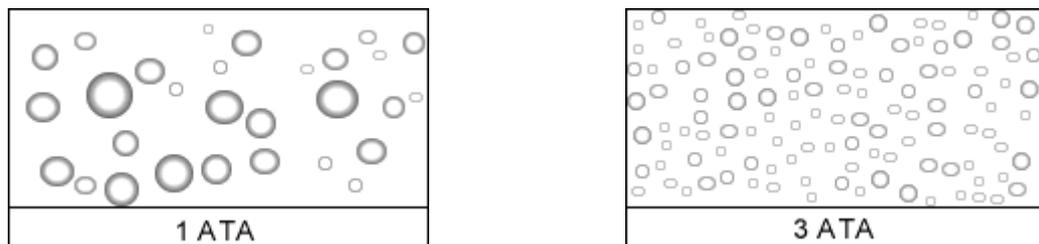


Figura 4 - Variação da pressão e dissolução do gás em meio líquido.

Fonte: Instituto..., 2007.

Segundo dados do Instituto de Oxigenoterapia Hiperbárica do Brasil (2007), o oxigênio ( $O_2$ ) é transportado de duas maneiras pelo sangue: quimicamente, ligado à hemoglobina e fisicamente, dissolvido no plasma. Em condições normais, a quantidade de  $O_2$  transportado na forma dissolvida é praticamente desprezível (0,32%vol) enquanto a maior parte é transportada ligada à hemoglobina 97% de saturação, o que representa um conteúdo total de oxigênio da ordem de 19,5 ml  $O_2$ /100 ml de sangue (ou 19,5%vol), porque 1 g de hemoglobina

saturada carrega 1,34 ml de oxigênio. Quando se administra 100% de oxigênio a 3 ATA o oxigênio dissolvido no plasma chega a 6,8%vol atingindo um volume total de oxigênio no sangue circulante da ordem de 26,9%vol. Em outras palavras, nas condições especificadas, as necessidades totais de oxigênio no organismo - da ordem de 6 a 6,2%vol - podem ser satisfeitas apenas com o O<sub>2</sub> dissolvido no sangue arterial.

Dessa forma, o efeito fisiológico em curto prazo da aplicação da OTH é representado por um aumento da solubilidade do oxigênio nos fluidos tissulares levando a um incremento de sua difusão nos tecidos (Granström, 2004), além de outros efeitos positivos como a redução do edema e da ativação da fagocitose (Sümen et al., 2001; Granowitz et al., 2002).

Nilsson et al. (1988) destacaram que a presença do oxigênio hiperbárico é benéfica para a osteogênese e ocorre devido a fatores secundários como o aumento da síntese de colágeno, síntese de adenosina trifosfato (ATP), formação de capilares e do incremento da atividade osteoblástica e osteoclástica. Neste estudo, os autores avaliaram o efeito da OTH em implantes instalados na tíbia de coelhos demonstrando um efeito positivo da terapia hiperbárica nos aspectos qualitativos e quantitativos do osso peri-implantar neoformado nos grupos caso (com OTH) em comparação com os controles (sem OTH).

Poucas investigações estudaram o efeito da OTH na osseointegração, a maioria destes direcionados para avaliação dos efeitos deletérios da radioterapia no processo de reparo ósseo peri-implantar (Wagner et al., 1998; Xuan et al., 1999). Nilsson et al. (1988) avaliaram o efeito da OTH em implantes instalados na tíbia de coelhos demonstrando um efeito positivo da terapia hiperbárica nos aspectos

qualitativos e quantitativos do osso peri-implantar neoformado nos grupos caso (com OTH) em comparação com os controles (sem OTH).

Sawai et al. (1998) avaliaram o efeito da OTH na osseointegração de implantes de titânio puro usados na fixação de enxertos ósseos autógenos removidos do osso ilíaco e fixados na mandíbula de coelhos. A análise histomorfométrica foi realizada na superfície de contato implante/osso enxertado e na superfície implante osso do hospedeiro. O grupo teste foi submetido a 20 sessões de OTH, uma vez ao dia, durante 60 minutos numa pressão de 2,4 ATM após a cirurgia. Os animais foram sacrificados com 20, 30, 60, 90 e 120 dias pós-cirurgia. Pôde-se demonstrar que entre 30 a 120 dias o grupo tratado com OTH apresentou um maior contato entre o implante e o osso enxertado do que os animais do grupo controle (sem OTH). Já a avaliação do contato implante osso do hospedeiro não apresentou diferença significativa entre os grupos submetidos ou não à OTH. Os autores concluíram que a OTH favoreceu a incorporação dos implantes de titânio puro instalados imediatamente com enxerto de osso autógeno.

Uma avaliação histomorfométrica foi realizada por Johnsson et al. (1999) para avaliar o efeito da OTH nos tecidos peri-implantares de implantes inseridos na tíbia de coelhos logo após a aplicação de radiação. Os resultados demonstraram que a radiação reduz a capacidade de osseointegração dos implantes e que a OTH aumentou, de forma significativa, a formação óssea tanto do osso irradiado como do osso não submetido à radiação, apresentando um efeito especialmente positivo na maturação óssea após a aplicação da radiação.

Chen et al. (1999) avaliaram, por meio da histomorfometria, o efeito da OTH em implantes recobertos por hidroxiapatita instalados em osso irradiado de ratos. Os autores relataram que OTH melhorou, ligeiramente, a formação de osso

trabecular no osso irradiado, acelerou o remodelamento ósseo no osso não irradiado e aumentou o contato osso implante em ambos os grupos. Entretanto, os autores realçam que o estudo, devido ao número reduzido da amostra, não permitiu a aplicação de um método estatístico para análise dos dados.

Muhonen et al. (2004) avaliaram o efeito da OTH na atividade osteoblástica e na neoangiogênese no osso mandibular irradiado de coelhos submetidos à distração osteogênica. Os autores concluíram que a osteogênese e a neovascularização foram marcadamente diminuídas no osso irradiado, tendo a OTH demonstrado um efeito benéfico na atividade osteoblástica e na formação vascular, quase duas vezes maior, quando comparados os grupos teste (irradiados + OTH) e controle (somente irradiados).

Okubo et al. (2001) avaliaram o efeito da OTH na atividade osteoindutora da proteína morfogenética do osso humano recombinante (rhBMP-2) em ratos. Os animais receberam aplicação de rhBMP-2 no músculo da perna e foram divididos de forma aleatória em dois grupos: grupo teste (submetidos a OTH) e grupo controle (sem OTH). Formação de novo osso foi mensurada radiográfica, bioquímica e histologicamente 3, 7 e 21 dias pós-implantação. Nas avaliações pôde-se demonstrar uma formação óssea significativamente maior no grupo submetido à OTH, em comparação aos controles. Da mesma forma, nos dias 7 e 21, a avaliação bioquímica do conteúdo de fosfatase alcalina e cálcio se apresentou superior no grupo de OTH. Os autores concluíram que a OTH acelera o índice de atividade osteoindutiva da rhBMP-2.

O mecanismo exato de atuação da OTH nas células não é completamente compreendido. Segundo Tuncay et al. (1994), em ambiente com baixa tensão de oxigênio, a proliferação celular aumenta, enquanto a atividade da

fosfatase alcalina, a síntese de colágeno e a média da concentração de  $pO_2$  e  $pCO_2$  diminuem. Por outro lado, em condições de hiperoxigenação a proliferação celular é suprimida com concomitante aumento na atividade da fosfatase alcalina, síntese de colágeno e pressão parcial de oxigênio e dióxido de carbono.

Tompach et al. (1997) avaliaram a resposta celular (endoteliais e fibroblastos) na presença de OTH, *in vitro*, pesquisando diferentes níveis de pressão, saturação de oxigênio, duração e frequência à exposição. Foi demonstrado que a OTH provoca um aumento médio da pressão de oxigênio no meio de cultura, levando a um incremento da proliferação das células endoteliais e fibroblastos. O aumento da proliferação das células endoteliais ocorre após 15 minutos da exposição, enquanto os fibroblastos requereram 120 minutos para produzirem uma resposta incremental. Pôde-se também observar que uma segunda exposição das células ao OTH, no mesmo dia, não apresentou efeitos adicionais na proliferação celular. Finalmente, os autores demonstraram que a exposição dos fibroblastos durante 120 minutos provocou estimulação de sua proliferação por um período de 72 horas e que variações de pressão de 2,4 ATM para 4,0 ATM não alterou a resposta proliferativa.

Em estudo com osso irradiado, um efeito sinérgico entre a OTH e o fator de crescimento básico para fibroblastos (bFGF) foi observado por Wang et al. (1998). Conforme Granström (2004), os fatores que podem estar envolvidos na proteção do osso pelo bFGF e pela OTH são a radioproteção da medula óssea, indução dos removedores de radicais do oxigênio e produção de diferentes citocinas. A OTH e o bFGF podem ainda, segundo o mesmo autor, melhorar o nível do fator de crescimento semelhante à insulina, o qual promove a proliferação e diferenciação do osteoblasto. Além desses aspectos, pode-se ter uma atuação nas

células óssea progenitoras, por meio da promoção da síntese de DNA, estimulando as enzimas envolvidas na formação óssea. Assim, a OTH pode desempenhar um papel na osseointegração por afetar o metabolismo celular ósseo, a interface do implante e a rede vascular no leito do implante.

Gokce et al. (2007) avaliaram o efeito da OTH na remodelação óssea durante a movimentação ortodôntica em ratos. Os autores relataram que, a partir da análise histomorfométrica, pode-se demonstrar que os animais submetidos à OTH apresentaram uma maior deposição óssea em comparação aos controles durante a movimentação ortodôntica suportando a hipótese de que a atividade osteoblástica pode ser modulada pela concentração tecidual de oxigênio.

Yasuda et al. (2007) avaliaram o efeito da OTH nos níveis de concentração de glicose e insulina nas fibras musculares esqueléticas de ratos Goto-Kakizati com diabetes espontânea do tipo 2. Os animais foram expostos a um ambiente hiperbárico (1,25 de pressão atmosférica) com uma elevada concentração de oxigênio (36%) por seis horas diárias durante quatro semanas e os níveis de glicose e insulina avaliados após este período. Os autores relataram que o aumento dos níveis de glicose foi inibido pela exposição à OTH e que os níveis de insulina também se apresentaram mais baixos quando comparados com os animais do grupo controle. Os autores sugeriram que a OTH pode representar uma nova abordagem para tolerância à glicose, resistência à insulina e alterações no metabolismo do músculo esquelético causadas pelo Diabetes Mellitus.

Williamson (2007) avaliou o efeito da OTH em longo prazo no desenvolvimento dos dentes, glândulas salivares e do tecido ósseo mandibular após doses terapêuticas de radiação em ratos. Os animais receberam após uma semana da aplicação da radiação quatro semanas de OTH (grupo teste) - 20 sessões diárias

a 100% de oxigênio e 2,4 atmosferas durante 90 minutos e foram sacrificados depois de quatro e oito semanas, tendo suas mandíbulas removidas e os tecidos avaliados histologicamente. Os resultados demonstraram que a OTH apresentou resultados positivos no desenvolvimento dos dentes, na quantificação dos ácinos das glândulas salivares e na porcentagem de lacunas ósseas ocupadas por osteoblastos estatisticamente comparáveis aos do grupo controle. O autor concluiu que a OTH reduz os efeitos deletérios nos tecidos saudáveis submetidos à radiação em mandíbula de ratos.

### **3 PROPOSIÇÃO**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito da oxigenoterapia hiperbárica no reparo ósseo peri-implantar em ratos com diabetes induzido.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Analisar a variação de peso nos animais saudáveis e com diabetes induzido durante o estudo em função do uso de OTH.

Avaliar a variação dos níveis de glicose sanguínea nos animais saudáveis e com diabetes induzido durante o estudo em função do uso de OTH.

Determinar os níveis de osseointegração a partir da avaliação histométrica do contato osso / implante em animais saudáveis e com diabetes induzido submetidos ou não à aplicação da OTH.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

O presente experimento foi desenvolvido em ratos Wistar (*Rattus Norvegicus*) no biotério da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Campus Coração Eucarístico em Belo Horizonte. Os animais passaram por um período inicial de ambientação de uma semana e foram mantidos, durante todo o experimento, em condições ideais de temperatura (22°C) com controle de umidade relativa (50 a 60%), em um ciclo nictemeral (12 horas de luz / 12 horas de escuro) com água e ração (Nuvilab) ad libitum.

### **4.1 Aspectos éticos**

O projeto de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Animal (CETEA) da Faculdade de Odontologia e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic (Anexo A).

### **4.2 Plano amostral - desenho do estudo**

Os seguintes grupos foram estudados:

- a) G1 - animais saudáveis sem OTH;
- b) G2 - animais saudáveis submetidos a 10 sessões de OTH antes da implantação;
- c) G3 - animais saudáveis submetidos a 10 sessões de OTH depois da implantação;
- d) G4 - animais com diabetes induzido sem OTH;

- e) G5 - animais com diabetes induzido submetidos a 10 sessões de OTH antes da implantação;
- f) G6 - animais com diabetes induzido submetidos a 10 sessões de OTH depois da implantação.

Cada grupo foi constituído de oito ratos Wistar, machos com seis meses de idade, com peso médio de 273 g, totalizando 48 animais. Os animais foram divididos de forma aleatória nos diversos grupos e, imediatamente, identificados por números de acordo com o grupo a que pertenciam sendo alojados em caixas individuais plásticas devidamente identificadas e separadas por grupos.

### 4.3 Indução do diabetes

Foi seguido o protocolo de indução química do diabetes através de injeção intraperitoneal de Alloxan monohidratado<sup>1</sup> 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 controle receberam apenas 1 mL de solução salina fisiológica pela mesma via de aplicação (Andersen et al., 2007). Os níveis de glicose sanguínea foram avaliados a partir de amostras de sangue coletado da artéria caudal dos animais. Por meio de uma perfuração com uma lanceta<sup>2</sup> apropriada, foi coletada uma gota de sangue em uma fita<sup>3</sup> receptora e esta imediatamente acoplada ao glicosímetro<sup>4</sup> fornecendo assim o nível glicêmico. As amostras de sangue foram coletadas no momento da indução do diabetes, sete dias após, no momento da cirurgia de instalação dos implantes e, finalmente, no dia do sacrifício dos animais (Pablos, 2003; Spainhemer,

---

<sup>1</sup> Sigma Chemical Co.®, St. Louis, MO

<sup>2</sup> Thin Lancets (MediSence UK Ltd.®, Abingdon, Oxon, U.K.)

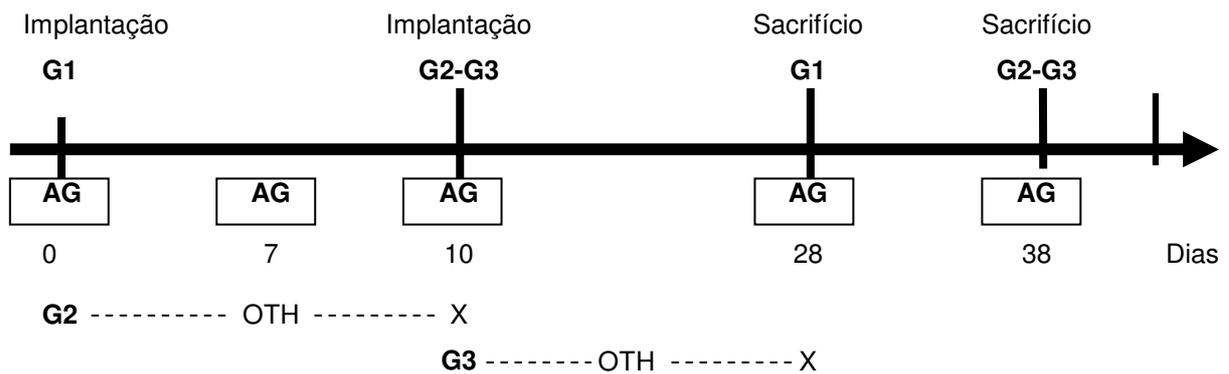
<sup>3</sup> Blood Glucose Test Strip (Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.)

<sup>4</sup> Optium X-ceed (Abbott Diabetes Care Ltd.®, Witney, Oxon, U.K.)

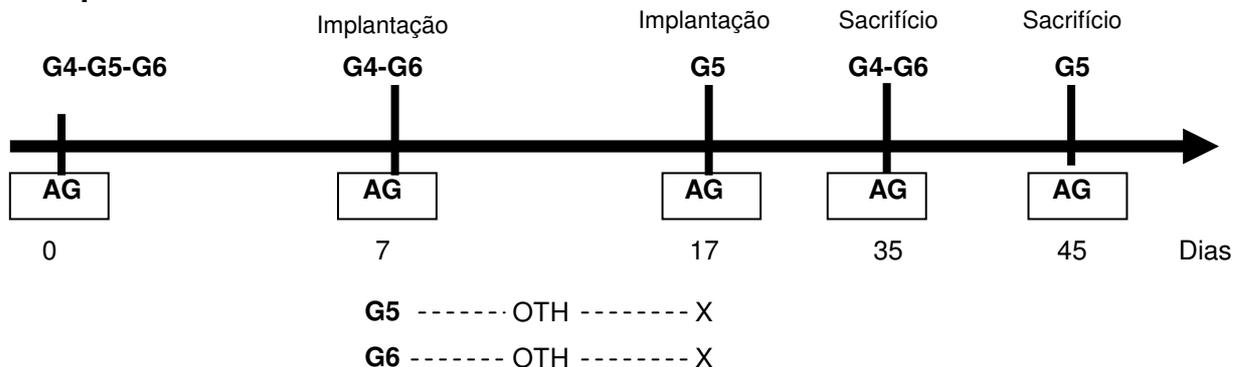
1988). Os animais com diabetes induzido foram considerados incluídos no experimento quando apresentaram glicemia acima de 270 mg/dl. Paralelamente à avaliação glicêmica foi realizada a pesagem dos animais para adequação das concentrações das diversas drogas utilizadas durante as diferentes fases do experimento. A figura 5 mostra o fluxograma do desenho do estudo.

Todos os dados foram registrados em fichas específicas conforme as características intrínsecas de cada grupo.

### Grupos Controle - Saudáveis



### Grupos Teste - Diabetes



Indução diabetes  
AG - Avaliação glicêmica  
OTH - Oxigenoterapia Hiperbárica

Figura 5 - Fluxograma do estudo

#### 4.4 Técnica cirúrgica para colocação dos implantes

Os implantes foram instalados nos grupos teste (diabetes induzido G4 e G6) imediatamente após a confirmação do estado diabético e no grupo 5 após 10 sessões de OTH (figura 5). A técnica cirúrgica seguiu os princípios gerais operatórios para colocação dos implantes, tanto nos aspectos técnicos como nos de biossegurança e éticos. Esses podem ser resumidos da seguinte forma:

- a) **pré-anestesia e anestesia** - como medicação pré-anestésica foi utilizado o sulfato de atropina<sup>5</sup> (0,044 mg/Kg - via subcutânea) 10 minutos antes da anestesia. A anestesia foi executada por via intramuscular com 1 mL de Cloridrato de ketamina<sup>6</sup> (50 mg) misturado a 1 mL de xilazina<sup>7</sup> 2% (20 mg) sendo a dose empregada de 0,2 mL/100 g peso. Esta medicação propiciou a manutenção do plano anestésico de 40 a 60 minutos e pôde, caso necessário, ser complementada durante a cirurgia experimental (Schanaider, Silva, 2004);
- b) **assepsia e antisepsia** - inicialmente foi realizada tricotomia na região a ser implantada (ântero-medial do fêmur direito), e desinfecção por meio da aplicação tópica de polivinilpirrolidona-iodo (PVPI)<sup>8</sup>;
- c) **cirurgia** - foi realizada uma incisão com lâmina de bisturi número 15<sup>9</sup> na região ântero-medial do fêmur direito com divulsão dos tecidos moles e cuidadoso afastamento do periósteo até exposição da superfície óssea do fêmur. O preparo dos leitos receptores para os parafusos foi realizado com broca<sup>10</sup> de 1,3 mm de diâmetro acoplada a um contra-ângulo com redução

<sup>5</sup> Atropina1%Calbos (Laboratório Calbos Ltda, Curitiba, Paraná, Brasil)

<sup>6</sup> Vetanarcol (Laboratório König S.A, Avellaneda, Argentina)

<sup>7</sup> Dopaser (Laboratório Calier S.A, Barcelona, Espanha)

<sup>8</sup> Rioquímica, Rio de Janeiro, Brasil

<sup>9</sup> Solidor, Importadora Lamedid, São Paulo, Brasil

<sup>10</sup> NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil

de 1:16 a uma velocidade de 900 rpm e abundante irrigação com solução fisiológica;

- d) um parafuso autorroscante<sup>11</sup>, fabricado com titânio tipo IV, de 1,5 mm de diâmetro e 6 mm de comprimento foi colocado perpendicularmente ao longo, e considerado adequado, quando a cabeça deste encostou-se ao tecido ósseo e apresentou estabilidade inicial (figura 6 e 7).



Figura 6 - Leito receptor preparado

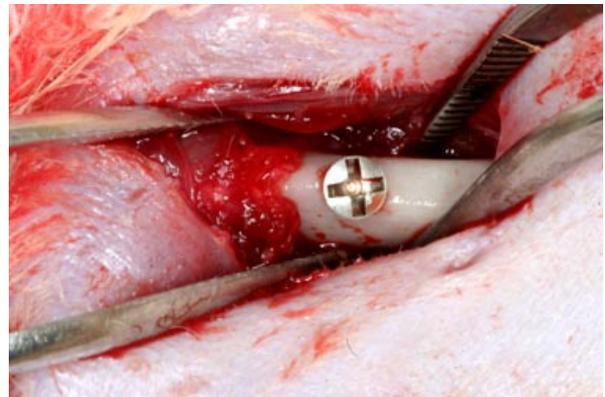


Figura 7 - Parafuso inserido

A sutura foi executada procurando-se a perfeita coaptação das bordas da ferida com pontos simples isolados de nylon monofilamento 5.0<sup>12</sup>. Os pontos foram removidos após sete dias. No pós-operatório imediato os animais receberam uma dose única de tetraciclina<sup>13</sup> por via intramuscular e paracetamol (10 mg/kg)<sup>14</sup> em gotas diluídas em água de 8/8 horas durante dois dias (Ottoni, Choupard, 2004). Após 28 dias da implantação os animais foram sacrificados a partir da aplicação de uma overdose de Cloridrato de Ketamina (300 mg/Kg) (Ottoni, Choupard, 2004) e os fêmures processados para análise histológica.

<sup>11</sup> NEODENT®, Curitiba, Paraná, Brasil

<sup>12</sup> Biosut Ltda., Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

<sup>13</sup> Bristol Myers Squibb, São Paulo, Brasil

<sup>14</sup> Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil

#### 4.5 Aplicação oxigênio hiperbárico

A aplicação do oxigênio hiperbárico foi realizada em uma autoclave vertical, especialmente adaptada para funcionar como câmara hiperbárica. Esta foi ligada a uma bala de oxigênio e o controle de funcionamento executado por um programa de computador<sup>15</sup> especialmente desenvolvido para o estudo, com monitorização da pressão, temperatura e umidade dentro do aparelho (figuras 8, 9 e 10).



Figura 8 - Vista lateral da câmara hiperbárica aberta

Figura 9 - Computador de controle de automação da câmara hiperbárica

---

<sup>15</sup> Pentium III 1,3 Mhz Windows Xp



Figura 10 - Vista interior da câmara hiperbárica

Os grupos controle e teste foram submetidos à OTH de acordo com as especificações de cada grupo. Os grupos G2 e G5 receberam 10 sessões de OTH antes da implantação, enquanto os animais pertencentes aos grupos G3 e G6 receberam 10 sessões de OTH pós-implantação. Os animais foram colocados em recipientes apropriados (caixas plásticas com espaços individualizados) e acomodados dentro da câmara hiperbárica. O processo seguiu o protocolo de aumento gradual da pressão e concentração de oxigênio com controle de temperatura e umidade desde a condição normobárica (ambiental) até o final do processo. A fase 1 (inicial) teve duração de 15 minutos, começando em condições normobáricas e aumentando de maneira gradativa até atingir níveis de pressão e concentração de O<sub>2</sub> programados (2,0 ATM e 100% saturação de O<sub>2</sub>). A fase 2 (terapêutica) manteve durante 60 minutos as condições especificadas. Na fase 3 (descompressão) ocorreu a diminuição controlada das variáveis durante 15 minutos até igualar as condições ambientais. Imediatamente ao final do ciclo os animais foram reconduzidos às caixas individuais com alimento e água.

O grupo G1 (animais saudáveis sem oxigenoterapia hiperbárica) e o G4 (animais com diabetes induzida sem oxigenoterapia induzida) foram, também, colocados na câmara em condições normobáricas e mantidos por igual período de tempo dos demais grupos submetidos à OTH.

## **4.6 Análise histomorfométrica**

### **4.6.1 Preparo das lâminas**

Como exposto, após 28 dias da implantação os animais foram sacrificados e os fêmures criteriosamente limpos e cortados a 5 mm de distância das bordas da cabeça do parafuso com um disco diamantado<sup>16</sup> sob refrigeração e imediatamente acondicionados em frascos identificados de forma a ficarem totalmente submersos em solução de formol tamponado a 10%.

No Laboratório de tecidos minerais do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) II da Universidade de São Paulo (USP) as amostras foram inseridas e imersas em recipientes próprios para a inclusão, isentos de luz contendo resina glicolmetacrilato Technovit® 7200 VLC<sup>17</sup> sendo mantidas sob agitação constante para que o material resinoso pudesse penetrar na amostra de forma homogênea. A sequência e o tempo de imersão nas diferentes soluções permitem a substituição periódica do álcool etílico pela resina glicolmetacrilato (quadro 6).

---

<sup>16</sup> Talladium do Brasil, Curitiba, Paraná Brasil

<sup>17</sup> Kulzer & Co, Wehrhein, Alemanha

Embebição	Technovit 7200 VLC	Etanol	Tempo de embebição
Solução 1	<b>30%</b>	<b>70%</b>	<b>72 h</b>
Solução 2	<b>50%</b>	<b>50%</b>	<b>72 h</b>
Solução 3	<b>70%</b>	<b>30%</b>	<b>72 h</b>
Solução 4	<b>100%</b>	<b>0%</b>	<b>1 semana</b>
Solução 5	<b>100%</b>	<b>0%</b>	<b>1 semana</b>

Quadro 6 - Sequência de embebição, iniciada pela solução 1 e terminada com a solução 5, com o intuito de substituir o etanol proveniente da sequência de desidratações pelo glicolmetacrilato Technovit 7200 VLC para inclusão.

Na última etapa de inclusão as formas foram preenchidas com glicolmetacrilato Technovit® 7200 VLC a 100% e a polimerização foi obtida com a aplicação de foco de luz Histolux cujo aparelho de polimerização<sup>18</sup> mantinha um resfriamento por água e tempos de polimerização adequados. O processo de polimerização foi desenvolvido em duas etapas:

- a) polimerização inicial com luz de cor amarela, de modo a se desencadear uma polimerização gradual prevenindo trincas na resina, durante um período pré-determinado de aproximadamente quatro horas;
- b) a polimerização final foi conseguida com o uso de luz azul, durante período de 90 horas.

Terminada a polimerização, o material foi preparado para a histologia.

<sup>18</sup> Kulzer & Co. Wehrein, Alemanha

#### **4.6.2 Processamento para microscopia de luz**

Para obter as secções da amostra, esta foi colada em uma haste de acrílico e posicionada em um aparelho de serra em forma de fita<sup>19</sup>, com a utilização de uma garra mecânica. O bloco de resina foi então cuidadosamente aproximado da fita de diamante, já na distância da espessura desejada, utilizando um dispositivo micrométrico de parafuso, que definia a espessura a ser cortada de todo o conjunto lâmina/bloco de resina. Foi escolhida a espessura de 220 µm e com resfriamento obtido por água corrente abundante, a amostra foi exposta à fita (100 µm de espessura e com extremidade efetiva impregnada com diamante) sendo cortada sob pressão constante.

Dessa maneira, de cada parafuso obtinha-se uma a duas secções paralelas ao longo eixo do mesmo. As lamínulas obtidas foram então coladas em lâminas de “plexiglas” com prensa colante de precisão da “Exakt Gerätebau” utilizando resina fluida auto e fotopolimerizante Technovit® 7210 VLC<sup>20</sup>. Após 10 minutos de polimerização, o material foi adaptado à politriz metalográfica digital, onde se realizou o processo de desbaste e polimento com o uso de lixas d’água com granulação inicial 800 mesh. Este procedimento era seguido de polimento com lixas de granulação 1.200, 2.400 e 4.000 mesh. O objetivo era o de atingir cortes que fornecessem lâminas a serem examinadas com 30-50 µm.

Após estes procedimentos as lâminas foram examinadas em microscópio de luz polarizada e as imagens captadas nos aumentos de 2 e 10 vezes para realização da histometria (figuras 11 e 12). As medições foram realizadas na porção cortical do osso e duas áreas foram avaliadas em relação ao contato osso implante

---

<sup>19</sup> EXAKT cutting equipment, Exakt Apparatebau, Norderstedt, German.

<sup>20</sup> EXAKT Technologies Inc.

(COI). A área A foi definida como a distância do final da cabeça do implante e o início da primeira rosca do lado direito do parafuso, enquanto a área B seguiu as mesmas distâncias do lado esquerdo do parafuso (figuras 13 e 14). A histometria foi realizada pelo programa Image J 1.4.

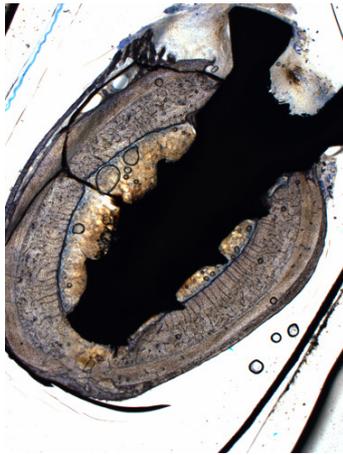


Figura 11 - Aumento de 2X

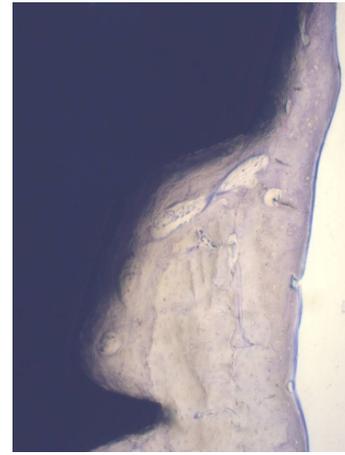


Figura 12 - Aumento de 10X

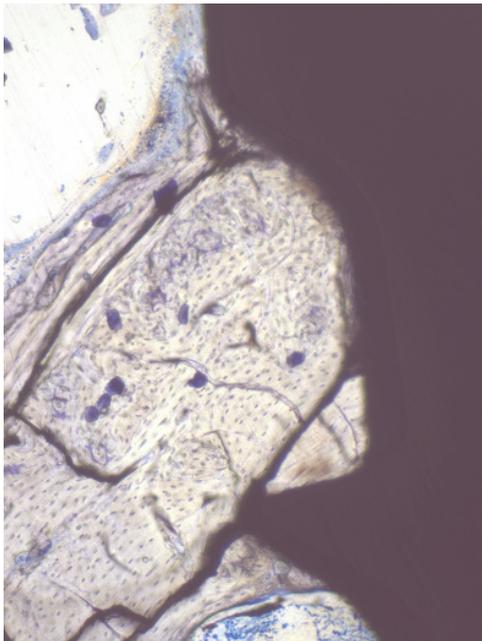


Figura 13 - Osseointegração total

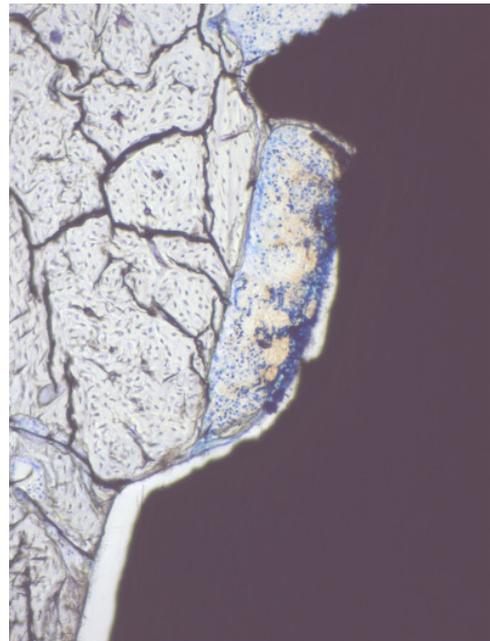


Figura 14 - Falta de osseointegração

#### 4.7 Análise estatística

O ensaio foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com seis repetições por grupo experimental. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 2x3, sendo duas condições de saúde: saudáveis e diabéticos e três relativas a aplicação de OTH, constituindo, então, seis grupos experimentais.

Para verificar a variação de peso em relação à condição de saúde e a variação de glicose sanguínea, entre os grupos saudáveis e diabéticos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para analisar a variação de peso em relação à condição de saúde e aplicação da OTH e a variação de glicose sanguínea nos grupos diabéticos. Para o estudo da variável resposta, grau de osseointegração (COI), foi realizada análise de variância e a comparação das médias, utilizando-se o teste t de *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).

## 5 RESULTADOS

A tabela 1 e o gráfico 1 apresentam os resultados da média de variação de peso (gramas) nos diversos grupos durante o estudo em relação à condição de saúde e à aplicação da OTH. Observa-se que no grupo de animais saudáveis ocorreu uma discreta perda de peso sem, contudo, apresentar diferenças significativas entre os grupos independentemente da dose e/ou período de aplicação da OTH. Já nos grupos de animais diabéticos a perda de peso foi consideravelmente maior em relação aos saudáveis sem, da mesma forma, apresentar diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Quando comparados os animais saudáveis e diabéticos em cada dose e/ou período de aplicação da OTH pôde-se observar que sem aplicação da OTH saudáveis são estatisticamente superiores, apresentando em média ganho de peso em relação aos diabéticos ( $p < 0,0001$ ). Quando comparados os animais depois da aplicação da OTH os saudáveis são estatisticamente superiores por apresentar uma perda de peso média estatisticamente menor do que nos diabéticos ( $p < 0,0001$ ). Já entre saudáveis e diabéticos, que receberam aplicação da OTH antes da cirurgia, não foi constatada diferenças significativas.

Tabela 1 - Médias da variação de peso em relação à condição de saúde e aplicação da OTH.

Dose O <sub>2</sub> /saúde*	Saudáveis	Diabéticos
Sem	5,00 a A	-45,00 b A
Antes	0 a A	-40,00 a A
Depois	-7,5 a A	-76,25 b A

\*Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas distintas diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,0001$ )

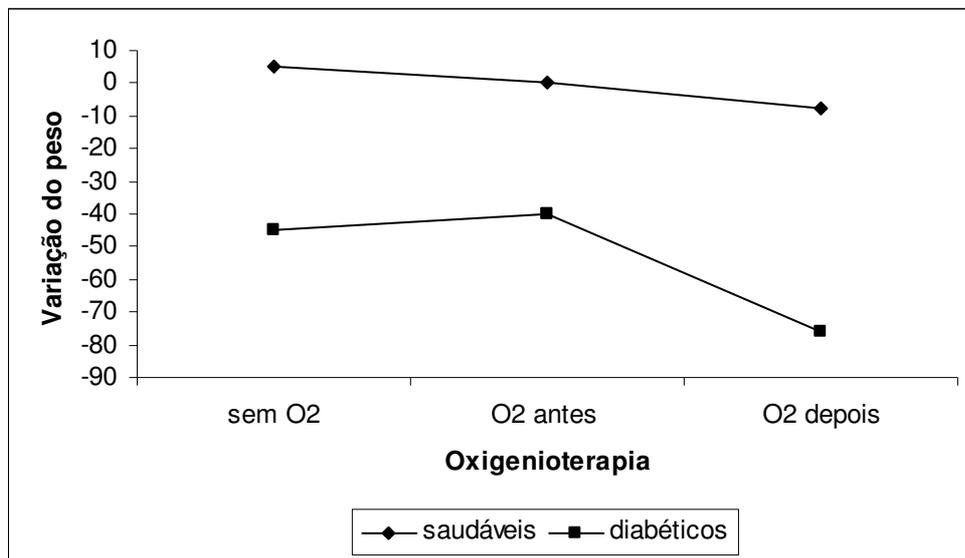


Gráfico 1 - Variação do peso em função da condição de saúde e da aplicação da OTH

A tabela 2 apresenta os resultados da média de variação dos níveis de glicose sanguínea nos grupos, saudáveis e diabéticos, demonstrando diferença significativa entre eles ( $p < 0,0001$ ), independentemente, da dose/período de aplicação da OTH utilizado, ou seja, para qualquer dose/período estudado saudáveis apresentam uma variação média de glicose estatisticamente inferior quando comparado com diabéticos.

Tabela 2 - Médias da variação de glicose sanguínea entre os grupos saudáveis e diabéticos

Grupos	Médias*
Saudáveis	44,59 a
Diabéticos	308,78 b

\*Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Mann-Whitney ( $p < 0,0001$ )

A tabela 3 demonstra as médias de variação de glicose sanguínea para os grupos diabéticos induzidos. Pode-se observar que não ocorreu diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) entre os grupos independentemente da dose/período de aplicação da OTH.

Tabela 3 - Médias da variação de glicose sanguínea nos grupos diabéticos

Grupos	Médias*
O <sub>2</sub> antes	294 a
sem O <sub>2</sub>	310 a
O <sub>2</sub> depois	341,12 a

\*Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Kruskal -Wallis ( $p < 0,0001$ )

Verifica-se na tabela 4 que a variável % de contato osso/implante (COI) apresentou distribuição de probabilidade normal pelo Lilliefors e homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Por esses motivos pode ser feita uma análise de variância seguida de um teste de médias para essa resposta.

Tabela 4 - Testes de Lilliefors e de Bartlett

	Valor calculado	Valor tabelado (P=0,01)
Teste de Lilliefors	4,6911	18,475
Testes de Bartlett	0,0738	0,137

A tabela 5 apresenta os resultados relativos à análise de variância. Pode-se observar pelo teste F que houve diferença estatística entre as condições de saúde ( $p=0,0074$ ) e diferenças não significativas para aplicação de OTH ( $p=0,2856$ ) e na interação ( $p=0,8150$ ).

Tabela 5 - Análise de variância dos valores de contato osso/implante em relação aplicação de OTH e a condição de saúde

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
COND. SAUDE	1	5723.421662	5723.421662	8.023	0.0074
OXIG	2	1850.066564	925.033282	1.30	0.2856
SAUDE OXIG	2	293.587919	146.793960	0.21	0.8150
Erro	37	26396.502425	713.418984		

Pela tabela 6 pode-se notar que existe uma interação entre os fatores que não foi identificada pelo teste F. Quando se comparou os grupos saudáveis e diabéticos, sem a aplicação de OTH, verificou-se diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos demonstrando que o estado diabético alterou negativamente a média de porcentagem de COI de 59,85% nos saudáveis para 30,47% nos diabéticos.

Na análise intragrupo dos animais saudáveis nota-se que não houve diferença estatística entre os grupos, ou seja, a aplicação de OTH não teve influência na média de porcentagem de COI - 59,85% sem OTH, 70,03% OTH antes e 65,37% OTH depois. O mesmo comportamento pode ser observado nos grupos de animais diabéticos com média de porcentagens de COI de 30,47% nos animais sem OTH, 51,39% com aplicação anterior à cirurgia e 47,18% nos animais com OTH após a colocação dos implantes também sem significância estatística.

Quando comparados os grupos saudáveis e diabéticos submetidos à OTH observou-se que não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre eles demonstrando que a aplicação de oxigênio hiperbárico antes (70,03% - 51,39%) e depois da implantação (65,37% - 47,18%) elevou a média da porcentagem de COI nos animais diabéticos, tornando-os estatisticamente comparáveis aos animais saudáveis, independentemente do período de aplicação da OTH.

Tabela 6 - Médias de porcentagem de contato osso/implante nos diferentes grupos

OTH*	Saudáveis	Diabéticos
Sem	59,85 aA	30,47 bA
Antes	70,03 aA	51,39 aA
Depois	65,37 aA	47,18 aA

\*Médias seguidas de letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas distintas diferem significativamente pelo teste de t (P <0,05)

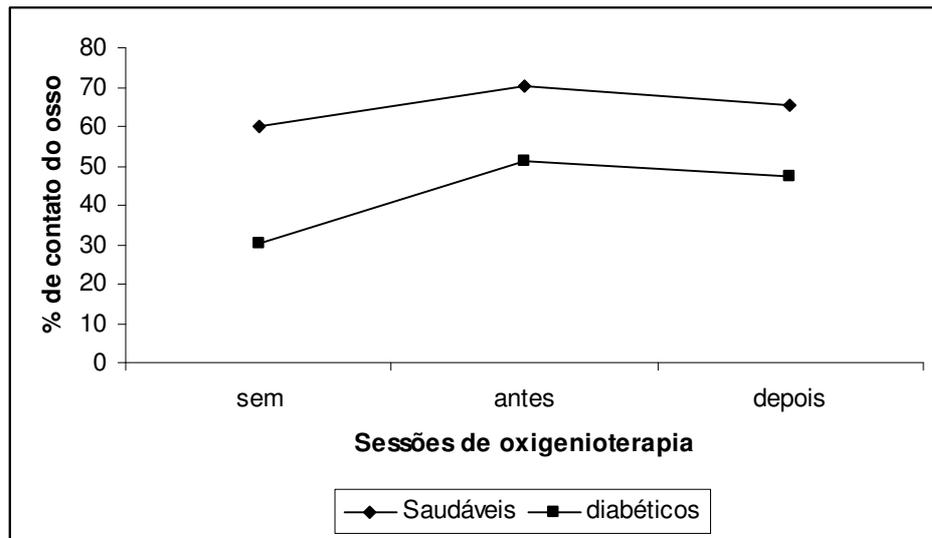


Gráfico 2 - Variação dos valores da % de contato osso/implante segundo a aplicação de OTH e a condição de saúde dos animais

## 6 DISCUSSÃO

Os indivíduos diabéticos representam uma parcela significativa da população. Estimativas da OMS, em 2001, informam um número entre 150 e 200 milhões de pessoas diabéticas no mundo, e está prevista a duplicação dessas taxas nas próximas décadas (Zimmet et al., 2001), devendo atingir mais de 366 milhões de pessoas em 2030 (Wild et al., 2004). A Sociedade Brasileira de Diabetes estima uma prevalência entre 10 e 11% na população brasileira com projeções para 2030 do acometimento de 11,3 milhões de pessoas (Wild et al., 2004).

A insulina é um hormônio importante na síntese da matriz óssea que atua de forma direta estimulando o osteoblasto na síntese da matriz e indiretamente ativando a produção do fator de crescimento semelhante à insulina no fígado. Esse fator aumenta a síntese da matriz por dois mecanismos: aumentando o número de osteoblastos presentes e regulando a função dos osteoblastos diferenciados (Nevins et al., 1998).

Entre as teorias que explicam como a hiperglicemia crônica provoca danos celulares e teciduais observados no DM, a formação dos AGEs é considerada uma das mais relevantes. Esses produtos têm caráter cumulativo nos tecidos e guardam correlação com o aumento dos níveis de glicose e com o tempo de exposição, sugerindo que pequenas variações nos níveis glicêmicos podem afetar a concentração dos AGEs nos tecidos (Lalla et al., 1998, 2001). Essas variações causam alterações qualitativas e quantitativas nos componentes da matriz extracelular, como colágeno, laminina e vitronectina, com reflexos marcantes na reparação peri-implantar (Weis et al., 1981; Spanheimer, 1988).

As diversas fases do reparo tecidual ao redor dos implantes pode ser modificada pelo acúmulo dos AGEs desde a formação do coágulo (modificações nas proteínas da cicatrização), no período de reabsorção (número diminuído de osteoclastos), durante a formação da matriz (inibição da formação do coágulo), na etapa de deposição e mineralização do osteoide (número diminuído de osteoblastos) e, finalmente, na fase de manutenção da osseointegração: renovação óssea reduzida, alteração na homeostasia óssea, modificação do estado diabético (Fiorellini, Nevins, 2005).

Nos dias atuais, permanece a controvérsia sobre a influência do DM na perda de implantes. Estudos retrospectivos observaram índices de sucesso da terapia com implantes em diabéticos próximos aos não diabéticos, 94,3% (Balshi, Wolfinger, 1999) e 85,6% (Fiorellini et al., 2000). No entanto, deve-se ressaltar que outros estudos demonstraram que a taxa de sucesso diminui após um ano de tratamento (Shernoff et al., 1994; Fiorellini et al., 2000; Morris et al., 2000; Olson et al., 2000) sugerindo que o risco para a perda de implantes em diabéticos está relacionada com as fases de reabertura e de início da aplicação de carga mecânica (Beikler, Flemming, 2003). De acordo com Olson et al. (2000), esse fato pode indicar que as alterações microvasculares decorrentes do estado hiperglicêmico podem diminuir a resposta imune e a remodelação óssea, contribuindo para a perda do implante.

Segundo Kwon et al. (2005) metade dos indivíduos diabéticos desconhece o status de sua doença sugerindo que pacientes que se submeteram à colocação de implantes e tornaram-se diabéticos em idade mais avançada têm maior risco de perda de implantes do que os não diabéticos.

A OTH consiste na inalação de 100% de oxigênio em um ambiente de pressão elevada >1,5 atmosferas (ATA; 150 KPa), tipicamente de 2 a 3 ATA -200-300 KPa (Mayer et al., 2005). O efeito fisiológico em curto prazo da aplicação da OTH é representado pelo aumento da solubilidade do oxigênio nos fluidos tissulares levando ao incremento de sua difusão nos tecidos (Granström, 2004).

Muito embora os mecanismos de ação da OTH não sejam completamente elucidados vários estudos têm demonstrado seu efeito benéfico em situações diversas, tais como no reparo ósseo peri-implantar de tecidos expostos à radiação, com melhoria nos aspectos quali/quantitativos dos tecidos neoformados (Nilsson et al., 1988; Chen et al., 1999; Johnsson et al., 1999), na distração osteogênica (Muhonen et al., 2004), na atividade osteoindutora da proteína morfogenética do osso humano recombinante (Okubo et al., 2001), na proliferação de células endoteliais e fibroblastos (Tompach et al., 1997), no aumento do fator de crescimento semelhante à insulina e proliferação/diferenciação do osteoblasto (Granström, 2004) e na remodelação óssea durante a movimentação ortodôntica (Gokce et al., 2007).

O presente estudo avaliou o efeito da OTH no reparo ósseo peri-implantar em ratos com diabetes induzido por aloxano a partir da análise histométrica. Pode-se demonstrar que o reparo ósseo peri-implantar foi afetado negativamente no modelo de diabetes induzido como demonstrado nas diferentes porcentagens do COI entre o grupo saudável (59,85%) e o diabético (30,47%). Esses achados estão de acordo com outros estudos que utilizaram o aloxano como agente indutor do estado diabético (Siqueira et al., 2003; Ottoni, Chopard, 2004) ou a Streptozotocina (Takeshita et al., 1997a, 1998; Nevins et al., 1998; Fiorellini et al., 1999; McCracken et al., 2000; Kwon et al., 2005).

Pôde-se também verificar que a aplicação de OTH mostrou efeito benéfico nos grupos de animais diabéticos elevando as taxas de COI a níveis estatisticamente semelhantes a dos animais saudáveis. Esses achados estão em concordância com os resultados positivos da aplicação de OTH no reparo dos tecidos peri-implantares demonstrados em animais por Nilsson et al. (1988), Johnsson et al. (1999) e Chen et al. (1999).

A histomorfometria tem sido o método mais utilizado para avaliação da osseointegração nos estudos em animais. Entretanto, diferenças consideráveis nos objetivos e nos variados aspectos do material e do método utilizados nas pesquisas dificultam a comparação entre os resultados, por isso é recomendável que essas pesquisas sejam analisadas com critério.

Com relação ao tipo de tratamento da superfície dos implantes, o presente estudo utilizou implantes com superfície de titânio comercialmente puro como Takeshita et al. (1998), McCracken et al. (2000), Giglio et al. (2000), Ottoni, Chopard (2004) e Kwon et al. (2005), enquanto a superfície com tratamento de hidroxiapatita foi avaliada nas investigações de Takeshita et al. (1997a), Iyama et al. (1997), a superfície com jateamento/ácido na pesquisa de Siqueira et al. (2003) e o tratamento de superfície de titânio plasma spray analisado por Nevins et al. (1998) e Fiorellini et al. (1999).

Outro aspecto a ser considerado é o tempo esperado até o sacrifício dos animais, o que pode influenciar na porcentagem de COI, pois o nível de osseointegração guarda relação com as condições de saúde e o tempo decorrido de cicatrização. A maioria dos estudos com diabetes induzido em ratos utiliza um período mínimo de 28 dias para o sacrifício dos animais e a descrição dos resultados assim como no presente estudo (Iyama et al., 1997; Nevins et al., 1998;

Fiorellini et al., 1999; Kwon et al., 2005) enquanto McCracken et al. (2000) utilizaram um tempo menor de 14 dias. Conforme os relatos de Ottoni & Chopard (2004) o período de maior índice osteogênico inicia-se na quarta semana e termina por volta da quinta semana pós-implantação. Entretanto, outras investigações fazem a análise em períodos pós-implantação variáveis como Takeshita et al. (1998) em 7, 28, 56 e 84 dias; Giglio et al. (2000) em 14 e 30 dias, e Siqueira et al. (2003) em 10 e 21 dias.

O local de inserção dos implantes também deve ser considerado. Neste estudo, os implantes foram inseridos no fêmur dos ratos como nas investigações de Nevins et al. (1998), Fiorellini et al. (1999); Kwon et al. (2005), enquanto os experimentos de Iyama et al. (1997), Takeshita et al. (1997a, 1997b, 1998), McCracken et al. (2000), Siqueira et al. (2003), Ottoni & Chopard (2004) realizaram a implantação na tíbia dos animais. De acordo com Gerritsen et al. (2000) resultados de estudos que utilizaram implantes em ossos com origens osteogênicas diferenciadas, tíbia/fêmur (endocondral) e mandíbula/maxila, preferencialmente, intramembranosa necessitam de mais esclarecimentos.

Com relação à variação de peso dos animais, pode-se demonstrar que os grupos saudáveis apresentaram discreta perda de peso durante o experimento sem, contudo, constituir diferença estatística entre os grupos submetidos ou não à OTH. Já nos grupos dos animais diabéticos, a perda de peso foi mais acentuada em comparação aos animais saudáveis sem, da mesma forma, mostrar diferença estatística entre os grupos de animais diabéticos, independentemente da aplicação de OTH. Esses resultados demonstraram que a OTH não apresentou efeito na média de variação de peso tanto nos animais saudáveis quanto nos diabéticos.

De maneira controversa, os estudos de Nevins et al. (1998) e Fiorellini et al. (1999) informaram ganho de peso nos grupos de animais diabéticos e nos

controles enquanto, em concordância com nossos achados, McCracken et al. (2000) e Siqueira et al. (2003) relataram uma perda de peso nos animais diabéticos. O estudo de Takeshita et al. (1998), realizado em ratos saudáveis, observaram perda de peso somente nos animais dos grupos mais velhos (80 semanas), sugerindo que o envelhecimento possa ter um efeito na manutenção do peso dos animais submetidos à implantação.

Tais variações podem estar relacionadas com a idade dos animais. No presente estudo foram utilizados animais com 24 semanas, na investigação de McCracken animais com 16 semanas, enquanto nos demais experimentos a idade dos animais foi de apenas seis semanas. Em dois estudos, Giglio et al. (2000) e Ottoni & Chopard (2004), a idade dos animais não foi informada. Shirota et al. (1993) e Takeshita et al. (1997b) demonstraram que em ratos mais velhos o contato osso-implante é drasticamente diminuído tanto no osso cortical quanto no esponjoso. Takeshita et al. (1998) observaram maior número de adipócitos no osso medular no grupo de animais diabéticos em comparação com os controles saudáveis, sugerindo que o aumento dos adipócitos justifica a menor formação óssea ao redor dos implantes. Esses achados são suportados Gimble et al. (1995), que sugeriram que a adipogênese e a osteogênese no osso esponjoso são inversamente regulados.

O estado diabético, nível sérico de glicose  $>270$  mg/dL, utilizado na presente investigação foi conseguido de maneira previsível e mantido durante todo o período do experimento. A média dos valores de glicose oscilou entre 294 a 341 mg/dL. Esses números estão próximos dos limites utilizados em outros estudos:  $>300$  mg/dL nos estudos de Takeshita et al. (1997a, 1998), Iyama et al. (1997), Ottoni & Chopard (2004), Kwon et al. (2005) e de  $>350$  mg/dL nos estudos de Nevins et al. (1998) e Fiorellini et al. (1999). Concentrações mais baixas  $> 180$ mg/dL e de  $>$

200 mg/dL foram utilizadas nos estudos de Giglio et al. (2000) e Siqueira et al. (2003), respectivamente. No estudo de McCracken et al. (2000) os níveis séricos de glicose não foram informados. Os resultados do presente estudo demonstraram que a aplicação de OTH nos animais não apresentou efeito na média de variação de glicose sanguínea entre os grupos saudáveis e com diabetes induzido.

A partir dos relatos da maioria dos estudos que utilizaram avaliação histomorfométrica pode-se sugerir uma relação entre o DM e a menor formação óssea peri-implantar em ratos com DI (Takeshita et al., 1997a, 1998; Nevins et al., 1998; Giglio et al., 2000; McCracken et al., 2000; Siqueira et al., 2003; Ottoni, Chopard, 2004; Kwon et al., 2005). No presente estudo, a exemplo de outros trabalhos (Nevins et al., 1998; Gerritsen et al., 2000), nenhuma complicação no processo de cicatrização foi diagnosticada nos sítios implantados que pudessem sugerir uma resposta local prejudicada pelo estado diabético.

## 7 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, pôde-se concluir que:

- a) o reparo ósseo peri-implantar foi afetado negativamente no modelo de diabetes induzido por aloxano;
- b) a OTH não apresentou influência na perda de peso e nos níveis de glicemia dos animais saudáveis e diabéticos;
- c) a OTH não apresentou efeito no reparo ósseo peri-implantar nos grupos de animais saudáveis;
- d) o período de aplicação da OTH não influenciou o reparo ósseo peri-implantar nos animais saudáveis e diabéticos;
- e) a aplicação de OTH nos animais diabéticos elevou a porcentagem de contato osso implante ao nível dos animais saudáveis.

## REFERÊNCIAS<sup>21</sup>

- Albrecht M, Banoczy J, Tamas Junior G. Dental and oral symptoms of Diabetes Mellitus. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1988;16:378-80.
- American Academy of Periodontology. Diabetes and periodontal disease. Committee on Research, Science and Teraphy. *J Periodontol*. 2000;71:664-78.
- American Dental Association. Council of Access, Prevention and Interpersonal Relations. Patients with diabetes. Chicago: American Dental Association; 1994. p.1-17.
- American Diabetes Association. . [texto na internet]. 2007 [citado 2007 mar 22]. Disponível em: [http://www.diabetes.org/my-food-advisor.jsp?WTLPromo=home\\_flash\\_081208](http://www.diabetes.org/my-food-advisor.jsp?WTLPromo=home_flash_081208)
- American Diabetes Association. Diabetes care in the school and day care setting. *Diabetes Care*. 2005 Jan;28 Suppl 1:S43-9.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2005 Jan;28 Suppl 1:S37-42.
- Archer CB, Rosenberg WMC, Scoot GW, MacDonald DM. Progressive bacterial synergistic gangrene in a patient with Diabetes Mellitus. *J R Soc Med*. 1984; 77 (Suppl 4):1-3 apud Rees TD. Controle periodontal do paciente diabético. In: *Medicina periodontal*, n. 7. São Paulo: Santos; 2005. p.63-72 [periodontologia 2000].
- Atkinson M, MacLaren N. The patogenesis of insulin-dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 1994;331:1428-36.
- Balshi TJ, Wolfinger GJ. Dental implants in the diabetic patient: a retrospective study. *Implant Dent*. 1999;8(4):355-9.
- Bartolucci EG, Parks RB. Accelerated periodontal break-down in uncontrolled Diabetes. Pathogenesis and treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1981; 52:387-90 apud Rees TD. Controle periodontal do paciente diabético. In: *Medicina periodontal*, n. 7. São Paulo: Santos; 2005. p.63-72 [periodontologia 2000].
- Beikler T, Fleming TF. Implants in the medically compromised patient. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(4):305-16.
- Blanchaert RH. Implants in the medically challenged patient. *Dent Clin North Am*. 1998 Jan;42(1):35-45.
- Bloomgarden ZT. Developments in diabetes and insulin resistance. *Diabetes Care*. 2006;29:161-7.

---

<sup>21</sup> De acordo com o Manual de Normalização para Dissertações e Teses da Faculdade de Odontologia e Centro de Pós-Graduação São Leopoldo Mandic baseado no modelo Vancouver de 2007, e abreviatura dos títulos de periódicos em conformidade com o Index Medicus.

Chen X, Matsui Y, Ohno K, Michi K. Histomorfometric evaluation of hyperbaric oxygen treatment on healing around hydroxyapatite implants in irradiated rat bone. *J Oral Maxillofac Implants*. 1999;14:61-68.

Committee on the Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Clinical Practice Recommendations. *Diabetes Care*. 1997;20:1183-97.

Committee on the Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Clinical Practice Recommendations. *Am Diabetes Assoc*. 2004(Suppl 1):27.

Conselho Federal de Medicina [texto na internet]. 2007 [citado 2007 abr 10]. Disponível em: <http://www.cfm.org.br>

Cutler CW, Jotwani R, Iacopino AM. Heightened gingival inflammation and attachment loss in type 2 diabetics with hyperlipidimia. *J Periodontol*. 1999;70:1313-21.

Desola J, Crespo A, García A, Salinas A, Sala J, Sánchez U. Indicações y contraindicações de la oxigenoterapia hiperbárica. *JANO*. 1998;1260:61-6.

Fiorellini JP, Chen PK, Nevins M, Nevins ML. A retrospective study of dental implants in diabetic patient. *Int J Periodontics Restor Dent*. 2000 Aug;20(4):366-73.

Fiorellini JP, Nevins ML, Norkin A, Weber HP, Karimbux NY. The effect of insulin therapy on osseointegration in a diabetic rat model. *Clin Oral Implants Res*. 1999 Oct;10(5):362-8.

Fiorellini JP, Nevins ML. Dental implant considerations in the diabetic patient. *Periodontol 2000*. 2000 June;23:73-7.

Fisk J. Diabetes Mellitus and oral care. *Dent Update*. 2004; 31:190-6.

Genuth S, Alberti KGMM, Bennett P, Buse J, DeFronzo R, Kanh R. Follow-up report on the diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2003; 26: 3160-7.

Gerritsen M, Lutterman JA, Jansen JA. Wound healing around bone-anchored percutaneous devices in experimental Diabetes Mellitus. *J Biomed Mater Res*. 2000;53(6):702-9.

Gian-Grasso JE, Nagelberg SB. The relationship between diabetes and periodontal disease. *Pratc Diabetol*. 1997 Sept; 8-10 apud Rees TD. Controle periodontal do paciente diabético. In: *Medicina periodontal*, n. 7. São Paulo: Santos; 2005. p.63-72

Giglio MJ, Giannunzio G, Olmedo D, Guglielmotti MB. Histomorphometric study of bone healing around laminar implants in experimental diabetes. *Implant Dent*. 2000;9(2):143-9.

Gimble JM, Morgan C, Kelly K, Wu X, Dandapani V, Wang CS et al. Bone morphogenetic proteins inhibit adipocyte differentiation by bone marrow stromal cells. *J Cell Biochem*. 1995 July;58(3):393-402.

Gokce S, Bengi AO, Akin E, Karacay S, Sagdic D, Kurkcu M, Gokce HS. Effects of hyperbaric oxygen during experimental tooth movement. *Angle Orthod*. 2008 Mar;78(2):304-8.

Granowitz EV, Skulsky EJ, Benson RM, Wright J, Garb JL, Cohen ER et al. Exposure to increased pressure or hyperbaric oxygen suppresses interferon-gamma secretion in whole blood cultures of healthy humans. *Undersea Hyperb Med.* 2002 Fall;29(3):216-25.

Granström G. Radioterapy: osseointegration and hyperbaric oxygen therapy. *Periodontol* 2000. 2004;3:145-62.

Graves DT, Naguib G, Leone LC, Krall E. Inflammation is more persistent in type 1 diabetic mice. *J Dent Res.* 2005;84(4):324-8.

Gross JL, Silveiro SP, Camargo JL, Reichelt AJ, Azevedo MJ. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. *Arqui Bras Endocrinol Metab.* 2002 Fev;46(1):16-26.

Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and Diabetes Mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol.* 1998 July;3(1):51-61.

Hallmon WW, Mealey BL. Implications of Diabetes Mellitus and periodontal disease. *Diabetes Educ.* 1992 July-Aug;18(4):310-5.

Harris MI, Eastman RC, Cowie CC, Flegal KM, Eberhardt MS. Comparison of diabetes diagnostic categories in the U.S. population according to the 1997 American Diabetes Association and 1980-1985 World Health Organization diagnostic criteria. *Diabetes Care.* 1997 Dec;20(12):1859-62.

Instituto de oxigenioterapia hiperbárica. [texto na internet]. 2007 [citado 2007 mar 22]. Disponível em: <http://www.iohbn.net.com.br/site/default.asp>

Iyama S, Takeshita F, Ayukawa Y, Kido MA, Suetsugu T, Tanaka T. Study regional distribution of bone formed around hydroxyapatite implants in the tibial of streptozotocin induced diabetics rats using multiple fluorescent labeling and confocal laser scanning microscopy. *J Periodontol.* 1997 Dec;68(12):1169-75.

Johnsson AA, Sawaii T, Jacobsson M, Granström G, Turesson I. A histomorphometric study of bone reactions to titanium implants in irradiated bone and the effect of hyperbaric oxygen treatment. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999 Sept-Oct;14(5):699-706.

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;79(4):614-20.

Kotsovilis S, Karoussis IK, Fourmoussis I. A comprehensive and critical review of dental implant placement in diabetic animals and patients. *Clin Oral Implants Res.* 2006 Oct;17(5):587-99.

Kwon PT, Rahman SS, Kim DM, Kopman JA, Karimbux NY, Fiorellini JP. Maintenance of osseointegration utilizing insulim therapy in a diabetic rat model. *J Periodontol.* 2005;76(4):621-26.

Lalla E, Lamster IB, Schmidt AM. Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE: implication for the pathogenesis of accelerated periodontal disease. *Ann Periodontol.* 1998 July;3(1):13-9.

Lalla E, Lamster IB, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities. *Ann Periodontol*. 2001 Dec;6(1):113-8.

Liu R, Bal HS, Desta T, Krothapalli N, Alyassi M, Luan Q, Graves DT. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. *J Dent Res*. 2006;85(6):510-4.

Löe H. Periodontal disease. The sixth complication of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1993 Jan;16(1):329-34.

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):333-9.

Mayer R, Farrell MRH, Adrian JVK, Schmutz J, Granström G, Sicko ZY et al. Hyperbaric oxygen and radiotherapy. *Strahlenther Onkol*. 2005;181:113-23.

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 May-June;15(3):345-54.

Miley DD, Terezhalmay GT. The patient with Diabetes Mellitus: etiology, epidemiology, principles of medical management, oral disease burden, and principles of dental management. *Quintessence Int*. 2005 Nov-Dec;36(10):779-95.

Molbak A, Christau B, Marner B, Borch-Johnsen K, Nerup J. Incidence of insulin-dependent Diabetes Mellitus in age groups over 30 years in Denmark. *Diabet Med*. 1994 Aug-Sept; 11(7):650-5.

Morris HF, Ochi S, Winkler S. Implant survival in patients with type 2 diabetes: placement to 36 months. *Ann Periodontol*. 2000 Dec;5(1):157-65.

Muhonen M, Haaparanta TG, Bergman J, Knuuti J, Hinkka S, Happonen RP. Osteoblastic activity and neoangiogenesis in distracted bone of irradiated rabbit mandible with or without hyperbaric oxygen treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33:173-78.

National Institutes of Health Consensus Development Conference statement on dental implants June 13-15, 1988. *J Dent Educ*. 1988 Dec;52(12):824-7.

Nevins ML, Karimbux NY, Weber HP, Giznobile WV, Fiorellini JP. Wound healing around endosseous implants in experimental diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1998 Sept-Oct;13(5):620-9.

Nilsson P, Albrektsson MD, Ganström G, Hans OE, Rökert MD. The effect of hyperbaric oxygen treatment on bone regeneration: an experimental study using the bone harvest chamber in the rabbit. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1988 Spring;3(1):43-8.

Okubo Y, Bessho K, Fujimura K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Effect of hyperbaric oxygenation on bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2001 Apr;39(2):91-5.

Oliver RC, Tervonen T. Diabetes; a risk factor of periodontitis in adults? *J Periodontol.* 1994 May;65(5 Suppl):530-8.

Olson JW, Shernoff AF, Colwell JA, Scheetz, Bingham SF. Dental endosseous implant assessments in a type 2 diabetic population: a prospective study. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000 Nov-Dec;15(6):811-8.

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

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.

Pontes Andersen CC, Flyvbjerg A, Buschard K, Holmstrup P. Relationship between periodontitis and diabetes: Lessons from rodent studies. *J Periodontol.* 2007;78(7):1265-75.

Rees DA, Alcolado JC. Animal models of Diabetes Mellitus. *Diabet Med.* 2005 Apr;22(4):359-70.

Rees TD. Controle periodontal do paciente diabético. In: *Medicina periodontal.* São Paulo: Santos; 2005. p.63-72.

Sawai T, Niimi A, Johansson CB, Sennerby L, Ozeki K, Takahashi H, Albrektsson T, Ueda M. The effect of hyperbaric oxygen treatment on bone tissue reactions to c.p. titanium implants placed in free autogenous bone graf. *Clin Oral Impl Res.* 1998;9:384-97.

Schanaider A, Silva PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir Bras.* 2004 jul-ago;19(4):380-5.

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

Shirota T, Ohno K, Suzuki K, Michi K. The effect of aging on the healing of hydroxyapatite implants. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Jan;51(1):51-6.

Siqueira JT, Cavalher-Machado SC, Arana-Chaves VE, Sannomiya P. Bone formation around titanium implants in the rat tibia: role of insulin. *Implant Dent.* 2003;12(3):242-51.

Sociedade Brasileira de Diabetes - SBD - [texto na internet]. 2005 [citado 2005 out 10]. Disponível em: <http://www.diabetes.org.br>

Sociedade Brasileira de Diabetes - SBD. Consenso sobre diabetes 2002. Diagnóstico e classificação do Diabetes Melito e tratamento do Diabetes Melito tipo 2. Rio de Janeiro: Diagraph; 2003.

Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Diabetes Mellitus: classificação e diagnóstico [texto na internet]. 2004 [citado 2008 dez 10]. Disponível em: [http://www.projetodiretrizes.org.br/4\\_volume/06-Diabetes-c.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/06-Diabetes-c.pdf)

Spanheimer RG. Direct inhibition of collagen production in vitro by diabetic rat serum. *Metabolism.* 1988 May;37(5):479-85.

Steenberghe DV. Implantes orais em pacientes comprometidos. *Periodontol* 2000. 2004;33:212.

Sümen G, Cimsit M, Eroglu L. Hyperbaric oxygen treatment reduces carrageenan-induced acute inflammation in rats. *Eur J Pharmacol*. 2001; 431:265-8.

Takeshita F, Iyama S, Ayukawa Y, Kido MA, Murai K, Suetsugu T The effects of diabetes on the interface between hydroxyapatite implants and bone in rat tibia. *J Periodontol*. 1997a;68:180-5.

Takeshita F, Murai K, Iyama S, Ayukawa Y, Suetsugu T Uncontrolled diabetes hinders bone formation around titanium implants in rat tibiae. A light and fluorescence microscopy, and image processing study. *J Periodontol*. 1998 Mar;69(3):314-20.

Takeshita F, Murai K, Iyama S, Ayukawa Y, Suetsugu T. Effects of aging of titanium implants inserts into the tibiae of female rats using light microscopy, SEM, and image processing. *J Biomed Mater Res*. 1997b;34:1-8.

Tompach PC, Lew D, Stool JL. Cell response to hyperbaric oxygen treatment. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1997;26:82-6.

Tuncay OC, Ho D, Barker MK. Oxygen tension regulates osteoblast function. *Am J Orthod Dentofac Orthop*. 1994 May;105(5):457-63.

Wagner W, Esser E, Ostkamp K. Osseointegration of dental implants in patients with and without radiotherapy. *Acta Oncol*. 1998;37(7-8):693-6.

Wang X, Ding I, Xie H, Wu T, Wersto N, Huang K, Okunieff P. Hyperbaric oxygen and fibroblast grown factor promote growth of irradiated bone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1998;40:196-98.

Weis RE, Gorn A, Nimni ME, Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone proteoglycans in experimental diabetes. *Diabetes*. 1981;30:670-7.

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(5):1047-53.

Williamson RA. An experimental study of the use of hiperbaric oxygen to reduce the side effects of radiation treatment for malignant disease. *Int J Oral Maxillofacial Surg*. 2007;36:533-40.

Word Health Organization. [texto na internet]. 2008 [citado 2008 jan 25]. Disponível em: <http://www.who.int/en/>

Word Health Organization. Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Genebra: World Health Organization; 1999.

Xuan C, Matsui Y, Ohno K, Michi K. Histomorphometric evaluation of the effect of hyperbaric oxygen treatment on healing around hydroxyapatite implants in irradiated rat bone. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Jan-Feb;14(1):61-8.

Yasuda K, Adachi T, Gu N, Matsumoto A, Matsunaga T, Tsujimoto G et al. Effects of Hyperbaric exposure with high oxygen concentration on glucose and insulin levels and skeletal muscle-fiber properties in diabetics rats. *Muscle Nerve*. 2007;35:337-43.

Zimmet P, Alberti KGTM, Shaw J. Global and societal implications of diabetes Epidemic. *Nature*. 2001;414:782-7.

## ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO CEEA



**SÃO LEOPOLDO MANDIC**  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Aprovado pelo CEEA

Campinas, 03 de Março de 2007.

Ao

C. D. Peterson Antônio Dutra de Oliveira

Curso: Doutorado em Implantodontia

Prezado (a) Aluno (a):

O projeto de sua autoria: **“AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA OXIGÊNIO-TERAPIA HIPERBÁRICA NA REPARAÇÃO ÓSSEA PERIIMPLANTAR NO DIABETES EXPERIMENTAL”**.

Orientado pelo (a) Prof. (a) Dr. (a) Patrícia Ramos Cury.

Entregue na Secretaria de Pós-Graduação do CPO - São Leopoldo Mandic, no dia 17/11/2006, com número de protocolo **nº06/446** foi APROVADO pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal, instituído nesta IES.

Cordialmente

Prof. Dr. Thomaz Wassall  
Coordenador de Pós-Graduação