

CLAUDIA KELLY DE OLIVEIRA DINIZ



T/UNICAMP
D615i
BCCL

**INFLUÊNCIA DO DIABETES MELLITUS SOBRE AS
ALTERAÇÕES ÓSSEAS ALVEOLARES OCORRIDAS NO
TRAUMA OCLUSAL. ESTUDO HISTOMÉTRICO EM RATOS.**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre em Clínica
Odontológica – Área de Periodontia.**

Orientador: Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum

PIRACICABA

2010

Este exemplar foi devidamente corrigido.
Refere-se a versão final da dissertação/tese
do aluno, CPG/FOP 13 / 05 / 10

Assinatura do Orientador

UNIDADE BC
Nº CHAMADA
T/UNICAMP D615i
V
TOMSO DO 88287
PROC 16-134-10
C D X
PREÇO 11,00
DATA 14/10/10
CÓD TI 774143

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecária: Elis Regina Alves dos Santos – CRB-8a. / 8099

D615i	Diniz, Cláudia Kelly de Oliveira. Influência do Diabetes Mellitus sobre as alterações ósseas alveolares ocorridas no trauma oclusal: estudo histométrico em ratos / Cláudia Kelly de Oliveira Diniz. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2010. Orientador: Enilson Antonio Sallum. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Periodontite. 2. Estreptozocina . I. Sallum, Enilson Antonio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título. (eras/fop)
-------	--

Título em Inglês: The influence of Diabetes Mellitus on alveolar bone changes occurring in occlusal Trauma: a histometric study in rats

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Periodontitis . 2. Streptozocin .

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Enilson Antonio Sallum, Marcelo Diniz Carvalho, Mauro Pedrine Santamaria

Data da Defesa: 28-07-2010

Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica



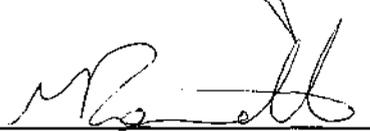
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 28 de Julho de 2010, considerou a candidata CLAUDIA KELLY DE OLIVEIRA DINIZ aprovada.



Prof. Dr. ENILSON ANTONIO SALLUM



Prof. Dr. MARCELO DINIZ CARVALHO



Prof. Dr. MAURO PEDRINE SANTAMARIA

201027518

BIBLIOTECA CENTRAL
CÉSAR LATTES
DESENVOLVIMENTO DE
COLEÇÃO
UNICAMP

DEDICATÓRIA

A **Deus**, por ser a razão das minhas vitórias. Agradeço-lhe por ter sido tão presente em minha vida, me dando forças, saúde e coragem para enfrentar os meus maiores obstáculos. A ti Pai, toda honra e toda glória, sempre.

Ao meu marido **Waltênio**, obrigada por todo apoio, incentivo e paciência o qual tem tido nesses anos. Obrigada pelo amor e toda a dedicação dispensada aos nossos filhos nos momentos da minha ausência. Você é um exemplo de companheirismo e cumplicidade. Te amo muito!

Aos meus lindos filhos, **Rafael, Guilherme e Isabela**. Vocês são a razão da minha vida, uma das minhas maiores motivações para continuar lutando e seguir em frente nessa jornada. Desculpe-me pelas ausências... “Meus amores”, amo muito vocês!

Aos meus pais, **Nilson e Mirian**, por sempre terem acreditado em mim, pelo apoio nos momentos difíceis e pelo exemplo de honestidade e dedicação. Divido com vocês mais essa importante vitória em minha vida. Sou infinitamente grata a vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador **Prof. Dr. Enilson Antonio Sallum** pela confiança depositada em mim, pela paciência e atenção demonstradas em todas as etapas da orientação deste trabalho. Agradeço por ter me concedido a oportunidade de compartilhar de seus conhecimentos durante esse curso de pós-graduação.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Diniz Carvalho** exemplo de caráter, dedicação e humildade. Obrigada pela amizade e por todos os valiosos ensinamentos dispensados para a realização desse trabalho. Sem você, por certo, não seria possível o desenvolvimento deste estudo. Serei eternamente grata!

A **Sra. Isanilce Fernandes Silva de Sousa** bioterista do Instituto de Pesquisa do Amazonas, pela sua amizade incondicional. Pela incalculável ajuda dispensada durante o período experimental deste trabalho. Obrigada por ter me recebido de braços abertos e por ter sido sempre tão solícita não importando a hora ou o dia. Você sempre será lembrada com todo o carinho.

A **Sra. Mariana Piovezan Fugolin**, técnica do laboratório de Periodontia, pela indispensável ajuda na execução do processamento histológico do material estudado. Agradeço-lhe muito pelo carinho, incentivo e valiosos conselhos. A sua colaboração foi fundamental!

A **Sra. Jucilene Lemos Fernandes** por ter sido uma mãe para os meus filhos nos momentos da minha ausência. Agradeço muito a sua lealdade, amizade e toda a dedicação dispensada a minha família. A você, os meus sinceros agradecimentos.

AGRADECIMENTOS

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas**, na pessoa de seu Diretor, **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**.

Ao Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, **Prof. Dr. Jacks Jorge Junior**.

À Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa da coordenadora, **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia** pela seriedade na condução do programa.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação, **Dr. Antonio Wilson Sallum, Dr. Francisco Humberto Nociti Jr, Dr. Márcio Zafallon Casati e Dr. Sérgio Toledo** por serem exemplos de competência e dedicação.

À **Universidade do Estado do Amazonas**. Meus agradecimentos sinceros aos coordenadores **Profa. Dra. Tânia Miranda Chicre Alcântara, Prof. Dr. Benedito Taveira dos Santos** pela amizade e por todo o incentivo ao programa do Minter e Dinter.

Aos **Professores Dr. José Antonio de Nunes Mello e Dr. Fábio Mitsui**, coordenadores dos programas Minter e Dinter de Manaus, pelo empenho e dedicação no projeto do Minter e Dinter.

Aos professores da minha banca de qualificação **Dra. Karina Gonzales Silverio Ruiz, Dra. Cristiane Ribeiro Salmon e Dr. Renato Correa Viana Casarin** pela colaboração inestimável na conclusão deste trabalho.

Agradeço às amigas **Mirella Lindoso Gomes e Mônica Grazieli Corrêa** pelas contribuições e sugestões dispensadas no decorrer do Curso. A ajuda de vocês foi muito valiosa. Os meus sinceros agradecimentos!

À **Sra. Auristella Solano**, técnica de laboratório de Patologia da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto. Nunca esquecerei a sua sincera amizade e dedicação. Obrigada pelo seu apoio e paciência e por ter me auxiliado no aprendizado do processamento histológico.

Aos meus amigos dos programas Minter e Dinter, **Cláudia Andréa, Joelson, Sybilla, Cristiane, Ana Paula, Rosana, Ana Lúcia, Alexandra, Naelka, Lia, Joaquim, Fátima, Rachid, Pantoja, Jonas, Lia, Brigitte, Rachid, Eliana, Andréa, Danielson e Wladimir** pelos momentos agradáveis que compartilhamos juntos.

À secretária do Departamento de Periodontia, **Regina Célia C. Caetano da Silva** por sua simplicidade, carinho e ajuda na condução das últimas etapas deste processo.

Aos professores da Universidade do Estado do Amazonas, **Izabele, Gisele, Fikryie, Maurício e Fabiano** pelo suporte dispensado na Disciplina de Periodontia nos momentos da minha ausência.

Enfim a todos que me ajudaram de forma direta e indiretamente e torceram pelo meu sucesso, os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do diabetes mellitus (DM) sobre a reabsorção óssea alveolar ocorrida no trauma oclusal (TO) na presença e ausência da periodontite experimental (PE) em ratos. Para tanto, 32 ratos Wistar (*Rattus Novergicus*) adultos foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos: Grupo 1 (n=08): DM+TO+PE; Grupo 2 (n=08): DM+TO; Grupo 3 (n=08): não-diabético+TO+PE; Grupo 4 (n=08): não-diabético+TO. O DM foi induzido nos animais do G1 e G2 pela injeção intraperitoneal de 60 mg/kg de estreptozotocina (STZ). Dez dias após a indução do DM, os animais do G1 foram induzidos à PE pela colocação da ligadura de fio de seda no sulco dos primeiros molares inferiores do lado esquerdo (lado teste); o mesmo foi feito nos animais não-diabéticos (G3). O molar contralateral (direito) de todos os animais dos 4 grupos serviu como controle. O início da indução do TO, pela cimentação do fio ortodôntico na oclusal dos molares já submetidos à PE, se deu 15 dias após a colocação da ligadura (G1 e G3). No mesmo dia o TO também foi induzido nos grupos sem ligadura (G2 e G4) permanecendo por 10 dias até a data do sacrifício. A avaliação intra-grupo mostrou haver diferença estatística significativa de perda óssea alveolar quando comparado os dentes do lado teste (TO) ao lado controle ($p<0,0001$) em todos os grupos (G1, G2, G3 e G4). A avaliação intergrupo mostrou diferenças estatísticas significantes ($p<0,05$) entre G1 e G2 e entre G3 e G4, com reabsorção óssea mais severa para os grupos com TO+PE quando comparados aos grupos com TO. A média de reabsorção óssea do G1 (DM+TO+PE) foi significativamente maior ($p<0,05$) do que a do G3 (TO+PE). Não foram detectadas diferenças estatísticas significantes ($p>0,05$) entre G2 (DM+TO) e G4 (TO). Dentro dos limites deste estudo pôde-se concluir que o diabetes mellitus agrava a perda óssea alveolar nos animais com trauma oclusal quando associado à periodontite experimental.

Palavras-chave: Trauma oclusal; Periodontite; Diabetes mellitus; Estreptozotocina.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the diabetes mellitus (DM) effects on alveolar bone resorption induced by occlusal trauma (OT) with or without experimental periodontitis (EP) in rats. Thirty-two adult male rats (*Rattus Novergicus*) were randomly assigned to one of four groups: Group 1 (n=08): DM+OT+EP; Group 2 (n=08): DM+OT; Group 3 (n=08): OT+EP; Group 4 (n=08): OT. Experimental DM was created by intraperitoneal injection of 60 mg/kg body weight streptozotocin (STZ) in G1 and G2. Ten days after diabetes induction, the animals in G1 received a silk ligature in the sulcular area of their mandible left first molar (test side) to induce EP; the same was performed with the non-diabetics animals (G3). The contralateral molar (right side) was left as a control in all of the groups. G1 and G3 were submitted to OT induction (by orthodontic wire bonding in the occlusal molar surface) after fifteen days period. At the same day, the OT was also induced in the groups (G2 and G4) without ligature. The animals were sacrificed 10 days later. The intragroup analysis revealed significant difference between teeth in the test side (OT) and control side ($p < 0.0001$) among the 4 groups (G1, G2, G3, G4). The test side (OT) showed higher levels of bone resorption. The histometrics results showed significant difference ($p < 0.05$) between G1 and G2 and between G3 and G4, with more severe resorption for the groups with OT+EP compared do OT. For the histological analysis, G1 (DM+OT+EP) showed more bone loss when compared to G3 (OT+EP) ($p < 0.05$). No difference was observed ($p > 0.05$) between G2 (DM+OT) and G4 (OT). Within the limit of the study, it was concluded that diabetes mellitus enhances the alveolar bone loss in animals with occlusal trauma associate to experimental periodontitis.

Key words: Occlusal trauma; Periodontitis; Diabetes mellitus; Streptozotocin.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1 DIABETES MELLITUS	4
2.1.1 Definição e Classificação.....	4
2.1.2 Diabetes Mellitus como Fator de Risco para a Doença Periodontal.....	9
2.1.3 Estudos Clínicos.....	10
2.1.4 Estudos Experimentais	14
2.2 TRAUMA OCLUSAL	17
2.2.1 Definição e Classificação.....	17
2.2.2 Modelos de Indução do Trauma	19
2.2.3 Características Histológicas, Clínicas e Radiográficas.....	20
2.2.4 Estudos Experimentais.....	27
3 PROPOSIÇÃO.....	30
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	31
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	31
4.3 INDUÇÃO DO DIABETES MELLITUS.....	32
4.3.1 Análise da Glicose Sérica.....	34
4.4 INDUÇÃO DA PERIODONTITE EXPERIMENTAL.....	34
4.5 INDUÇÃO DO TRAUMA OCLUSAL.....	36
4.6 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO	37
4.7 ANÁLISE HISTOMÉTRICA.....	38
4.7.1 Área Inter-radicular.....	38
4.7.2 Análise Estatística.....	40
5 RESULTADOS.....	41
6 DISCUSSÃO.....	46

7 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
ANEXO 1 - PROTOCOLO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	61
ANEXO 2 - LEITURAS DE REABSORÇÃO ÓSSEA (mm ²).....	62
ANEXO 3 - VALORES DE PESO (g) E NÍVEL GLICÊMICO (mg/dl).....	63

1 INTRODUÇÃO

O osso alveolar renova-se constantemente em resposta às demandas funcionais, havendo um equilíbrio fisiológico entre a formação e a reabsorção óssea. Embora condições relacionadas ao processo infeccioso da doença periodontal sejam uma das principais causas na quebra da homeostase óssea alveolar, outros fatores locais e sistêmicos podem também atuar no processo de perda óssea. Forças oclusais que excedam a capacidade adaptativa do periodonto podem produzir destruição óssea tanto na ausência como na presença de inflamação gengival (Svanberg & Lindhe, 1974; Polson & Heijl, 1980). Há, portanto a possibilidade de que as alterações ocorridas em pacientes diabéticos, como o retardo da cicatrização, redução do mecanismo de defesa e exacerbação da resposta inflamatória (Lalla *et al.*, 2000; Mealey & Oates, 2006; Taylor & Borgnakke, 2008), possam reduzir a resistência dos tecidos periodontais e forças oclusais, outrora toleráveis, tornar-se danosas (Glickman *et al.*, 1969; Budtz-Jorgensen, 1980).

A injúria que ocorre nos tecidos periodontais de suporte frente às forças oclusais traumáticas é chamada de trauma oclusal (Lindhe & Svanberg, 1974; Hallmon, 1999). A Academia Americana de Periodontia (1999) classifica o trauma oclusal em primário e secundário. O trauma primário é resultante de forças oclusais excessivas aplicadas a dentes com um suporte periodontal normal, ao contrário do trauma secundário em que forças oclusais, normais ou excessivas, são aplicadas a dentes com suporte periodontal reduzido.

Objetivando esclarecer as modificações histológicas ocorridas no trauma oclusal, modelos animais e trabalhos clínicos em humanos têm sido extensivamente estudados (Budtz-Jorgensen, 1980; Jin & Cao, 1992; King & Hughes, 1999; Nogueira-Filho *et al.*, 2004; Kaku *et al.*, 2005; Alkan *et al.*, 2006). Forças oclusais traumáticas não causam destruição do periodonto de proteção, não levam a formação de bolsas periodontais, recessões gengivais ou perda da inserção do tecido conjuntivo (Itoiz *et al.*, 1963; Comar *et al.*, 1969; Ramfjord & Ash Jr, 1981; Kawamoto & Nagaoka, 2000; Davies *et al.*, 2001)

porém, poderá manifestar-se, clinicamente, um aumento da mobilidade dental, fraturas dentárias e, radiograficamente, aumento do espaço periodontal e/ou reabsorção óssea alveolar mesmo na presença de um adequado controle de biofilme (Ramfjord & Ash Jr, 1981; Pihlstrom *et al.*, 1986). Na ausência de inflamação, as alterações ósseas podem ser reversíveis pela remoção das forças oclusais excessivas (Kobayashi *et al.*, 1998; Harrel & Nunn, 2001).

Apesar de muitos debates sobre as alterações histológicas ocorridas no trauma oclusal (Waerhaug *et al.*, 1979; Polson & Heiji, 1980; Pihlstrom *et al.*, 1986; Jin & Cao, 1992; Bernhardt *et al.*, 2006), forças oclusais traumáticas têm sido consideradas como um dos fatores locais que aceleram a reabsorção óssea alveolar inflamatória quando a periodontite está presente (Budtz-Jorgensen, 1980; Ramfjord & Ash Jr, 1981; Jin & Cao, 1992; Noma *et al.*, 2007). Trabalhos como os de Polson & Heiji (1980) encontraram evidências histológicas de que alterações oclusais não desencadeiam o início da doença periodontal, porém desempenham um papel importante na sua progressão. Independente da presença ou da ausência da periodontite, as alterações periodontais ocorridas no trauma oclusal variam de acordo com a magnitude, direção da força aplicada e da localização (pressão *versus* tensão) assim como da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro (Hallmon, 1999; Davies *et al.*, 2001).

O diabetes mellitus, por sua vez, tem se mostrado um importante fator de risco para a doença periodontal. Pesquisas têm demonstrado uma inter-relação consistente entre as duas patologias (Taylor *et al.*, 1998; Lalla *et al.*, 2000; Pontes Andersen *et al.*, 2006; Faria-Almeida *et al.*, 2006; Ebersole *et al.*, 2008; Taylor & Borgnakke, 2008). O diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (Murray, 1985; Soskolne & Klinger, 2001; Vilar & Abdon, 2004).

Alterações metabólicas ocorridas no diabetes mellitus podem influenciar na capacidade reparativa dos tecidos periodontais. Diversos estudos demonstram que

indivíduos diabéticos não-controlados com doença periodontal apresentam uma resposta inflamatória com reabsorção óssea e perda de inserção mais severa, além de neoformação óssea deficiente (Firatli, 1997; Emrich *et al.*, 1991; Taylor *et al.*, 1998; Sandberg *et al.*, 2000; Tervonen *et al.*, 2000; Mattson & Cerutis, 2001; Campus *et al.*, 2005; Taylor & Borgnakke, 2008). Para validar e explicar a relação entre o diabetes e a doença periodontal, mecanismos biologicamente plausíveis têm sido estudados: microangiopatia gengival, alterações microbianas, alterações na resposta imunológica do hospedeiro como redução da produção de colágeno e aumento da colagenase, quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares (PMN) defeituosa (Manoucherhr-Pour *et al.*, 1981; Salvi *et al.*, 1998; Engebretson *et al.*, 2004; Mealey & Oates, 2006; Pontes Andersen *et al.*, 2006; King, 2008) e formação de produtos finais da glicosilação (AGEs) (Schmidt *et al.*, 1996; Lalla *et al.*, 2000; Takeda *et al.*, 2006; Murillo *et al.*, 2008). Essas alterações diminuem a resistência de pacientes diabéticos à infecção, retardam a capacidade de cicatrização e exacerbam a resposta inflamatória, explicando assim, a maior severidade da doença periodontal e a perda dentária nesses pacientes (Tervonen *et al.*, 2000; Blanco *et al.*, 2003; Campus *et al.*, 2005; Faria-Almeida *et al.*, 2006; Safkan-Sepällä *et al.*, 2006).

Levando-se em consideração que o trauma oclusal pode levar a uma destruição óssea alveolar inclusive na ausência de doença periodontal e que desordens endócrinas como o diabetes mellitus não controlado podem afetar o reparo ósseo e resposta local do hospedeiro, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência do diabetes mellitus sobre a perda óssea alveolar ocorrida no trauma oclusal associado ou não à periodontite.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DIABETES MELLITUS

2.1.1 Definição e Classificação

O diabetes mellitus é uma doença complexa que compreende um grupo clinicamente e geneticamente heterogêneo de desordens que afetam o metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (Lalla *et al.*, 2000; Conget, 2002; Wada, 2002). A principal característica do diabetes é a elevação anormal dos níveis de glicose no sangue. A hiperglicemia é causada pela deficiência total ou parcial da secreção de insulina ou pela resistência à sua ação. É uma condição patológica crônica que gera danos a vários órgãos do organismo incluindo coração, olhos, fígado, rins, nervos e sistema vascular (Vilar & Abdon, 2004; AAD, 2010).

O diabetes mellitus é considerado pela Organização Mundial da Saúde e pela Federação Internacional de Diabetes (2006) uma epidemia global, que atinge aproximadamente 171 milhões de pessoas no mundo e projeta-se um aumento para 366 milhões no ano de 2030 (Wild, 2004). No Brasil, estima-se que 7,6% da população, na faixa etária de 30 a 69 anos, sejam portadoras dessa enfermidade sistêmica (Forti *et al.*, 2009). O diabetes representa um problema de saúde pública, em razão de sua elevada prevalência, acentuada morbidade e mortalidade e, por fim, das repercussões econômicas e sociais decorrentes do impacto dessas complicações. Sua prevalência vem crescendo de forma notável, com o processo acelerado de industrialização e urbanização populacional ocorrido nos últimos sessenta anos (Wild, 2004).

Segundo a Associação Americana de Diabetes (2010) a classificação atual do diabetes mellitus está baseada na patofisiologia de cada forma da doença. As formas mais comuns do diabetes compreendem o diabetes mellitus tipo 1 e o diabetes mellitus tipo 2, respectivamente denominados outrora em diabetes insulino dependente (IDDM) e diabetes não-insulino dependente. São as duas principais formas de diabetes mellitus em incidência, prevalência e importância clínica.

O diabetes tipo 1 é a forma mais grave do diabetes e a menos freqüente (5 a 15 % do total). É uma doença auto-imune órgão-específica caracterizada pela destruição seletiva das células β produtoras de insulina no pâncreas, levando a uma perda total ou parcial da secreção de insulina. (Lernmark, 1999; Mathis *et al.*, 2001; Kawasaki *et al.*, 2004). O diabetes mellitus tipo 1 pode se desenvolver em qualquer faixa etária, sendo mais comum em crianças e adolescentes antes dos 20 anos, porém alguns estudos demonstram que 15% a 30 % de todos os casos são diagnosticados após os 30 anos de idade (Murray, 1985).

Nos pacientes mais velhos que apresentam diabetes tipo 1, a destruição das células β ocorre de uma forma mais lenta e com sintomas mais brandos, ao contrário do que é observado em crianças que se caracteriza pelo surgimento abrupto dos sintomas da doença. A maior parte dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1 apresenta peso normal ou são magros, indicando que a doença não possui relação direta com o sobrepeso (Forti *et al.*, 2009).

Certos pacientes com diabetes tipo 1 continuam com alguma capacidade de produzir insulina devido ao ritmo e extensão de destruição mais lento. O período subclínico pode variar e quando surgem os primeiros sinais da doença, mais de 90 % das células β do pâncreas já foram destruídas, permanecendo apenas uma produção residual de insulina. A falta da secreção total de insulina na fase permanente da doença faz com que seja necessária a administração da insulina exógena. Na ausência do hormônio, os pacientes podem desenvolver cetoacidose e, quando não tratada, pode levar ao coma ou até mesmo à morte (Mathis *et al.*, 2001; Vilar & Abdon, 2004).

O diabetes mellitus tipo 1 é considerado uma doença multifatorial de alta complexidade patogênica dependente da interação entre a resposta imunológica do indivíduo, predisposição genética e influência do meio ambiente. Os determinantes ambientais mais estudados no diabetes mellitus podem ser classificados em 3 grupos: infecções virais (citomegalovírus, rubéola, caxumba, sarampo), dieta precoce na infância (amamentação versus introdução precoce de ingredientes do leite de vaca, cereais e glúten)

e toxinas (por exemplo, derivados de N-nitroso). Outros fatores não-genéticos modificadores da doença incluem administração de vacinas, estresse emocional, influências climáticas, sazonalidade, agentes sanitários e acesso aos cuidados de saúde (Navarro *et al.*, 2002; Kawasaki *et al.*, 2004).

O diabetes mellitus do tipo 2, previamente chamado de não- insulino dependente, é causado pela redução da sensibilidade dos tecidos alvo ao efeito metabólico da insulina, sendo descrita como resistência à insulina e à incapacidade da célula β em manter uma adequada secreção de insulina (Mahler & Adler, 1999; Lyra *et al.*, 2006). Um terceiro fator agravante sempre associado é o aumento da produção hepática de glicose, decorrente das duas primeiras alterações. Ao contrário do diabetes mellitus tipo 1, não ocorre destruição das células β do pâncreas. O diabetes mellitus tipo 2 é responsável por cerca de 80 a 90% dos casos registrados da doença. Diz-se que o início da doença ocorre a partir dos 40 anos de idade, sendo mais freqüente entre 50 e 60 anos, e desenvolve-se de forma gradual. A sua prevalência aumenta progressivamente com o envelhecimento. Embora a idade, componente genético, dentre outros fatores não modificáveis, possam estar presentes, destacam-se os fatores de risco modificáveis para o DM2 como a obesidade, fatores dietoterápicos e o sedentarismo bem como o tabagismo. Stress psicossocial e episódios depressivos maiores também podem estar associados a um aumento de risco para o diabetes mellitus tipo 2 (Lyra *et al.*, 2006).

O paciente que apresenta diabetes mellitus tipo 2 muitas vezes desconhece a sua condição, podendo permanecer sem diagnóstico por muitos anos, pois a hiperglicemia geralmente se desenvolve de forma gradual, e nos estágios iniciais não é suficiente para promover o aparecimento dos sintomas clássicos (Skamagas *et al.*, 2008).

Associa-se o diabetes mellitus do tipo 2 com o aumento da concentração plasmática de insulina, hiperinsulinemia, que ocorre como resposta da compensação das células β do pâncreas, em decorrência ao decréscimo na utilização de glicose pelos tecidos, tendo como efeito clínico a hiperglicemia. O mecanismo de ação da insulina, na maior parte dos tecidos, depende de receptor específico na membrana plasmática. A resistência dos

receptores teciduais à insulina resulta na diminuição da entrada de glicose nas células, diminuição da utilização de glicose em vários tecidos, aumento na produção de glicose pelo fígado perfazendo um quadro de hiperglicemia, sintoma cardinal do diabetes mellitus (Murray, 1985; Mahler & Adler, 1999).

Como a insulina é um potente inibidor da gliconeogênese hepática, a diminuição de sua ação no fígado acarreta aumento da produção basal de glicose, o que contribui para a elevação da glicemia, especialmente em jejum (Skamagas *et al.*, 2008).

A maioria dos pacientes portadora do diabetes mellitus tipo 2 é obesa (cerca de 60 a 90 %), o que por si só já predispõe a resistência insulínica. A redução de peso e/ou tratamento farmacológico da hiperglicemia pode melhorar a resistência insulínica, mas raramente é restaurada ao normal. A população dos diabéticos tipo 2 não é insulínica, embora alguns pacientes utilizem injeções de insulina como parte do tratamento. O United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) mostrou que, entre muitos pacientes o controle metabólico vai se tornando mais difícil com o passar dos anos, levando a necessidade do uso de drogas orais e por fim, à introdução de insulina. A cetoacidose é menos comum em comparação com o diabetes mellitus tipo 1 e pode ocorrer em associação com situação de estresse para o organismo, como infecção ou no uso de um medicamento hiperglicemiante (Vilar & Abdon, 2004).

Evidências experimentais e clínicas sugerem que as complicações do diabetes são em consequência especialmente da hiperglicemia. Estudos demonstram que as complicações microvasculares do diabetes são retardadas com o controle estrito da hiperglicemia (Guyton & Hall, 2002). Ainda hoje, uma das apresentações clássicas do diabetes consiste em infecções recorrentes, e grande parte dos casos da cetoacidose diabética é desencadeada por infecção. O paciente diabético pode apresentar infecções mais freqüentes e/ou mais severas que indivíduos não-diabéticos. É possível demonstrar déficit na quimiotaxia dos neutrófilos que independe da osmolaridade sérica. Esse defeito costuma ser leve e mais freqüentemente demonstrável em diabéticos insulínica. É no

paciente com diabetes descompensado que se observam, *in vitro* e *in vivo*, defeitos significativos na função dos neutrófilos, incluindo quimiotaxia, fagocitose e lise (Navarro *et al.*, 2002).

As manifestações clínicas do diabetes mellitus são polimorfos e variam consideravelmente de paciente para paciente. Mais amiúde, a sintomatologia é decorrente da hiperglicemia, que pode gerar desde um quadro insidioso e brando até um quadro agudo, com aparecimento abrupto dos sintomas, podendo culminar em uma descompensação metabólica aguda da doença (cetoacidose diabética ou estado hiperosmolar não-cetótico). Alguns pacientes podem permanecer assintomáticos durante meses a anos após a instalação da doença, sendo o seu diagnóstico efetuado casualmente num exame de glicemia de rotina ou numa consulta médica devido a uma complicação degenerativa da doença, com neuropatia periférica, oftalmopatia, gangrena, impotência sexual ou evento cardio/cerebrovascular. A expressão inicial do diabetes em alguns pacientes pode se caracterizar por uma síndrome de resistência insulínica, cujo espectro varia desde obesidade e alterações do perfil lipídico até quadros mais extremos, nos quais podem estar presentes acantose nigricans, hiperandrogenismo, disfunção ovariana ou lipoatrofia (Murrell, 1985; Vilar & Abdon, 2004).

A poliúria é considerada uma das manifestações mais precoces do diabetes. É uma consequência da diurese osmótica secundária a hiperglicemia sustentada, resultando em perda da glicose, água livre e eletrólitos na urina. Polidipsia é causada por estímulo ao centro da sede provocado pela desidratação hipertônica, que por sua vez é consequência da poliúria. A polifagia não tem origem devidamente esclarecida, porém parece resultar de um distúrbio do mecanismo regulador dos centros hipotalâmicos de fome e saciedade, que são sensíveis à ação da insulina (Forti *et al.*, 2009).

2.1.2 Diabetes Mellitus como fator de risco para a Doença Periodontal

A periodontite é definida como uma doença inflamatória crônica dos tecidos de suporte dos dentes, causada por microorganismos anaeróbicos Gram-negativos que levam à inflamação gengival, destruição dos tecidos periodontais, perda óssea alveolar e eventual esfoliação dos dentes nos casos mais graves (Tatakis & Kumar, 2005). Certos organismos presentes no biofilme dental são os principais agentes etiológicos da periodontite, porém fatores relacionados ao mecanismos de defesa do hospedeiro, inerentes ao paciente, exercem um papel decisivo na patogenia e na suscetibilidade da doença (Dyke & Dave, 2005).

Os microorganismos causadores da doença produzem endotoxinas na forma de lipopolissacarídeos (LPS) que são instrumentos para a geração de uma resposta imunológica destrutiva mediada por tecidos do hospedeiro. A causa mais comum de destruição óssea na doença periodontal é a extensão do processo inflamatório da gengiva marginal para os tecidos periodontais de suporte (osso alveolar, ligamento periodontal e cimento), podendo ser modificada pelo potencial patogênico do biofilme ou pela própria resistência do hospedeiro, representada pela atividade imunológica e outros mecanismos relacionados com o tecido (Iacopino, 2001).

Condições sistêmicas como o diabetes mellitus podem alterar a resposta imunológica do indivíduo, modificando e agravando o curso natural das doenças periodontais já instaladas. Evidências clínicas e epidemiológicas demonstram que indivíduos com diabetes não-controlada (Tipo 1 e Tipo 2) tendem a ter uma prevalência maior e mais severa da periodontite, com rápida progressão da doença quando comparados a pacientes não-diabéticos (Emrich *et al.*, 1991; Tervonen & Oliver, 1993; Seppälä & Ainamo, 1994).

2.1.3 Estudos Clínicos

Algumas mudanças celulares ocorrem nos tecidos periodontais de pacientes diabéticos, como o espessamento da membrana basal de células endoteliais de capilares periodontais e da parede dos pequenos vasos sanguíneos. O trabalho de Frantzis *et al.* (1971) demonstrou que há um aumento significativamente maior da espessura da membrana basal de capilares gengivais em pacientes diabéticos com periodontite quando comparado a pacientes não-diabéticos. Relatam que essa alteração patológica impede a difusão de oxigênio e a liberação de restos metabólicos pelos tecidos gengivais, resultando em um desequilíbrio fisiológico e aumento da severidade das doenças periodontais.

Manoucherhr-Pour *et al.* (1981) avaliaram em indivíduos diabéticos e não-diabéticos a relação entre a severidade da periodontite e a quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares (PMN) assim como a correlação com o grau de inflamação gengival e perda de inserção. Os resultados demonstraram redução significativa da quimiotaxia dos leucócitos PMN em diabéticos com periodontite severa quando comparados aos diabéticos com periodontite moderada, o que indica uma predisposição desses pacientes a uma destruição mais grave dos tecidos periodontais. Porém não foi possível estabelecer uma correlação entre a deficiência da quimiotaxia de leucócitos PMN com o grau de inflamação dos tecidos periodontais e perda de inserção entre os indivíduos diabéticos e não-diabéticos com periodontite de leve a moderada.

Emrich *et al.* (1991) em um estudo clínico com uma amostra de 1342 indivíduos com alta prevalência de diabetes tipo II, demonstraram que pacientes diabéticos eram 2,8 vezes mais susceptíveis a exibir perda de inserção clínica e 3,4 vezes mais propensos a exibir perda óssea alveolar radiográfica indicativa de periodontite em relação aos não-diabéticos controles.

Firatli (1997) acompanhou a situação periodontal clínica de 20 indivíduos saudáveis e 44 crianças e adolescentes diabéticos tipo 1, por um período de aproximadamente 5 anos. A única diferença estatisticamente significativa observada entre

os grupos foi uma maior perda de inserção clínica após os 5 anos. Uma correlação positiva foi observada entre a duração do diabetes e a perda de inserção. Não houve variações nos índices de placa e nos índices gengivais entre os grupos diabéticos e não-diabéticos.

Christgau *et al.* (1998) monitoraram os efeitos clínicos, microbiológicos, médicos e imunológicos após 4 meses de terapia periodontal não-cirúrgica em pacientes diabéticos e compararam os resultados obtidos com indivíduos saudáveis. O estudo demonstrou que pacientes diabéticos bem controlados respondem à terapia periodontal não-cirúrgica, tão bem quanto aos do grupo controle. Foram encontrados níveis similares de periodontopatógenos em sítios com doença periodontal nos grupos diabéticos e não-diabéticos. Os autores relataram que a resposta similar favorável à terapia periodontal entre os grupos pode ser em razão ao bom controle metabólico dos pacientes diabéticos.

Os resultados de Salvi *et al.* (1998) fornecem evidências que a maior parte dos pacientes com diabetes mellitus tipo 1 possuem traços de hipersecreção de monócitos, com aumento da secreção de Prostaglandinas (PGE_2), Interleucina 1 β (IL-1 β) e fator de necrose tumoral α (TNF- α), o que predispõe a uma resposta inflamatória exagerada na presença de infecção por bactérias gram-negativas.

Taylor *et al.* (1998) observaram através de uma análise clínica longitudinal de 2 anos de acompanhamento, realizado com 362 indivíduos da comunidade indiana de Gila River, progressão de perda óssea alveolar mais grave em indivíduos diabéticos com controle glicêmico inadequado. Os autores suportam a hipótese de que o diabetes mellitus é um importante fator de risco para a doença periodontal.

Sandberg *et al.* (2000) em um estudo controlado compararam a saúde oral de 102 indivíduos diabéticos e 102 não-diabéticos. Observaram através dos achados clínicos e radiográficos que os pacientes diabéticos apresentavam doença periodontal mais severa comparado ao grupo controle, assim como maior incidência de lesões de cárie iniciais. A mais óbvia complicação entre os diabéticos demonstrada nesse estudo foi de que mais da metade deles sofriam de xerostomia. Os pacientes diabéticos apresentaram uma maior necessidade de tratamento periodontal, prevenção à cárie e correções protéticas. Não foi

encontrada nenhuma correlação entre a duração do diabetes e controle metabólico da doença com a severidade do estado periodontal. A conclusão é que indivíduos com diabetes tipo 2 exibem saúde oral mais deficiente e comprometida.

Tervonen *et al.* (2000), avaliaram o grau de perda óssea alveolar em um grupo de jovens (24-36 anos) com diabetes mellitus tipo 1. O grupo diabético foi dividido em 3 subgrupos levando-se em consideração o grau de gravidade da doença. Os autores concluíram que o DM parece agravar a perda óssea alveolar. Portanto se o indivíduo diabético tiver um bom controle metabólico e sem complicações, o grau de perda óssea alveolar é comparável com aquele visto em indivíduos não-diabéticos.

De acordo com Mattson & Cerutis (2001), indivíduos diabéticos, com controle glicêmico deficiente, apresentaram prevalência e severidade da gengivite aumentada, perda de inserção e perda óssea significativamente maior quando comparados aos indivíduos bem controlados ao longo dos anos. Os autores relataram ainda presença de sinais, sintomas e complicações bucais como: xerostomia, queimação na boca e língua, aumento da glândula parótida, infecções por *Candida albicans*, queilite e doença periodontal.

Blanco *et al.* (2003) determinaram a prevalência da gengivite e periodontite em uma população de 70 indivíduos diabéticos e 74 indivíduos não-diabéticos. Os resultados demonstraram que o índice gengival, perda de inserção e recessão gengival foram estatisticamente mais elevados em pacientes diabéticos quando comparados ao grupo controle. Portanto os autores não observaram correlação entre o grau de controle metabólico do diabetes, tempo de evolução e complicações com o grau de inflamação gengival. Após os exames, os autores observaram que os pacientes diabéticos necessitam de tratamentos odontológicos mais complexos.

Engebretson *et al.* (2004) determinaram o controle glicêmico relatado pelos níveis do fluido crevicular gengival (FCG) da IL-1 β . As amostras de FCG foram coletadas em 45 diabéticos com periodontite crônica. Foram mensurados em seis sítios por dente o índice de placa, índice de sangramento à sondagem, profundidade de sondagem e nível de inserção. Os níveis de IL-1 β foram determinados através da amostra individual do FCG,

através do teste ELISA. Foi mensurado a HbA1c e a glicemia em jejum. Os resultados das mensurações periodontais e do controle glicêmico foram significativamente correlacionados com nível da IL-1 β no FCG. Pacientes com níveis de HbA1c maiores que 8% apresentaram um nível significativamente alto da IL-1 β no FCG em relação aos pacientes com HbA1c inferior a 8%. Os autores concluíram que o pobre controle glicêmico está associado a elevados níveis da IL-1 β no FCG, confirmando a hipótese de que a hiperglicemia intensifica a resposta inflamatória, o que o controle glicêmico deficiente está associado a destruição periodontal.

Campus *et al.* (2005) através de análises periodontais clínicas e microbiológicas de 212 indivíduos diabéticos e não-diabéticos, avaliaram a possível associação entre o diabetes mellitus tipo 2 e a doença periodontal. Os resultados indicaram que pacientes diabéticos não-controlados apresentaram níveis de doença periodontal mais altos do que os não diabéticos. Não encontraram, porém diferenças entre a microbiota subgingival dos indivíduos diabéticos e controle.

Faria-Almeida *et al.* (2006) compararam a resposta clínica e metabólica entre pacientes diabéticos e não-diabéticos ao tratamento periodontal convencional, após um período de 6 meses. Ambos os grupos apresentaram sinais clínicos de melhora após o tratamento periodontal sem diferenças estatísticas significantes, com exceção da profundidade de sondagem que apresentou maior redução no grupo controle. Os pacientes diabéticos demonstraram uma melhora do controle glicêmico após o tratamento periodontal, fortalecendo a hipótese da influência que a periodontite exerce sobre o diabetes e vice-versa.

Safkan- Seppälä *et al.* (2006) compararam a atividade colagenase em pacientes diabéticos bem controlados com periodontite com os não-controlados. Os diabéticos não-controlados apresentaram maior perda óssea quando comparados ao grupo controle. A atividade da colagenase no fluido gengival crevicular dos pacientes não-controlados foi similar com a vista nos sujeitos com periodontite crônica, porém maior do que o controle sadio. Não houve diferença entre os indivíduos diabéticos bem controlados e os

sistemicamente sadios. Concluíram que o pobre controle glicêmico está fortemente relacionado à destruição periodontal, e a colagenase no fluido crevicular gengival é um reflexo desse efeito.

2.1.4 Estudos experimentais

Johnson (1985) avaliou os efeitos do diabetes mellitus experimental sobre a perda óssea alveolar em ratos que desenvolvem, sem estímulo externo, perda óssea horizontal progressiva e severa com o decorrer da idade (STR/N). Os animais foram induzidos ao diabetes na 12ª semana de vida pela injeção intravenosa de estreptozotocina (STZ) e a perda óssea foi mensurada no septo inter-dental entre o primeiro e o segundo molar. Comparando ratos diabéticos e não-diabéticos, antes da 18ª semana de vida não havia sinais de perda óssea em ambos os grupos. Após a 18ª semana, a perda óssea no grupo diabético foi significativamente menor do que no grupo controle. Essa condição foi evidente durante a 30ª semana do estudo. O autor pode concluir através deste estudo que o diabetes mellitus não aumenta a perda óssea alveolar em animais suscetíveis, possivelmente porque a condição diabética foi estabelecida depois do início do estabelecimento da reabsorção óssea alveolar.

Johnson (1992) avaliou as estruturas periodontais de suporte (ligamento periodontal, osso alveolar e cemento) de ratos submetidos ao diabetes experimental. Comparou as fibras do ligamento periodontal com a dos animais sadios e concluiu que o diabetes mellitus produz mudanças dramáticas nos padrões de mineralização do osso alveolar e na densidade das fibras de Sharpey na porção média e no terço apical da raiz (fibras oblíquas). O autor sugere que o diabetes mellitus enfraquece a inserção das fibras ao osso alveolar acelerando o envelhecimento de ambas as estruturas. Esse envelhecimento aumenta a rigidez das estruturas periodontais reduzindo a habilidade do periodonto em dissipar as forças mastigatórias. Não foi observada no estudo, nenhuma significativa redução na altura da crista óssea alveolar em ratos diabéticos comparados aos animais

sadios. Assim, a altura óssea alveolar não pode ser considerada uma condição precisa dos efeitos deletérios do diabetes mellitus no periodonto durante os estágios iniciais da doença.

Doxey *et al.* (1998) examinaram os níveis de citocina gengival e perda óssea em ratos com diabetes mellitus induzida por STZ (65 mg/kg) associados ou não a periodontite experimental. A periodontite foi induzida através da inoculação de *Porphyromonas gingivalis* 10 dias após a injeção de STZ. Os autores concluíram que o diabetes por si só não altera os níveis de citocina gengival. Portanto, há uma redução nos níveis de PDGF-B (fator de crescimento de derivado plaquetário-b) e IL-1 β quando o diabetes está associado a periodontite, o que indica um retardo da capacidade de cicatrização e defesa dos tecidos periodontais. A falta dessa citocina em diabéticos pode ser o responsável pela perda óssea alveolar mais severa nos casos de ratos com periodontite.

Segundo Lalla *et al.* (1998), a glicolização não-enzimática é uma das conseqüências mais críticas da hiperglicemia. Após uma série de reações, resulta na formação irreversível de produtos finais de glicolização avançada ou AGEs (advanced glycation end products), que se acumulam em grau acentuado no plasma e em tecidos de pacientes diabéticos. Os AGEs têm seu efeito patogênico pela interação com seus receptores específicos, conhecidos por RAGEs (receptor for advanced glycation end products), que são imunoglobulinas da superfície celular presentes em níveis acentuados em células-alvo de diabéticos, como células endoteliais e monócitos. A interação entre os AGEs dos tecidos periodontais e os RAGEs dos monócitos resulta em diversas alterações crônicas dessas células com conseqüente produção de mediadores da inflamação como TNF- α (fator de necrose tumoral- α), interleucina 1 β e interleucina 6, cujos efeitos podem resultar na ativação de osteoclastos e collagenases, conduzindo a uma destruição do tecido conjuntivo e osso alveolar. A interação dos AGEs com os RAGEs das células endoteliais também pode resultar na perpetuação da resposta inflamatória.

Lalla *et al.* (2000) estudaram a hipótese de que a ligação AGE-RAGE pode contribuir na exacerbação da resposta inflamatória e destruição do tecido conjuntivo e ósseo na doença periodontal associada ao diabetes. Foram utilizados ratos diabéticos, os

quais foram infectados com microorganismos periodontopatógenos humanos. Os autores utilizaram substâncias bloqueadoras da ligação AGE-RAGE. Nos animais que não foram tratados com bloqueadores AGE-RAGE, os autores observaram elevada infecção oral, exagerada resposta inflamatória e elevada destruição óssea alveolar, enquanto que nos ratos tratados com bloqueadores, a destruição periodontal estava ausente.

O trabalho de Mishima *et al.* (2002) demonstrou que o diabetes induzido pela STZ reduz a taxa de reabsorção e formação óssea do osso alveolar em animais porém, não com a mesma intensidade observada em outras regiões como as do fêmur. Os autores enfatizam que o osso alveolar é parte essencial do mecanismo de suporte dos dentes e que responde rapidamente não apenas a fatores sistêmicos mas também a fatores locais como estresse mecânico. Ao contrário dos ossos de outros locais, o osso alveolar tem um padrão único de contínua remodelação. Mesmo nas condições de alterações metabólicas ocorridas no diabetes, o osso alveolar mantém a sua função de formação óssea em decorrência de forças mastigatórias.

He *et al.* (2004) avaliaram os mecanismos pelos quais o diabetes altera a resposta do osso alveolar frente às agressões bacterianas. O estudo foi realizado em ratos dB/dB que naturalmente desenvolvem diabetes tipo 2. Após a inoculação da bactéria, reabsorção óssea e osteoclastogênese foram mensuradas e observou-se redução de ambas no grupo diabético. Os autores concluíram que a perda óssea no diabetes parece estar mais relacionada ao processo de supressão da formação de novo osso do que propriamente da reabsorção óssea observando uma inibição na proliferação de células osteoblásticas e redução na neoformação óssea.

Holzhausen *et al.* (2004) avaliaram em ratos a severidade da perda óssea alveolar causada pelos efeitos do curto tempo do diabetes mellitus associado à periodontite experimental, com e sem terapia insulínica. Dentro dos limites deste estudo, pôde-se sugerir que a severidade da doença periodontal não foi afetada pelo curto tempo do diabetes, e que a periodontite experimental aumenta a taxa de glicose sérica em ratos diabéticos não controlados.

Em um modelo de estudo utilizando ratos diabéticos tipo 2 e periodontite experimental, Liu *et al.* (2006) investigaram os efeitos do diabetes na perda óssea alveolar. Foi demonstrado que o diabetes causa uma resposta inflamatória mais intensa, maior perda de inserção e reabsorção óssea alveolar, além de neoformação óssea deficiente. Essa limitação no reparo ósseo parece ser afetada pelo aumento da apoptose e diminuição do número das células ósseas basais, osteoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal.

Pontes Andersen *et al.* (2006) avaliaram o efeito da doença periodontal (DP) no controle metabólico de ratos Goto-Kakizaki (GK), um novo modelo para o diabetes 2. Os ratos GK foram divididos em: diabéticos e diabéticos + DP. Os ratos Wistar foram utilizados para representar o grupo não-diabético, também dividido em 2 grupos: com e sem DP. A DP foi induzida através da colocação de ligadura ao redor dos segundos molares maxilares e os animais foram acompanhados por 6 semanas. Insulina sérica, glicose e níveis de ácidos graxos foram avaliados. Interleucina (IL) 1 β , IL-6, e fator de necrose tumoral alfa foram medidos no tecido adiposo sobrenadante. Tolerância a glicose e resistência insulínica foram mensuradas. A destruição óssea foi mensurada morfometricamente e radiograficamente. Os resultados indicaram que ratos diabéticos + DP são 30 % mais intolerantes a glicose. Houve um aumento de 25 % de IL-1 β comparado ao grupo só com diabetes. A perda óssea foi mais significativa no grupo diabético +DP comparado ao grupo não-diabético + DP. Os autores concluíram que a DP deteriora o controle metabólico em animais diabéticos, reforçando a idéia de que ela exerce um papel importante no curso da doença.

2.2 TRAUMA OCLUSAL

2.2.1 Definição e Classificação

Por muitos anos o papel da oclusão e seu impacto dinâmico de interação com o periodonto tem sido assunto de debate e grandes controvérsias (Polson, 1955; Svanberg & Lindhe, 1974; Stahl, 1975; Wang *et al.*, 1994; Andereg & Metzler, 2001). Embora a

variedade de condições oclusais existentes (bruxismo, má oclusão, abfração, etc.), o foco central tem sido o trauma oclusal resultante de forças excessivas aplicadas ao periodonto.

O trauma oclusal é definido pela Academia Americana de Periodontia (1999), como uma injúria que ocorre nos tecidos periodontais ou aos dentes resultantes de forças oclusais que excedam a capacidade adaptativa dos mesmos. A oclusão traumática já se refere à causa e é definida como qualquer oclusão que produza injúria ao periodonto. Forças excessivas que resultem em um deslocamento suficiente do dente também podem produzir uma lesão traumática com características histológicas semelhantes. Contudo, não é comum descrever tais forças (ortodônticas), como forças oclusais (Ramfjord & Ash Jr, 1981). Forças oclusais traumatogênicas podem ainda causar injúrias na articulação temporomandibular, nos músculos mastigatórios e na polpa dental (Itoiz *et al.*, 1963; King & Hughes, 1999; Pena & Rode, 2000).

O trauma oclusal pode ser resultante de alterações das forças oclusais e/ou na redução da capacidade dos tecidos periodontais de resistir a elas ou ainda, uma combinação de ambas (Hallmon, 1999). Partindo deste princípio, o trauma oclusal pode ser classificado em:

1. Trauma Oclusal Primário: injúria causada nos tecidos periodontais resultante de forças oclusais excessivas aplicadas ao dente ou dentes com suporte periodontal normal. Ocorre na presença do periodonto com nível de inserção e nível ósseo normal.

2. Trauma Oclusal Secundário: injúria causada nos tecidos periodontais resultante de forças oclusais normais ou anormais aplicadas a um dente ou dentes com suporte periodontal reduzido. Isso ocorre em elementos dentários que apresentam suporte ósseo reduzido e perda de inserção. Nesse caso, pequenas forças oclusais podem produzir lesões traumáticas ou mudanças adaptativas no periodonto (Academia Americana de Periodontia, 1999).

Alguns autores ainda classificam o trauma oclusal em agudo e crônico (Budtz-Jorgensen, 1980; Davies *et al.*, 2001). O trauma oclusal agudo resulta do aumento das

forças oclusais traumáticas de forma abrupta, como as que ocorrem quando se morde inesperadamente um objeto duro. O trauma oclusal crônico é o mais comum e tem maior significância clínica (Davies *et al.*, 2001).

Tanto o trauma oclusal primário como o secundário podem ser causados pelo bruxismo. Tratamentos dentais defeituosos e restaurações podem ser fatores iatrogênicos significantes no trauma oclusal. A destruição periodontal causada pelo trauma contínuo em dentes suportes pode estar associada ao uso de próteses parciais removíveis mal planejadas e grampos defeituosos. Hábitos como morder canetas e lápis ou objetos estranhos podem resultar em destruição localizada das estruturas de suporte dos dentes (Ramfjord & Ash Jr, 1981).

2.2.2 Modelos de Indução do Trauma

A literatura descreve vários dispositivos utilizados em modelos animais que reproduzem as forças oclusais traumáticas direcionadas às estruturas dentárias.

Itoiz *et al.* (1963) investigaram 3 diferentes métodos de produção de trauma de oclusão em ratos Wistar: 1) restaurações de amálgama na oclusal de molares com sobrecontorno; 2) cimentação da cabeça de um alfinete metálico também em molar; 3) cimentação de um arco palatino entre os dois molares superiores. Os resultados do estudo demonstraram que o arco palatal produziu alterações nos tecidos periodontais mais intensas quando comparado aos outros métodos utilizados. Sete dias após a instalação do arco palatal, um aumento significativo da reabsorção óssea foi observado, estendendo-se por 2 a 4 semanas. Áreas de necrose da membrana periodontal e reabsorção cementária também foram detectadas.

Comar *et al.* (1969) avaliaram os efeitos das forças oclusais traumatogênicas na evolução do processo inflamatório dos tecidos periodontais em 4 macacos *Rhesus*. Para

produzir o trauma oclusal, os autores cimentaram nos pré-molares inferiores dos animais, coroas em ouro altas, com adaptação marginal grosseira e espaços interproximais abertos, o que favorecia o acúmulo de alimentos. Nesse modelo de indução, alterações dos tecidos periodontais provenientes do acúmulo de biofilme dental somaram-se às alterações histológicas resultantes das forças oclusais traumáticas.

Kawamoto & Nagoaka (2000), para a promoção do trauma oclusal, adotaram um modelo de sobrecarga oclusal baseado no aumento da dimensão vertical a partir da cimentação de um metal de 1 mm de altura na superfície oclusal dos molares de ratos. Nogueira-Filho *et al.* (2004) induziram o trauma oclusal em ratos através de um desgaste das cúspides dos segundos e terceiros molares de ambos os lados dos animais, gerando, dessa forma, interferência oclusal no primeiros molares. Kaku *et al.* (2005) utilizaram fios de aço cimentados com resina sobre as faces oclusais dos primeiros molares, criando contato prematuro e forças traumáticas de oclusão intermitentes.

2.2.3 Características Histológicas, Clínicas e Radiográficas.

Alterações histológicas ocorridas no trauma oclusal têm sido extensivamente estudadas em materiais de autópsia de animais e humanas (Glickman & Smulow, 1962; Comar *et al.*, 1969; Svanberg & Lindhe, 1974; Budtz-Jorgensen, 1980; Polson & Heijl, 1980; Nogueira-Filho *et al.*, 2004; Noma *et al.*, 2007). As alterações nos tecidos periodontais (ligamento periodontal e osso alveolar) que têm sido associadas ao trauma oclusal variam com a magnitude e direção das forças oclusais aplicadas, assim como a localização (pressão versus tensão). Essas forças traumáticas podem ser classificadas em trauma do tipo alternado e trauma do tipo ortodôntico (Hallmon, 1999).

Trauma tipo ortodôntico: forças que incidem sobre o dente em uma só direção. Os dentes tendem a se inclinarem na direção da força. Essa força resulta no desenvolvimento de zonas de pressão e tensão nas áreas marginal e apical do periodonto.

Na zona de pressão há um aumento da vascularização, aumento da permeabilidade vascular, trombose vascular e desorganização das células e feixes de fibras colágenas. Se a intensidade das forças estiver dentro dos limites que permitam a manutenção da vitalidade das células do ligamento periodontal, há uma migração dos osteoclastos para a superfície óssea, causando uma reabsorção óssea direta (Comar *et al.*, 1969; Kaku *et al.*, 2005). Caso haja um aumento dessas forças oclusais e não houver tempo para a remodelação periodontal, ocorre o fenômeno denominado reabsorção óssea indireta, com necrose do ligamento periodontal, decomposição de células, vasos, matriz e fibras (hialinização) (Harrel & Nunn, 2001). Na zona de tensão ocorre aposição óssea concomitante às alterações ocorridas na zona de pressão. Há um aumento exagerado da mobilidade dentária. Quando as forças são anuladas, ocorre o reparo dos tecidos periodontais tanto na zona de pressão como na zona de tensão, e o dente torna-se estável em sua nova posição (Stahl, 1975).

Trauma tipo alternado: forças traumáticas aplicadas às coroas dos dentes alternadamente em direção vestibular e lingual ou mesial e distal e nas quais os dentes ficam impedidos de se afastar delas, não havendo tempo para que os tecidos de sustentação sejam reparados, diferentemente do trauma do tipo ortodôntico (Davies *et al.*, 2001). Esse é o modelo de força que ocorre no trauma oclusal. Nesse tipo de trauma, zonas de pressão e tensão coincidem em um mesmo sítio, levando a reações teciduais semelhantes àquelas da zona de pressão. A largura do espaço do ligamento periodontal no tipo alternado aumenta gradualmente em ambos os lados do dente na tentativa de adaptação fisiológica frente às forças traumatogênicas, resultando em mobilidade dental (Svanberg & Lindhe, 1974; Ericsson & Lindhe, 1977). De acordo com a condição periodontal existente, diferentes características clínicas e radiográficas resultantes do trauma oclusal alternado podem ocorrer (Figura 1).

Forças Oclusais Alternadas	Periodonto sadio Altura óssea normal	Periodonto sadio Altura óssea reduzida	Periodontite
	<ul style="list-style-type: none"> • Espessamento do ligamento periodontal • Reabsorção óssea • Não há perda de inserção • Mobilidade dentária reversível 	<ul style="list-style-type: none"> • Espessamento do ligamento periodontal • Reabsorção óssea • Inflamação gengival e perda de inserção não detectável • Mobilidade dentária reversível 	<ul style="list-style-type: none"> • Espessamento gradual do ligamento periodontal • Mobilidade progressiva • Perda óssea angular

Figura 1 – Resultado das forças oclusais alternadas em condições periodontais diferentes.

Apesar de relatos isolados como os de Budtz-Jorgensen (1980) que demonstrou, em experimento com animais, reações periodontais agudas decorrentes do trauma oclusal, incluindo formação de bolsas periodontais, os estudos geralmente não tem reportado migração apical do epitélio juncional associado às forças oclusais traumáticas. No trauma oclusal não há o comprometimento dos tecidos gengivais de proteção (gengiva marginal) não ocorrendo inflamação gengival, migração do epitélio juncional e nem perda de inserção (Itoiz *et al.*, 1963; Hallmon, 1999, Ramfjord & Ash Jr, 1981; Harrel & Nunn, 2004). O dano restringe-se ao periodonto de suporte (ligamento periodontal, osso alveolar e cimento radicular) (AAP, 2000).

Apesar de o trauma oclusal ser uma lesão histológica, indicadores clínicos e radiográficos viabilizam o seu diagnóstico. Indicadores clínicos foram propostos como: mobilidade, contatos oclusais prematuros, frêmitus, sensibilidade dolorosa à mastigação e à percussão, sensibilidade térmica, facetas de desgaste, dores musculares, fraturas dentárias, migração dentária (Budtz-Jorgensen, 1980; Ramfjord & Ash, 1981; Pihlstrom *et al.*, 1986; Anderegg & Metzler, 2001); alterações no cimento radicular (Noma *et al.*, 2007) e na polpa dentária (Pena & Rode, 2000).

São relacionados como indicadores radiográficos do trauma oclusal: alteração da lâmina dura, espessamento do ligamento periodontal, reabsorção óssea e reabsorção radicular (Jin & Cao, 1992; Hallmon, 1999).

Avaliando a via de propagação das lesões periodontais ocorridas no trauma oclusal, Glickman (1963) dividiu os tecidos periodontais em duas zonas: zona de irritação (gengiva marginal e gengiva interdental) e zona de co-destruição (ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar) demarcada coronariamente pelos feixes de fibras colágenas e fibras transeptais. O autor determinou que as alterações ocorridas na zona de irritação são causadas pelo biofilme dental e que a propagação desta lesão é direcionada primariamente à crista óssea alveolar. Por outro lado, alterações histológicas ocorridas no trauma oclusal atingem o ligamento alveolar, cemento radicular e osso alveolar, sem o comprometimento da gengiva marginal. A teoria de co-destruição proposta por Glickman, portanto, sugere que o trauma oclusal na presença da periodontite, pode resultar em alteração no caminho normal da lesão associada ao biofilme, levando a inflamação dos tecidos gengivais primariamente em direção ao espaço do ligamento periodontal, causando uma progressão de destruição periodontal mais rápida e severa. A teoria sustenta a hipótese de que os resultados deste processo co-destrutivo são defeitos ósseos angulares e bolsas infra-ósseas.

O conceito de oclusão como fator co-destrutivo proposto por Glickman (1963) foi questionado por Waerhaug *et al.* (1979). Baseado em suas observações em dentes humanos extraídos e a forma dos defeitos ósseos encontrados, relataram que não havia evidências conclusivas de que forças oclusais traumáticas atuassem como co-fatores no processo de formação dos defeitos ósseos angulares. Associaram aos defeitos infra-ósseos a localização do biofilme dental.

Ramfjord & Kohler (1959) estudaram o comportamento dos tecidos periodontais em dentes humanos submetidos a forças oclusais traumáticas. Demonstraram que apesar da presença de reabsorção óssea alveolar e reabsorção da superfície radicular, notável estabilidade das fibras de Sharpeys foi observada. Relataram que a estabilidade

biológica dessas estruturas é de grande importância para a prevenção do colapso do epitélio juncional e formação de bolsa periodontal nas lesões traumáticas e nas mudanças periodontais sistêmicas.

Comar *et al.* (1969) avaliando o trauma oclusal como fator co-destrutivo no processo da doença periodontal relataram que um dos achados mais significantes encontrados em animais foi o comportamento das fibras transeptais do ligamento periodontal. Durante os períodos de destruição e reparação óssea frente às forças oclusais traumáticas, essas fibras apresentaram poder de resistência e maior mecanismo de proteção ao tecido ósseo. Demonstraram serem as estruturas periodontais mais estáveis em resposta às forças oclusais excessivas. Não foi observada migração do epitélio juncional durante a sondagem clínica e a avaliação histológica. O processo inflamatório dos tecidos gengivais foi observado tanto em dentes traumatizados como nos não traumatizados, revelando esta não ser uma característica específica do trauma oclusal. As estruturas do periodonto abaixo das fibras interdentais estavam sujeitas às forças oclusais traumáticas, enquanto as fibras interdentais e estruturas localizadas acima foram influenciadas por fatores locais e/ou sistêmicos corroborando com a teoria co-destrutiva proposta por Glickman (1963).

Estudos sugerem uma forte associação do trauma oclusal e da periodontite. Lindhe & Svanberg (1974) em seus estudos com cães demonstraram através das análises histológicas, uma maior proliferação apical do epitélio juncional nos grupos onde havia associação do trauma oclusal e inflamação gengival. Concluíram que o efeito do trauma ao nível de inserção requer a presença da lesão inflamatória induzida por placa no tecido conjuntivo supra-alveolar. Foi sugerido que o trauma de oclusão pode ser acelerado pela presença da periodontite.

Ramfjord & Ash Jr (1981) em revisão bibliográfica, concluíram que o trauma oclusal não inicia ou agrava a gengivite marginal ou inicia a formação de bolsa periodontal. Pode, no entanto, acelerar a perda óssea e formação de bolsa dependendo da presença de irritantes locais e inflamação gengival. Relataram ainda que a eliminação do trauma oclusal

seja parte essencial do tratamento periodontal e no restabelecimento do sistema mastigatório saudável.

Quando forças oclusais traumáticas são aplicadas a dentes com periodontite experimental instalada, há um aumento da atividade osteoclástica, permeabilidade vascular contínua e migração de leucócitos polimorfonucleares, o que indica um desequilíbrio na homeostase óssea alveolar. A migração apical do epitélio juncional é mais pronunciada nessas condições quando comparado a dentes com periodontite sem o trauma oclusal associado (Svanberg & Lindhe, 1974; Lindhe & Svanberg, 1974).

Ficou demonstrado que as alterações oclusais não desencadeiam o início da doença periodontal, porém desempenham um papel importante na sua progressão (Polson & Heijl, 1980). Na ausência de inflamação existente, foi notado que as mudanças ósseas que acompanham o trauma oclusal podem ser reversíveis pela remoção das forças oclusais agressivas (Harrel & Nunn, 2001).

Estudos clínicos também relacionaram a severidade da periodontite com os sinais clínicos e radiográficos do trauma oclusal. Autores como Pihlstrom *et al.* (1986) indicaram em um estudo em primeiros molares maxilares de 300 indivíduos, que dentes com sinais de trauma (mobilidade e espessamento do ligamento periodontal) e presença radiograficamente visível de cálculo, apresentavam maior profundidade de sondagem, maior perda de inserção clínica e suporte ósseo reduzido. Dentes com contatos oclusais fora dos padrões de normalidade não apresentavam aumento da severidade da periodontite comparados aos dentes sem esses contatos. Casos de níveis de inserção clínica iguais, dentes com evidência de mobilidade funcional e espessamento do ligamento periodontal tinham menos suporte ósseo do que dentes sem esses achados. Os autores relataram que para qualquer dado de nível de inserção, dentes com espessamento do ligamento periodontal e mobilidade funcional tinham aproximadamente 10 % menos suporte ósseo comparados aos dentes sem esses parâmetros. Portanto a magnitude da diferença no suporte ósseo entre os grupos teste e controle não se tornaram maior com o aumento da perda de inserção.

Jin & Cao (1992) reportaram em avaliações clínicas que desarmonias oclusais (contatos oclusais em relação cêntrica, lado de trabalho, lado de balanceio ou em movimentos protusivos) não estavam associadas com o aumento da profundidade de bolsa, perda de inserção clínica e perda óssea alveolar. É interessante porém notar que dentes que demonstraram sinais de trauma oclusal (mobilidade, espessamento do ligamento periodontal) tiveram maior profundidade de sondagem, perda de inserção e menor suporte ósseo quando comparados àqueles sem esses sinais. Os resultados demonstraram que para perdas de inserção idênticas, dentes com trauma oclusal apresentaram menor suporte ósseo do que os dentes sem trauma. Além disso, a magnitude da diferença do suporte ósseo alveolar entre dentes com trauma e sem trauma aumenta quando há um aumento da perda de inserção. Os autores concluíram que o trauma oclusal está positivamente relacionado à perda do suporte ósseo em periodontite avançada e moderada.

Nunn & Harrel (2001) conduziram um estudo epidemiológico retrospectivo para investigar a relação do trauma de oclusão e a severidade da doença periodontal através da avaliação de parâmetros clínicos periodontais como: discrepâncias oclusais, profundidade de sondagem, mobilidade e alterações mucogengivais. Para isso foram avaliadas fichas clínicas de 89 pacientes com histórico de doenças periodontais e tratamentos anteriores. Os resultados revelaram que dentes com interferências oclusais obtiveram uma profundidade de sondagem significativamente maior, um maior aumento da mobilidade e um prognóstico significativamente pior do que os dentes sem esses achados. Os autores concluíram haver uma forte associação entre as discrepâncias oclusais iniciais e os parâmetros clínicos indicativos da doença periodontal, relacionando evidências de que a oclusão traumática representa fator de risco independente no desenvolvimento da doença periodontal.

Bernhardt *et al.* (2006) baseados em dados clínicos, médicos e dentais de uma população de 2.980 indivíduos da Pomerania, entre 20 a 79 anos de idade, demonstraram haver uma forte associação do aumento da profundidade de sondagem e da perda de inserção com a presença de contatos oclusais prematuros no lado de balanceio dos elementos dentários estudados. Embora haja essa relação, os autores concluíram que esses

achados não representam impacto clínico e, portanto não provam a associação causa-efeito entre interferências oclusais e doença periodontal.

Burgett *et al.* (1992) avaliaram a influência do ajuste oclusal associado à terapia periodontal sobre o nível de inserção, profundidade de bolsa e mobilidade dentária em 50 pacientes. Reportaram que os indivíduos que receberam ajustes oclusais como parte do tratamento periodontal tiveram ganho na média de sondagem (0,42 mm) relativamente significativo comparado àqueles sem ajuste (0,02 mm). Portanto, não houve redução da mobilidade dentária, redução de profundidade de bolsa periodontal ou influência na progressão da doença periodontal.

Anderegg & Metzler (2001) relataram que a redução ou eliminação da mobilidade dental foi e ainda é utilizada como um sinal clínico indicativo do sucesso da terapia periodontal e oclusal. Os autores afirmam que a presença e o grau da mobilidade dentária devem ser determinados assim como uma avaliação funcional da oclusão. A terapia oclusal deve ser aceita como parte integrante da terapia periodontal.

Harrel & Nunn (2001) avaliaram clinicamente em humanos, o efeito do ajuste oclusal na evolução da periodontite, concluindo que o tratamento das discrepâncias oclusais reduz consideravelmente a progressão da doença, podendo ser um adjunto importante na terapia periodontal.

2.2.4 Estudos Experimentais

Glickman *et al.* (1966) investigaram o efeito do diabetes mellitus induzido em ratos, sobre os tecidos periodontais frente a forças oclusais traumáticas. Para a indução do diabetes foi utilizado injeção de alloxana. Os 365 animais foram divididos em 4 grupos: (1) diabéticos; (2) diabéticos + trauma; (3) trauma; (4) controle, sem diabetes e sem trauma. A indução do trauma nos animais do grupo 2 foi realizada oito semanas após a primeira

injeção de alloxana. Para criar interferências oclusais, foi feita uma cavidade na face oclusal dos primeiros e segundos molares maxilares direito e preenchidos com amálgama com sobre contorno. Os animais foram sacrificados nos intervalos de 7, 14, 78 e 115 dias. Nos ratos diabéticos houve uma diminuição da atividade fibroblástica no ligamento periodontal, impedindo formação de novo osso e cemento. Os autores concluíram que o diabetes interfere na capacidade reparativa dos tecidos periodontais agravando e prolongando o efeito das forças oclusais excessivas.

Budtz-Jorgensen (1980) investigou possíveis mudanças endocrinológicas e periodontais decorrentes de disfunções oclusais em macacos. Utilizou splints oclusais na maxila que aumentavam a dimensão vertical de oclusão em 3-4 mm e causavam interferências oclusais. Entre a 1ª e 3ª semana após a inserção do splint, as taxas de cortisol na urina dos animais já indicavam um estresse emocional. Além disso, houve evidências de trauma agudo de oclusão nos dentes mandibulares do lado teste, incluindo um aumento significativo da mobilidade dental e do índice gengival. Radiograficamente havia sinais de colapso do osso alveolar marginal e inter-radicular. Um animal desenvolveu bolsa periodontal de 4-5 mm adjacente ao dente do lado teste. Após 6 semanas houve um declínio nos níveis de cortisol enquanto que a mobilidade, índice gengival e índice de placa permaneceram elevados. Não houve evidências clínicas e radiográficas ou maior perda óssea ou aumento da profundidade de sondagem adjacente aos dentes do lado teste durante os períodos mais avançados do experimento. Os resultados sugerem que o estresse emocional pode estar envolvido nas reações periodontais associadas ao trauma oclusal.

Kawamoto & Nagaoka (2000) investigaram se a perda de estrogênio em 132 ratas fêmeas afetaria as alterações ósseas alveolares induzidas pela oclusão traumática. Um grupo de animais foi ovariectomizado (OVX) e outro submetido à cirurgia simulada. Sete dias após o procedimento cirúrgico, metade das ratas em cada grupo foi sujeita à oclusão traumática e outra metade serviu de controle. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os grupos OVX + trauma quando comparados aos grupos com cirurgia simulada + trauma no que diz respeito aos parâmetros de reabsorção. Concluíram que a

dinâmica de reabsorção óssea alveolar induzida pela oclusão traumática é aumentada pela deficiência de estrogênio.

Nogueira-Filho *et al.* (2004) avaliaram os efeitos da nicotina nas mudanças ósseas alveolares induzida pelo trauma oclusal primário e secundário. Foram utilizados no experimento 30 ratos Wistar divididos em 3 grupos. Grupo A: recebeu injeções de solução de nicotina aplicadas diariamente e forças oclusais excessivas; Grupo B receberam solução salina e forças oclusais excessivas; Grupo C apenas injeção de solução salina. Em todos os 3 grupos foi induzida a doença periodontal através da ligadura em um dos lados do animal. Os resultados obtidos demonstraram que a nicotina aumentou significativamente a perda óssea induzida pelo trauma oclusal nos dentes com ligadura quando comparados aos outros grupos. Os dentes que não apresentavam ligadura nos grupos A e B apresentaram maior perda óssea quando comparados ao grupo C demonstrando que forças oclusais traumáticas podem levar a perda óssea alveolar.

Kaku *et al.* (2005) investigaram as alterações ocorridas no ligamento periodontal e no osso alveolar, assim como a indução de osteopontina frente a forças oclusais traumáticas. Os autores utilizaram fios de aço cimentados com resina sobre as faces oclusais dos primeiros molares esquerdos de 18 ratas com o objetivo de induzir o trauma oclusal. Três ratas serviram como controle. Clinicamente, os autores verificaram a partir do 7º dia, mobilidade nos dentes induzidos ao trauma oclusal. Não foram observadas reações inflamatórias do epitélio circundante aos dentes com trauma durante o período experimental. Compressão do ligamento periodontal e migração de osteoclastos no septo inter-radicular apical foram observadas do 1º ao 3º dia do experimento. No 5º dia, houve um espessamento do ligamento periodontal e aumento de osteoclastos. Ao 7º dia, a dilatação dos vasos se tornou mais intensa e lacunas na superfície óssea alveolar foram ocupadas por vasos sanguíneos. Foi observada uma adaptação do ligamento periodontal e seqüelas da reabsorção óssea no septo inter-radicular ao 14º dia. A osteopontina foi detectada no grupo teste a partir do 3º dia em alguns osteoclastos, ao redor dos fibroblastos e em osteoblastos adjacentes à área de compressão. Os autores concluíram que embora a osteopontina intracelular tenha sido produzida em osteoclastos na presença de forças oclusais intermitentes, o papel dessa proteína nas células ainda não está bem claro.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar histometricamente a influência do diabetes mellitus sobre a perda óssea alveolar ocorrida no trauma oclusal associado ou não à periodontite experimental.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

No presente estudo foram utilizados 32 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) adultos, machos, com idade de 9-10 semanas, pesando entre 250 e 300g, provenientes do Instituto de Pesquisa do Amazonas (INPA).

Os animais apresentavam-se saudáveis no estágio inicial. Durante o período experimental estes animais foram mantidos em gaiolas individuais com acesso a comida (ração Purina – Nuvilab CR-1 autoclavável; Nuvital, SP, Brasil) e água *ad libitum*. Antes do início do experimento os animais passaram por um período de 5 dias para a aclimação ao ambiente do laboratório à $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e com ciclo claro/escuro de 12/12 h, estáveis durante todo o período do estudo.

Todos os procedimentos foram aprovados e executados de acordo com as normas éticas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biologia da UNICAMP (CEEA-IB-UNICAMP) sob o protocolo nº 1563-1 (Anexo 1).

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os 32 animais utilizados foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos:

Grupo 1 - (DM + TO+ PE n= 08)

Ratos Diabéticos com Trauma Oclusal e Periodontite Experimental

Grupo 2 - (DM + TO n= 08)

Ratos Diabéticos com Trauma Oclusal

Grupo 3 - (TO+PE n= 08)

Ratos não-diabéticos com Trauma Oclusal e Periodontite Experimental

Grupo 4 - (TO n=08)

Ratos não-diabéticos com Trauma Oclusal.

O diabetes mellitus foi induzido nos animais do Grupo 1 e Grupo 2 no primeiro dia do experimento através da injeção intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) a 60 mg/kg. Um sorteio inicial foi realizado para randomizar o lado (direito ou esquerdo) dos dentes que seriam submetidos à periodontite experimental e ao trauma oclusal para todos os grupos estudados.

Transcorridos 10 dias após a indução do diabetes mellitus, os animais do Grupo 1 (diabéticos) e Grupo 3 (não-diabéticos) foram submetidos à indução da periodontite experimental pela colocação da ligadura nos primeiros molares inferiores esquerdo (lado já selecionado no sorteio inicial).

No 25º dia do experimento, os animais de todos os grupos (G1, G2, G3 e G4) foram induzidos ao trauma oclusal, através da fixação do fio ortodôntico na face oclusal dos primeiros molares inferiores esquerdo. Os animais foram sacrificados ao 35º dia do experimento (Figura 2).

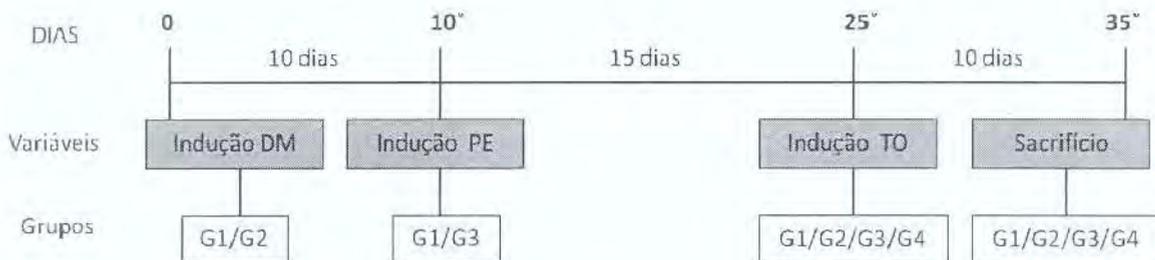


Figura 2 - Protocolo e Cronograma Experimental. Diabetes Mellitus (DM), Periodontite Experimental (PE) e Trauma Oclusal (TO).

4.3 INDUÇÃO DO DIABETES MELLITUS

Previamente a indução do diabetes, os animais selecionados foram pesados e amostras de sangue da veia caudal foram coletadas para análise do nível de glicose

utilizando-se o glicosímetro (Accu-Chek Active[®], Roche). A indução foi realizada pela manhã após o período de 12 horas de jejum, exceto água *ad libitum*. Para a indução do diabetes mellitus nos Grupos 1 e 2, foi utilizada solução de 60 mg/ kg de estreptozotocina (STZ) (Sigma, St. Louis, MO, USA), em dose única dissolvida em tampão citrato (0,01 M; pH 4.5) injetada via intraperitoneal (Johnson, 1985; Delfino *et al.*, 2002) (Figura 3). Os animais do grupo controle (Grupo 3 e 4) receberam como placebo, tampão citrato 0,01 M, pH 4.5.

A diluição do pó de STZ na solução tampão era realizada poucos minutos antes da sua utilização e o volume injetado não excedia a 0,5 ml por animal.



Figura 3 - a. Frasco contendo pó de estreptozotocina (STZ). b. Injeção via intraperitoneal de STZ.

Ao início do experimento, 25 animais foram selecionados para a indução do DM. Após a indução, seis animais vieram a óbito e três não apresentaram teor glicêmico \geq 250 mg/dl, sendo portanto excluídos dos grupos diabéticos.

4.3.1 Análise da glicose sérica

Após 72 horas de indução do diabetes mellitus, foram coletadas amostras de sangue da ponta da cauda dos animais, no período entre 6 e 8 horas da manhã e colocadas diretamente em tiras de teste para a análise do nível de glicose utilizando-se o glicosímetro (Accu-Chek Active[®], Roche) (Figura 4). A definição operacional utilizada para o diagnóstico do estado diabético dos animais foi perda de peso e glicose \geq a 250 mg/dl durante todo o experimento. A determinação da glicemia para confirmação do estado diabético foi realizada nos tempos: inicial, 3, 10, 25 e 35 dias.



Figura 4 - Análise da glicose sérica utilizando-se o glicosímetro (Accu-Chek Active[®], Roche).

4.4 INDUÇÃO DA PERIODONTITE EXPERIMENTAL

Dez dias após a indução do diabetes, os animais do G1(diabéticos) e G3(não-diabéticos) foram induzidos à periodontite experimental.

Inicialmente, todos os animais foram pesados e para os animais com diabetes mellitus induzida (G1), foi confirmado o teor glicêmico \geq 250 mg/dl. Os animais foram então anestesiados por meio da administração intramuscular de ketamina (1 ml/kg)

(Francotar[®]; Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil) e 0,3 ml/kg de cloridrato de xylasina (Virbaxil[®]; Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil).

Antes da colocação da ligadura, foi feito um sorteio para selecionar o lado da mandíbula que seria utilizado como teste, ficando estipulado o primeiro molar inferior do lado esquerdo para todos os animais de todos os grupos. O dente do lado contralateral (direito) serviu de controle.

Após este procedimento, os maxilares foram gentilmente abertos por meio do aparato de Doku (1966) para a inserção de uma ligadura de fio de seda ao redor dos primeiros molares inferiores esquerdo ao nível do sulco gengival, de acordo com a técnica descrita por Johnson (1975) (Figura 5). Este fio atuou como irritante gengival favorecendo o acúmulo de placa bacteriana (Figura 6). Realizado este procedimento, foi aguardado um período de 15 dias para então dar início ao período da indução do trauma oclusal.



Figura 5 – Mesa operatória. Aparatu de Doku modificado.



Figura 6 – a. Introdução da ligadura no sulco gengival para induzir a doença periodontal. **b.** Ligadura instalada.

4.5 INDUÇÃO DO TRAUMA OCLUSAL

A indução do trauma oclusal se deu 25 dias após a indução do diabetes mellitus.

O trauma foi induzido tanto nos animais diabéticos (G1 e G2) como nos animais não-diabéticos (G2 e G4). Antes da indução do trauma, o teste glicêmico foi realizado em todos os animais e confirmado glicemia ≥ 250 mg/dl nos Grupos diabéticos. A anestesia foi administrada por via intramuscular com uma solução de 1 ml/kg de ketamina (Francotar[®]; Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil) e 3 ml/kg de cloridrato de xylasina (Virbaxil[®]; Virbac do Brasil Indústria e Comércio LTDA, Roseira, SP, Brasil). Os maxilares foram gentilmente abertos por meio de bandas elásticas colocadas em volta dos incisivos superiores e inferiores para instalação de um segmento de fio ortodôntico (0,5 mm de diâmetro e aproximadamente 1 mm de comprimento) e de incrementos de resina fotopolimerizável na face oclusal do primeiro molar inferior esquerdo de forma a criar a interferência oclusal seguindo o modelo preconizado por Kaku *et al.* (2005).

A superfície oclusal do molar foi previamente limpa com algodão umedecido, seguindo-se da aplicação com microbrush do sistema adesivo autocondicionante (Clearfil Se Bond[®], Kuraray) segundo o protocolo de aplicação do fabricante. A fixação do fio ortodôntico foi feita utilizando-se incrementos de resina fotopolimerizável (Z100[®]; 3M, Sumaré, SP, Brasil) ultrapassando levemente o limite da altura do fio (Figura 7). O período de indução ao trauma foi de 10 dias em todos os grupos.

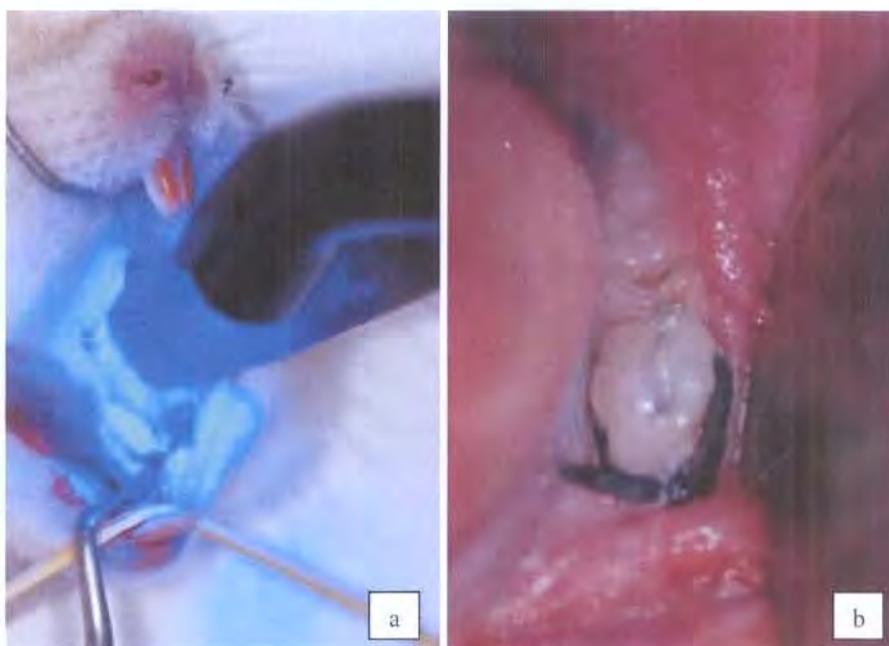


Figura 7 - a. Instalação do fio ortodôntico com resina fotopolimerizável. **b.** Fio ortodôntico instalado na face oclusal do molar + ligadura.

4.6 SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS E PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os animais de todos os Grupos foram sacrificados ao 35º dia do experimento. Para o sacrifício foi administrada dose letal de thiopental (150 ml/kg) (Cristália; Itapira, SP, Brasil). As mandíbulas foram removidas, dissecadas e fixadas em solução de formol neutro a 10% por um período mínimo de 48 horas.

As hemi-madíbulas foram descalcificadas com EDTA 10 % por 10 semanas, à temperatura ambiente, sendo a solução renovada diariamente. Após a desmineralização, os espécimes foram desidratados em etanol, diafanizados em xilol e incluídas em parafina. Secções longitudinais méso-distais de 5-6 μm de espessura foram obtidas por auxílio de um micrótomo (Leica RM2155, Germany) e coradas com hematoxilina e eosina.

4.7 ANÁLISE HISTOMÉTRICA

4.7.1 Área inter-radicular

O volume da perda óssea inter-radicular na região da bifurcação foi determinado utilizando-se o princípio de Cavalieri segundo as recomendações de Gundersen & Jensen (1987) e Gundersen *et al.* (1999). Escolhida a orientação de corte mais conveniente para a delimitação da região da bifurcação dos primeiros molares mandibulares, foram obtidos cortes seriados de 5-6 μm de espessura a partir da tábua óssea vestibular e separados os cortes nos quais a região de bifurcação foi identificada. Para a estimativa de volume foi desprezado o primeiro corte, selecionando-se os demais distanciados regularmente entre si de modo a se obter no mínimo 10 cortes por dente. Selecionados os cortes, os mesmos foram digitalizados em um aumento de 50X (5X objetiva e 10X ocular). Para capturar as imagens dos cortes, foi utilizado o programa Computer Eye (Digital Vision, Dedham, MD, USA). Utilizando-se o sistema de pontos de um retículo quadriculado (Image-Pro®, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA), foi mensurada a área de tecido conjuntivo proveniente da destruição do tecido ósseo na região inter-radicular (Figura 8, Figura 9). O retículo foi constituído de quadrados de 0,08 mm de aresta e 0,0064 mm² de área. O retículo foi posicionado de maneira que sempre incluísse dentina coronária e radicular e o tecido ósseo, sendo computados os pontos que coincidíssem com as intersecções das arestas dos quadrados adjacentes que estavam dentro da área de tecido conjuntivo presente na região inter-radicular em consequência da perda óssea (Figura 10). A área de reabsorção óssea foi calculada utilizando-se a fórmula Área

reabsorvida = N° de pontos x Área do quadrado. A área de reabsorção óssea da região de furca foi determinada a partir da média das leituras dos 10 cortes equidistantes por dente, expressa em mm².

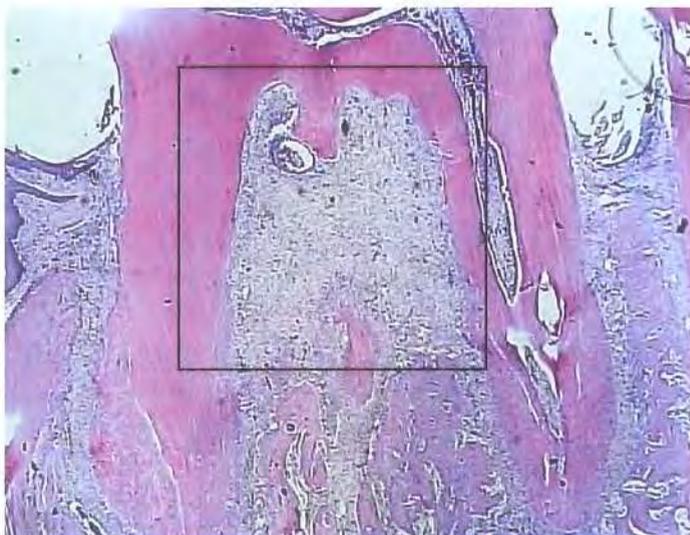


Figura 8 – Delimitação da área inter-radicular selecionada para a análise histométrica. Aumento de 2,5X. Corante Hematoxilina e Eosina.



Figura 9 – Delimitação da área de tecido conjuntivo mensurado proveniente da reabsorção óssea na região inter-radicular. Aumento de 5X. Corante Hematoxilina e Eosina.

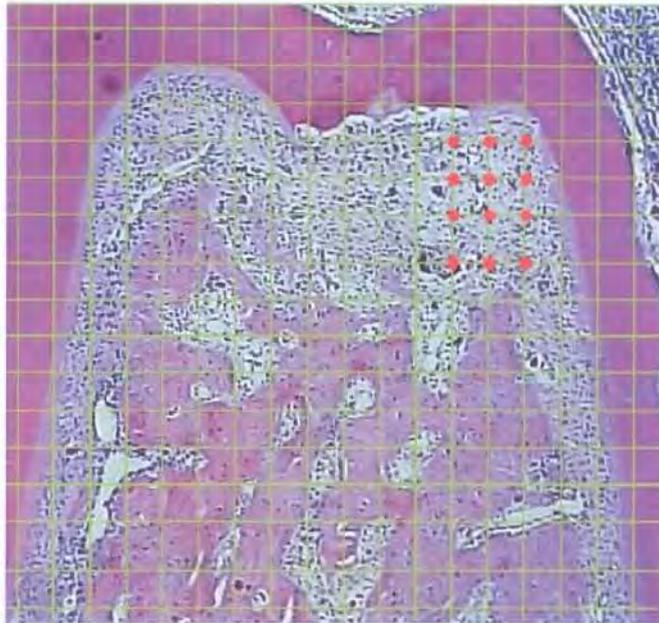


Figura 10 – Representação esquemática do retículo posicionado na área inter-radicular. Os pontos vermelhos posicionados nas intersecções das arestas dos quadrados adjacentes dentro da área de reabsorção óssea preenchida por tecido conjuntivo na região inter-radicular. Aumento 5X. Corante Hematoxilina e Eosina.

4.7.2 Análise Estatística

Após a análise exploratória dos dados obtidos os mesmos foram transformados em $1/x$ para que atendessem as pressuposições da análise de variância (ANOVA) e submetidos à ANOVA em esquema de parcela subdividida, sendo as parcelas representadas pelos fatores Diabetes (com e sem) e Trauma (com e sem periodontite experimental) e as subparcelas representadas pelos lados (teste e controle). O nível de significância adotado foi de 5%. Para a análise do nível glicêmico e peso dos animais nos tempos inicial e final foi utilizada o teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5% (ESTRELA, 2005).

5 RESULTADOS

Os animais diabéticos (G1 e G2) apresentaram alterações no nível de glicose sérica constatada 72 horas após a injeção de STZ, permanecendo com taxa glicêmica ≥ 250 mg/dl durante todo o período experimental (Figura 12). O teste de Tukey mostrou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) dos níveis glicêmicos quando comparado o período inicial e final dos animais diabéticos (Tabela 1). Sinal clínico da doença como a perda de peso foi observado nos animais diabéticos (Tabela 1, Figura 11). Os animais não diabéticos apresentaram-se sem alterações clínicas na saúde geral, com ganho de peso dentro dos níveis médios esperados para ratos saudáveis, apresentando níveis glicêmicos estáveis dentro do padrão de normalidade (Tabela 1).

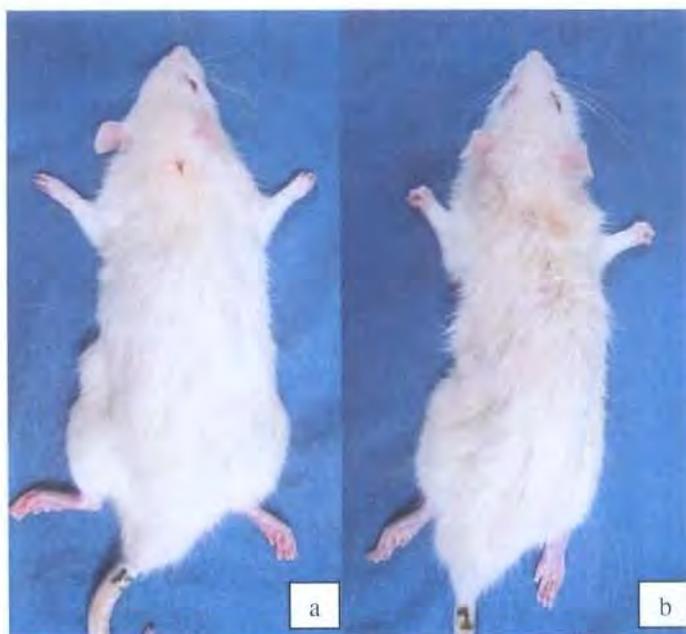


Figura 11 - Tamanho dos animais da mesma idade no final do experimento. **a** - não-diabético. **b** - diabético

Tabela 1 - Média e Desvio padrão (DP) dos níveis glicêmicos (mg/dl) e peso (g) dos animais não-diabéticos e diabéticos nos diferentes grupos e períodos experimentais. DM: Diabetes Mellitus. TO: Trauma Oclusal. PE: Periodontite Experimental.

Grupos	G1 (DM+TO+PE)		G2 (DM+TO)		G3 (TO+PE)		G4 (TO)	
	I	F	I	F	I	F	I	F
Peso	279,37 (± 16,07)	200,62 (± 37,29)	271,37 (± 15,62)	252,25 (±42,68)	286,20 (±9,35)	319,12 (±25,24)	285 (±6,07)	295,62 (±28,17)
Glicemia	103,37 (± 12,25)	336,62 (±61,96)	101,37 (± 15,65)	409,62 (±92,37)	111,20 (± 7,58)	103 (±7,25)	114,75 (±8,92)	98,12 (±18)

I (Inicial) e F (Final).



Figura 12: Gráfico dos níveis glicêmicos (mg/dl) dos animais dos diferentes grupos nos dias: 0,10, 25 e 35. DM: Diabetes Mellitus. TO: Trauma Oclusal. PE: Periodontite Experimental.

A avaliação dos cortes histológicos mostrou área de reabsorção óssea alveolar preenchida por tecido conjuntivo na região do teto da furca dos dentes com TO em todos os grupos (G1, G2, G3, G4), revelando diferença estatística significativa entre os dentes do lado teste e controle ($p < 0,0001$) (Figura 13, Tabela 2). Nos dentes do lado controle de todos os grupos foi observado histologicamente espaço pertinente ao ligamento periodontal, sem detecção de áreas de reabsorção óssea alveolar preenchidas por tecido conjuntivo (Figura 14, Tabela 2).

A análise histométrica mostrou áreas de reabsorção óssea mais severa para os grupos que apresentavam Trauma Oclusal associado à Periodontite Experimental (G1 e G3) sendo detectadas diferenças estatísticas significantes ($p < 0,05$) quando comparados aos grupos submetidos apenas ao Trauma Oclusal (G2 e G4), tanto em animais diabéticos como nos não-diabéticos (Tabela 2).

Diferença estatística significativa ($p < 0,05$) foi detectada entre o Grupo Diabético com Trauma Oclusal+Periodontite Experimental ($6,36 \pm 2,40 \text{ mm}^2$) e Grupo Não-diabético também com Trauma Oclusal+Periodontite Experimental ($3,58 \pm 2,44 \text{ mm}^2$), ou seja, a média de área reabsorvida foi significativamente maior para o grupo diabético (Figura 15, Tabela 2).

A análise histométrica demonstrou preenchimento de tecido conjuntivo nas áreas de reabsorção óssea do Grupo Diabetes + Trauma Oclusal ($0,64 \pm 0,12 \text{ mm}^2$) e Grupo Trauma Oclusal sem Diabetes ($0,62 \pm 0,11 \text{ mm}^2$), porém sem diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p > 0,05$) (Figura 15, Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição das médias e desvio padrão da reabsorção óssea em mm^2 segundo o tratamento.

Grupos	Diabetes	Trauma	Controle	Teste
G1	Com	TO+PE	0,35 (0,03) Ba	6,36 (2,40) Aa
G2	Com	TO	0,35 (0,06) Ba	0,64 (0,12) Ac
G3	Sem	TO+PE	0,33 (0,04) Ba	3,58 (2,44) Ab
G4	Sem	TO	0,41 (0,07) Ba	0,61 (0,11) Ac

Médias seguidas de letras distintas (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical comparando trauma dentro de cada grupo, com ou sem diabetes) diferem entre si pela ANOVA ($p < 0,05$).

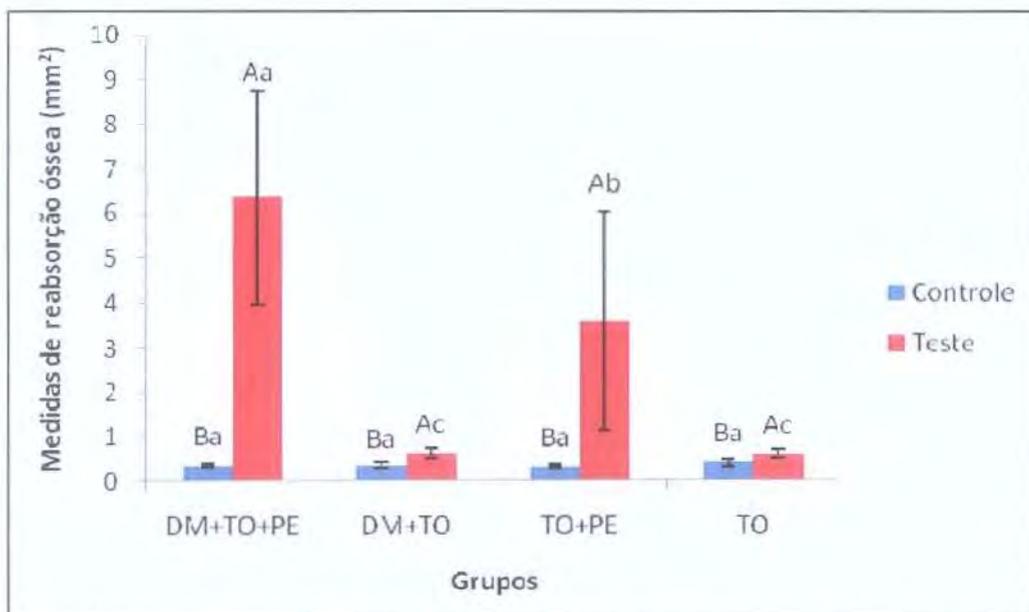


Figura 13: Gráfico de distribuição das médias de reabsorção óssea (mm²) dos diferentes grupos. DM: Diabetes Mellitus. TO: Trauma Oclusal. PE: Periodontite Experimental.

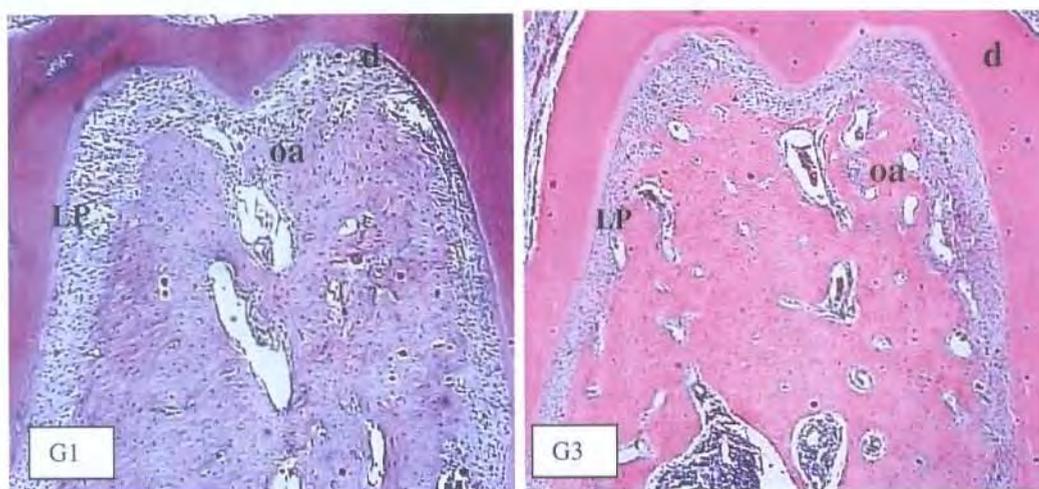


Figura 14: Cortes histológicos ilustrando área de furca dos molares lado controle. G1: DM+TO+PE; G3: TO+PE. **d**-dentina; **oa**-osso alveolar da furca; **lp**- ligamento periodontal. Aumento 5X. Corante Hematoxilina e Eosina.

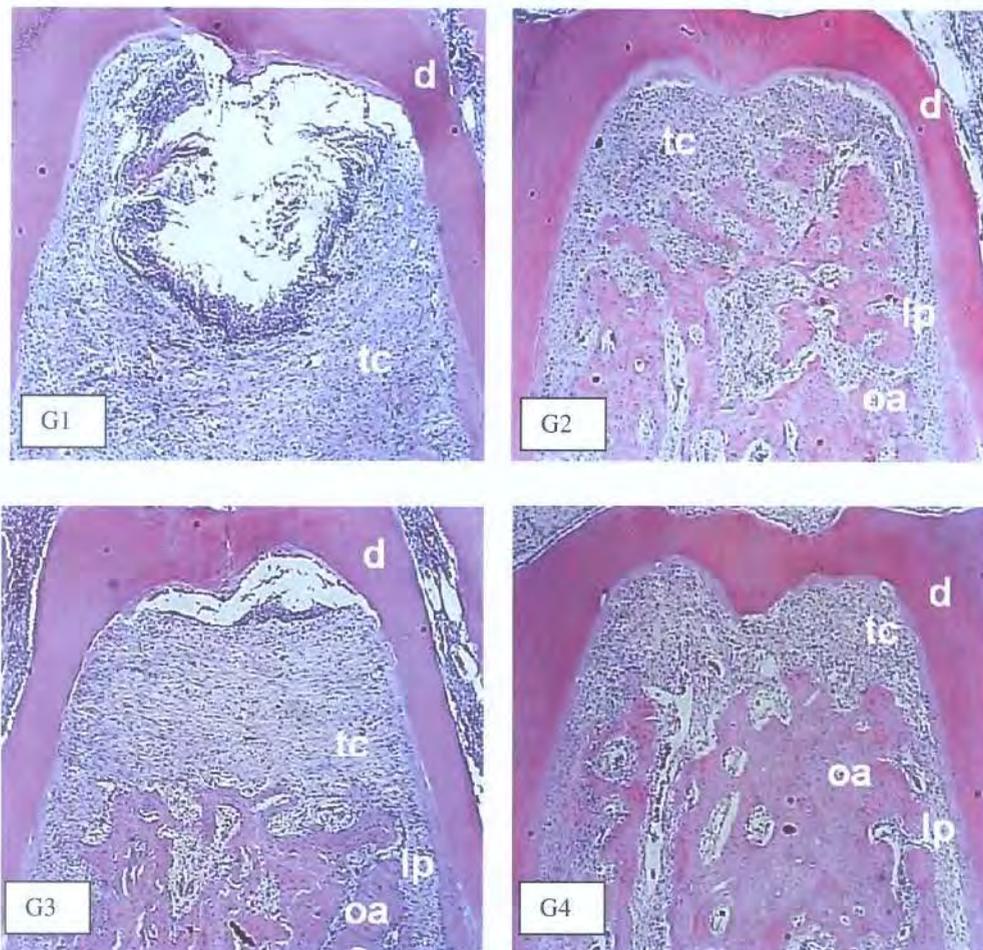


Figura 15: Cortes histológicos ilustrando área de furca dos molares do lado teste. G1: DM+TO+PE; G2: DM+TO; G3: TO+PE; G4: TO. **d**-dentina; **tc**-tecido conjuntivo proveniente da reabsorção óssea; **oa**-osso alveolar da furca; **lp**- ligamento periodontal. Aumento 5X. Corante Hematoxilina e Eosina.

6 DISCUSSÃO

O papel do diabetes mellitus como fator de risco para a doença periodontal vem sendo intensamente discutido nos últimos anos (Emrich *et al.*, 1991; Taylor *et al.*, 1998; Jin *et al.*, 2003; Campus *et al.*, 2005; Dyke & Dave, 2005; Andersen *et al.*, 2007). A explicação para essa ocorrência está baseada no fato de inúmeras alterações moleculares e celulares causadas pela hiperglicemia afetarem os tecidos periodontais. Poucos estudos porém relatam alterações sistêmicas associadas ao trauma oclusal (Glickman *et al.*, 1966; Budtz-Jorgensen, 1980; Kawamoto & Nagoaka, 2000). Supõe-se que há uma tendência aumentada para reabsorção óssea quando fatores locais como biofilme e fatores sistêmicos se somam às forças traumáticas. O presente estudo avaliou em ratos a influência do diabetes mellitus na reabsorção óssea alveolar na presença do trauma oclusal associado ou não à periodontite experimental.

Neste experimento, para a indução do diabetes mellitus, foi utilizado um agente diabetogênico, estreptozotocina (STZ), que causa destruição seletiva das células β do pâncreas induzindo uma diminuição da produção de insulina. Assim como em outros trabalhos reportados na literatura (Johnson, 1985; Lalla *et al.*, 1998; Delfino *et al.*, 2002; Mishima *et al.*, 2002; Holzhausen *et al.*, 2004) os resultados do presente estudo demonstraram um aumento significativo dos níveis de glicose no plasma dos animais tratados com STZ (≥ 250 mg/dl) já nas primeiras 72 horas após a indução, permanecendo essa condição durante todo o período experimental, o que demonstrou eficácia do modelo utilizado.

Visando reproduzir as forças traumáticas de oclusão, diversos dispositivos têm sido utilizados com êxito em estudos com animais: aumento da dimensão vertical de oclusão utilizando restaurações de amálgama, cimentação da cabeça de alfinete na oclusal dos dentes, arco palatal (Itoiz *et al.*, 1963), coroas metálicas altas cimentadas aos dentes (Comar *et al.*, 1969), desgaste das cúspides dos segundos e terceiros molares de ambos os lados, criando uma interferência em primeiros molares (Nogueira-Filho *et al.*, 2004). No

presente experimento foi criado contato prematuro nos dentes por meio da utilização de um fio metálico cimentado com resina sobre as faces oclusais dos primeiros molares inferiores seguindo o modelo preconizado por Kaku *et al.* (2005), que observaram grande destruição óssea e mudanças significativas do ligamento periodontal durante o experimento. Os autores relatam que o modelo utilizado reproduz forças traumáticas de oclusão intermitentes assim como as que geralmente ocorrem na clínica, o que permite uma investigação mais precisa das alterações periodontais provenientes do trauma oclusal.

Assim como o trabalho de Kaku *et al.* (2005) os resultados estatísticos deste experimento demonstraram eficácia quanto ao modelo utilizado de indução do trauma oclusal. Dez dias após a indução, reabsorção óssea significativa ($p < 0,05$) foi observada na região da furca dos primeiros molares inferiores do lado teste quando comparada ao lado controle em todos os grupos. Os resultados estão de acordo aos de Budtz-Jorgensen (1980) que investigando mudanças periodontais decorrentes de interferências oclusais em animais constataram sinais de trauma oclusal entre a 1ª e 3ª semana após a indução do mesmo, com colapso do osso alveolar marginal e inter-radicular e mobilidade dental. Semelhantemente, Comar (1969) demonstrou que os períodos de maior destruição do periodonto frente à oclusão traumática, ocorreram do 5º ao 14º dia em modelos experimentais, corroborando com os resultados de Glickman *et al.* (1962) que observaram ao 7º dia, na bifurcação de molares de ratos submetidos a forças oclusais traumáticas, áreas de compressão e necrose do ligamento periodontal e osso alveolar adjacente, aumento da atividade osteoblástica e osteoclástica, redução da altura da crista óssea e espessamento do ligamento periodontal.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, outros trabalhos clínicos e experimentais também demonstraram que forças oclusais excessivas em um periodonto sadio podem resultar em reabsorção óssea alveolar com conseqüente aumento da mobilidade dentária, o que representa uma adaptação fisiológica do ligamento periodontal e do osso alveolar frente às forças traumáticas de oclusão (Polson & Heijl, 1980; Pihlstrom *et al.*, 1986; Jin & Cao 1992; Nogueira-Filho *et al.*, 2004).

Na comparação intergrupos, a análise histométrica demonstrou perda óssea mais severa para os grupos com trauma e periodontite experimental associada quando comparados aos grupos com trauma sem a periodontite ($p < 0,05$), tanto para animais diabéticos como para os não-diabéticos. Os resultados obtidos corroboram com os achados experimentais de Lindhe & Svanberg (1974) e Polson & Heijl (1980) que observaram maior perda óssea na região de furca quando forças oclusais traumáticas foram associadas à doença periodontal. Por outro lado Waerhaug *et al.* (1979) em estudo com espécimes de material humano, concluíram que o trauma oclusal não tem relação com o grau de destruição dos tecidos periodontais e que a perda óssea é uma consequência da atividade bacteriana do biofilme. Porém, conclusões baseadas em pesquisas obtidas de espécimes humanas têm valor limitado quando se procura determinar uma relação de causa e efeito entre o trauma e a periodontite progressiva. Consequentemente numerosos autores afirmam que o trauma acelera o processo de perda óssea na presença de inflamação gengival, sendo um fator agravante da doença periodontal (Lindhe & Svanberg, 1974; Ramfjord & Ash Jr, 1981; Halmonn, 1999; Harrel & Nunn, 2001; Nogueira-Filho *et al.*, 2004; Noma *et al.*, 2007).

Em se tratando da influência do diabetes mellitus sobre as alterações ósseas alveolares, os resultados do presente estudo demonstraram que nos animais diabéticos com trauma oclusal associado à periodontite experimental, a reabsorção óssea foi mais severa ($p < 0,05$) quando comparados aos animais não-diabéticos também com trauma e periodontite. Por outro lado os dados estatísticos não confirmam que o diabetes tenha agravado a perda óssea nos animais com o trauma oclusal sem doença periodontal ($p > 0,05$) quando comparados aos animais não-diabéticos, corroborando com os achados de Glickman *et al.* (1966) que apesar de terem observado, através dos achados histológicos, uma diminuição da atividade fibroblástica do ligamento periodontal em animais diabéticos com trauma oclusal, não reportaram perda óssea alveolar mais severa nesses animais. Johnson em seus estudos (1985 & 1992) avaliando o comportamento dos tecidos periodontais em animais diabéticos, observou alterações nos padrões de mineralização do osso alveolar e das fibras de Sharpey, sugerindo que o diabetes acelera o envelhecimento

ósseo podendo reduzir posteriormente a habilidade do periodonto em dissipar as forças mastigatórias. Em seu trabalho, no entanto não foi observada redução na altura da crista óssea alveolar induzida pelo diabetes. Em outro estudo realizado por Mishima *et al.* (2002) ficou demonstrado que há uma redução da taxa de reabsorção e formação óssea alveolar em animais diabéticos, porém não com a mesma intensidade observada em outros ossos e que ao contrário destes, o osso alveolar tem um padrão único de contínua remodelação.

Em concordância com os nossos resultados, estudos clínicos e experimentais têm demonstrado uma correlação positiva entre progressão de perda óssea e diabetes mellitus não-controlado quando associado à infecção. Emrich *et al.* (1991) demonstraram que pacientes diabéticos com doença periodontal são 3,4 vezes mais propensos a exibir perda óssea alveolar quando comparados aos não diabéticos. Resultados semelhantes como os de Taylor *et al.* (1998) foram encontrados em uma comunidade indiana de Gila River. Após uma avaliação com 362 indivíduos, os autores observaram uma progressão de perda óssea alveolar mais grave em indivíduos diabéticos com controle glicêmico inadequado.

Em trabalhos com animais, Lalla *et al.* (2000) relataram que uma das conseqüências mais críticas do estado hiperglicêmico é o acúmulo dos produtos finais da glicosilação não-enzimática (AGES) que atuam sobre receptores de macrófagos e monócitos resultando em aumento na secreção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 (IL-1) e prostaglandina (PGE₂), cujos efeitos podem resultar na ativação de osteoclastos e colagenases, conduzindo a uma destruição do tecido conjuntivo e osso alveolar maior em animais com doença periodontal. Liu *et al.* (2006) também demonstraram resposta inflamatória mais intensa, maior perda de inserção e reabsorção óssea alveolar mais severa nos animais diabéticos com periodontite experimental quando comparados aos não diabéticos. Diferentes resultados, porém foram encontrados por Holzhausen *et al.* (2004) em que a severidade da doença periodontal em ratos não foi afetada pelo diabetes mellitus induzido por STZ.

Fatores etiológicos diferentes estão relacionados ao trauma oclusal isolado e ao trauma oclusal associado à periodontite. O primeiro tem etiologia puramente mecânica e o

segundo tem caráter infeccioso, pela associação do biofilme dental às forças oclusais traumáticas. O efeito do diabetes sobre os tecidos periodontais, assim como foi demonstrado em vários estudos (Frantzis *et al.*, 1971; Emrich *et al.*, 1991; Seppälä & Ainamo, 1994; Lalla *et al.*, 1998; Iacopino, 2001) está diretamente relacionado à redução do mecanismo de defesa do hospedeiro e à suscetibilidade aumentada a infecções, o que teoricamente poderia explicar em parte os resultados encontrados neste experimento quanto à reabsorção óssea mais severa encontrada nos animais diabéticos que apresentavam trauma oclusal associado à doença periodontal.

Embora vários estudos tenham associado diabetes e reabsorção óssea alveolar, apenas o de Glickman *et al.* (1966) avaliou o efeito da doença no trauma oclusal. Não foram encontrados na literatura trabalhos que relacionaram o diabetes mellitus com o trauma oclusal associado à periodontite, não sendo possível a comparação com os resultados deste estudo. Ainda que as reações biológicas pareçam ser similares entre humanos e modelos animais experimentais, existem muitas diferenças no que diz respeito ao papel do trauma oclusal e fatores a ele relacionados como força, intensidade e direção assim como a resposta individual do hospedeiro. Mais estudos deverão ser feitos relacionando fatores sistêmicos a forças oclusais traumáticas, objetivando-se entender melhor a dinâmica do processo de reabsorção ocorridas no trauma oclusal.

7 CONCLUSÃO

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

1. O diabetes mellitus agrava a perda óssea alveolar em animais quando há associação do trauma oclusal e periodontite;
2. O diabetes não interfere na progressão da reabsorção óssea ocorrida no trauma oclusal sem a doença periodontal;
3. Perda óssea alveolar mais severa ocorre nos dentes com trauma oclusal e periodontite associada quando comparados aos dentes com trauma oclusal sem a doença periodontal.

REFERÊNCIAS *

1. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *J Periodontol.* 2002; 29: 177-206.
2. Alkan A, Keskiner I, Arici S, Sato S. The effect of periodontitis on biting abilities. *J Periodontol.* 2006; 77(8): 1442-1445.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2010; 33(1): S62-S69.
4. Anderegg CR, Metzler DG. Tooth mobility revisited. *J Periodontol.* 2001 Jul; 72(7): 963-967.
5. Bernhardt O, Gesch D, Look JO, Hodges JS, Schwahn C, Mack F, *et al.* The influence of dynamic occlusal interferences on probing depth and attachment level: results of the study of health in Pomerania (SHIP). *J Periodontol.* 2006 Mar; 77(3): 506-516.
6. Blanco JJA, Villar BB, Martinez EJ, Vallejo PS, Blanco FJS. Problemas bucodentales en pacientes con diabetes mellitus (II): índice gingival y enfermedad periodontal. *Med Oral.* 2003; 8: 233-247.
7. Budtz-Jorgensen E. A 3-month study in monkey of occlusal dysfunction and stress. *Scand J Dent Res.* 1980; 88: 171-180.
8. Burgett FG, Ramfjord SP, Nissle RR, Morrison EC, Charbeneau TD, Caffesse RG. A randomized trial of occlusal adjustment in the treatment of periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1992; 19: 391-387.
9. Campus G, Salem A, Uzzau S, Baldoni E, Tonolo G. Diabetes and periodontal disease: a case- control study. *J Periodontol.* 2005; 76: 418-425.
10. Christgau M, Palitzsch KD, Schmalz G, Kreiner U, Frenzel S. Healing response to non-surgical periodontal therapy in patients with diabetes mellitus: clinical, microbiological, and immunologic results. *J Clin Periodontol.* 1998 Feb; 25(2): 112-124.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com a Medline

11. Comar MD, Kollar JA, Gargiulo AW. Local irritation and occlusal trauma as co-factors in the periodontal disease process. *J Periodontol.* 1969 Apr; 40(4): 193-200.
12. Conget I. Diagnosis, classification and pathogenesis of diabetes mellitus. *Rev Esp Cardiol.* 2002; 55: 528-538.
13. Davies SJ, Gray RJ, Linden GJ, James JA. Occlusal considerations in periodontics. *Br Dent J.* 2001 Dec; 101(11): 597-604.
14. Delfino VDA, Figueiredo JF, Matsuo T, Favero ME, Matni AM, Mocelin AJ. Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina: comparação em longo prazo entre duas vias de administração. *J Bras Nefrol.* 2002; 24(1): 31-36.
15. Doku HC, Shklar G, Bugbee B. The effect of epsilon aminocaproic acid on the healing of extraction wounds in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1966 Nov; 22(5): 569-577.
16. Doxey DL, Cutler CW, Iacopino AM. Diabetes prevents periodontitis-induced increases in gingival platelet derived growth factor-B and interleukin 1-beta in a rat model. *J Periodontol.* 1998 Feb; 69(2): 113-119.
17. Dyke TEV, Dave S. Risk factors for periodontitis. *J Int Acad Periodontol.* 2005 Jan; 7(1): 03-07.
18. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in hispanic americans with Type 2 diabetes. 2008 Apr; 79: 637-646.
19. Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol.* 1991; 62: 123-131.
20. Engebretson SP, Hey-Hadavi J, Ehrhardt FJ, Hsu D, Celenti RS, Grbic JT, *et al.* Gingival crevicular fluid levels of interleukin- 1 β and glycemic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes. *J Periodontol.* 2004; 75: 1203-1208.
21. Ericsson I, Lindhe J. Lack of effect of trauma from occlusion on the recurrence of experimental periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1977 May; 4(2): 115-27.
22. Estrela C, Figueiredo JAP. *Endodontia: princípios biológicos e mecânicos.* São Paulo. Artes Médicas; 2001.

23. Faria-Almeida R, Navarro A, Bascones A. Clinical and metabolic changes after conventional treatment of Type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006; 77: 591-598.
24. Firatli E. The relationship between clinical periodontal status and insulin-dependent diabetes mellitus. Results after 5 years. *J Periodontol.* 1997; 68: 136-140.
25. Forti A, Loureiro R, Gusmão A, Teixeira L. Diabetes mellitus – classificação e diagnóstico. In: Vilar L, editor. *Endocrinologia Clínica.* 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009. p.539-550.
26. Frantzis TG, Reeve CM, Brown AL Jr. The ultrastructure of capillary basement membranes in the attached gingival of diabetic and nondiabetic patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 1971 Jul; 42(7): 406-411.
27. Gher ME. Changing concepts. The effects of occlusion on periodontitis. *Dent Clin North Am.* 1998 Apr; 42(2): 285-299.
28. Glickman I, Smulow JB, Moreau J. Effect of alloxan diabetes upon the periodontal response to excessive occlusal forces. *J Periodontol.* 1966; 37: 146-155.
29. Glickman I, Smulow JB. Alterations in the pathway of gingival inflammation into the underlying tissues induced by excessive occlusal forces. *J Periodontol.* 1962 Jan; 33: 7-13.
30. Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology reconsidered. *J Microscopy.* 1999; 193:119-211.
31. Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microscopy.* 1987; 147: 229-63.
32. Guyton AC, Hall JE. Insulina, glucagon e diabetes mellitus. In: *Tratado de fisiologia médica.* 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002. Cap. 78: 836-839.
33. Hallmon WW. Occlusal trauma: effect and impact on the periodontium. *Ann Periodontol.* 1999 Dec; 4(1): 102-108.
34. Harrel SK, Nunn ME. The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. II. Relationship of occlusal treatment to the progression of periodontal disease. *J Periodontol.* 2001 Apr; 72(4): 495-505.

35. He H, Liu R, Desta T, Leone C, Gerstenfelde LC, Graves DT. Diabetes causes decreased osteoclastogenesis, reduced bone formation, and enhanced apoptosis of osteoblastic cells in bacteria stimulated bone loss. *Endocrinology*. 2004; 145 (1): 447-452.
36. Holzhausen M, Garcia DF, Pepato MR, Marcantonio EJ. The influence of short-term diabetes mellitus and insulin therapy on alveolar bone loss in rats. *J Periodont Res*. 2004; 39: 188-193.
37. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol*. 2001; 6: 125-137.
38. Itoiz ME, Carranza FZ, Cabrini RL. Histologic and histometric study of experimental occlusal trauma in rats. *J Periodontol*. 1963; 34: 305-314.
39. Jin LJ, Cao CF. Clinical diagnosis of trauma from occlusion and its relation with severity of periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1992 Feb; 19(2): 92-97.
40. Jin LJ, Chiu GKC, Corbet EF. Are periodontal diseases risk factors for certain systemic disorders- what matters to medical practitioners? *Hong Kong Med*. 2003 Feb; 9(1): 31-37.
41. Johnson IH. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J Periodontol*. 1975 Dec; 10(6): 332-345.
42. Johnson RB. Effects of experimental diabetes mellitus on alveolar bone loss in periodontal disease-susceptible mice. *J Periodontal Res*. 1985 May; 20(3): 307-316.
43. Johnson RB. Morphological characteristics of the depository surface of alveolar bone of diabetic mice. *J Periodontal Res*. 1992 Jan; 27(1): 40-47.
44. Kaku M, Uoshima K, Yamashita Y, Miura H. Investigation of periodontal ligament reaction upon excessive occlusal load-osteopontin induction among periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 2005 Feb; 40(1): 59-66.
45. Kawamoto S, Nagaoka E. The effect of estrogen deficiency on the alveolar bone resorption caused by traumatic occlusion. *J Oral Rehabil*. 2000 Jul; 27(7): 587-594.
46. Kawasaki E, Abiru N, Eguchi K. Prevention of type 1 diabetes: from the view point of β cell damage. *Diabetes Res Clin Pract*. 2004; 66: 27-32.

47. King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol.* 2008 Aug; 79: 1527-1534.
48. King GN, Hughes FJ. Effects of occlusal loading on ankylosis bone, and cementum formation during bone morphogenetic protein-2-stimulated periodontal regeneration in vivo. *J Periodontol.* 1999; 70: 1125-1135.
49. Kobayashi K, Kobayashi K, Soeda W, Watanabe T. Gingival crevicular pH in experimental gingivitis and occlusal trauma in man. *J Periodontol.* 1998; 69: 1036-1043.
50. Koide M, Suda S, Saitoh S, Ofuji Y, Suzuki T, Yoshie H *et al.* In vivo administration of IL-1 β accelerates silk ligature-induced alveolar bone resorption in rats. *J Oral Pathol Med.* 1995; 24: 420-434.
51. Lalla E, Lamster IB, Drury S, Fu C, Schmidt AM. Hyperglycemia, glycooxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. *Periodontology.* 2000; 23: 50-62.
52. Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Schmidt AM. A murine model of accelerated periodontal disease in diabetes. *J Periodont Res.* 1998; 33: 387-399.
53. Lernmark A. Type I diabetes. *Clin Chem.* 1999; 45(8): 1331-1338.
54. Lindhe J, Karring T, Lang N, editors. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral.* 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
55. Lindhe J, Svanberg G. Influence of trauma from occlusion on progression of experimental periodontitis in the beagle dog. *J Clin Periodontol.* 1974; 1: 3-14.
56. 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 Jun; 85(6): 510-514.
57. Loe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol.* 1986 May; 13(5): 431-445.
58. Loe H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1993; 16: 329-334.

59. Lyra R, Oliveira M, Luís D, Cavalcanti N. Prevenção do Diabetes Mellitus Tipo 2. *Arq Bras Endocrinol. Metab.* 2006; 50 (2) : 239-249.
60. Mahler RJ, Adler ML. Type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *J Clin Endocrinol Metab.*1999; 84: 1165-1171.
61. Manouchehr-Pour M, Spagnuolo PJ, Rodman HM, Bissada NF. Impaired neutrophil chemotaxis in diabetic patients with severe periodontites. *J Dent Res.* 1981 Mar; 60 (3): 729-730.
62. Mathis D, Vence L, Benoist C. β -Cell death during progression to diabetes. *Nature.* 2001; 414: 792-798.
63. Mattson JS, Cerutis DR. Diabetes mellitus: a review of the literature and dental implications. *Compend Contin Educ Dent.* 2001; 22: 757-60.
64. Mealey BL, Oates TW. The American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol.* 2006; 77: 1289-1303.
65. Mishima N, Sahara N, Shirakawa M, Ozawa H. Effect of streptozotocin-induced diabetes mellitus on alveolar bone deposition in the rat. *Arch Oral Biol.* 2002 Dec; 47 (12): 843-849.
66. Murillo J, Wang Y, Xu X, Klebe RJ, Chen Z, Zardeneta G, *et al.* Advanced glycation of Type I collagen and fibronectin modifies periodontal cell behavior. *J Periodontol.* 2008; 79 (11): 2190-2199.
67. Murrain VA. Diabetes mellitus and associated oral manifestations: a review. *J Oral Pathol.* 1985 Apr; 14 (4) : 271-81.
68. Navarro SAB, Faria-Almeida R, Bascones MA. Relación entre diabetes mellitus y enfermedad periodontal. *Av Periodon Implantol.* 2002 Apr; 14 (1): 9-19.
69. Nogueira-Filho GR, Fróes Neto EB, Casati MZ, Reis SR, Tunes RS, Tunes UR *et al.* Nicotine effects on alveolar bone changes induced by occlusal trauma: a histometric study in rats. *J Periodontol.* 2004 Mar; 75 (3): 348-352.
70. Noma N, Kakigawa H, Kozono Y, Yokota M. Cementum crack formation by repeated loading in vitro. *J Periodontol.* 2007 Apr; 78(4): 764-769.

71. Nunn ME, Harrel SK. The effect of occlusal discrepancies on periodontitis. I. Relationship of initial occlusal discrepancies to initial clinical parameters. *J Periodontol.* 2001; 72: 485-494.
72. Penna LAP, Rode SM. Morphological study of the pulp of Wistar rats molars under experimental occlusal interference. *Odont Bras.* 2000 Abr/Jun; 14(2): 159-164.
73. Pihlstrom BL, Anderson KA, Aeppli D, Schaffer EM. Association between signs of trauma from occlusion and periodontitis. *J Periodontol.* 1986 Jan; 57(1): 1-6.
74. Polson AM, Heijl LC. Occlusion and periodontal disease. *Dent Clin North Am.* 1980; 24: 783-795.
75. Polson AM. Interrelationship of inflammation and tooth mobility (trauma) in pathogenesis of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1955; 26: 270-284.
76. Pontes Andersen CC, Buschard K, Flyvbjerg A, Stoltze K, Holmstrup P. Periodontitis deteriorates metabolic control in type 2 diabetic Goto-kakizaki rats. *J Periodontol.* 2006; 77: 350-356.
77. Pontes Andersen CC, Flyvberg A, Buschard K, Holmstrup Palle. Relationship between periodontitis and diabetes: lessons from rodent studies. *J Periodontol.* 2007; 78: 1264-1275.
78. Position Paper. Diabetes and periodontal diseases. *J Periodontol.* 1996 Feb; 67(2): 166-176.
79. Ramfjord SP, Ash Jr. MM. Significance of occlusion in the etiology and treatment of early, moderate and advanced periodontitis. *J Periodontol.* 1981 Sep; 52(9): 511-517.
80. Ramfjord SP, Kohler CA. Periodontal reaction to functional occlusal stress. *J Periodontol.* 1959; 30: 95-112.
81. Safkan-Seppälä B, Sorsa T, Tervahartiala T, Beklen A, Kontinen YT. Collagenases in gingival crevicular fluid in type 1 diabetes mellitus. *J Periodontol.* 2006; 77: 189-194.
82. Salvi GE, Beck JD, Offenbacher S. PGE₂, IL-1 β , and TNF- α responses in diabetics as modifiers of periodontal disease expression. *Ann Periodontol.* 1998; 3: 40-50.
83. Sandberg GE, Sundberg HE, Fjellstrom CA, Wikblad KF. Type 2 diabetes and oral health. A comparison between diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000; 50: 27-34.

84. Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R *et al.* Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodont Res.* 1996; 31: 508-515.
85. Seppälä B, Ainamo J. A site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1994; 21: 161-165.
86. Skamagas M, Breen TL, LeRoith D. Update on diabetes mellitus: prevention, treatment, and association with oral diseases. *Oral Dis.* 2008 Mar; 14(2): 105-14.
87. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992 Apr; 63(4): 322-331.
88. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol.* 2001 Dec; 6(1): 91-98.
89. Stahl SS. Accommodation of the periodontium to occlusal trauma and inflammatory periodontal disease. *Dent Clin North Am.* 1975 Jul; 19(3): 531-542.
90. Svanberg G, Lindhe J. Vascular reactions in the periodontal ligament incident to trauma from occlusion. *J Clin Periodontol.* 1974; 1: 58-69.
91. Takeda M, Ojima M, Yoshioka H, Inaba H, Kogo M, Shizukuishi S, *et al.* Relationship of serum advanced glycation end products with deterioration of periodontitis in Type 2 diabetes patients. *J Periodontol.* 2006 Jan; 77: 15-20.
92. Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005 Jul; 49(3): 491-516.
93. Taylor GW, Borgnakke WS. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. *Oral Disease.* 2008;191-203
94. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ. Non-insulin dependent diabetes mellitus and alveolar bone loss progression over 2 years. *J Periodontol.* 1998; 69: 76-83.
95. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol.* 2001; 6: 99-112.

96. Tervonen T, Karjalainen K, Knuutila M, Huuonen S. Alveolar bone loss in type 1 diabetic subjects. *J Clin Periodontol*, 2000; 27: 567-571.
97. Tervonen T, Oliver RC. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1993; 20: 431-435.
98. The American Academy of Periodontology. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1): 1-112.
99. The American Academy of Periodontology. Parameter on occlusal traumatism in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2000; 71 (5 suppl): 873-875.
100. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Intensive blood-glucose control with insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. (UKPDS 33). *Lancet*. 1998; 353: 837-853.
101. Vilar L, Abdon A. Diabetes Mellitus. In: Filgueira NA, Costa Jr. JI, Leitão CCS, Lucena VGM, Melo HRL, Brito CAA *et al*, editores. *Condutas em clínica médica*; 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 549-578.
102. Wada LY. Contagem de carboidratos: mais fácil que contar até 3. São Paulo: Ateneu; 2002. p. 3-25.
103. Waerhaug J. The angular bone defect and its relationship to trauma from occlusion and downgrowth of subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1979; 6: 61-82.
104. Wang HL, Burgett FG, Shyr Y, Ramfjord S. The influence of molar furcation involvement and mobility on future clinical periodontal attachment loss. *J Periodontol*. 1994; 65: 25-29.
105. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes. *Diabetes Care*. 2004 May; 27(5): 1047-1053.

ANEXO 1: PROTOCOLO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



CEEA/Unicamp

Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA/Unicamp

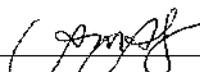
CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 1563-1, sobre "Influência do Diabetes Mellitus sobre as alterações ósseas alveolares induzidas pelo trauma oclusal primário e secundário. Estudo histométrico em ratos", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Enilson Antônio Sallum / Cláudia Kelly de Oliveira Diniz, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal – CEEA/Unicamp em 30 de junho de 2008.

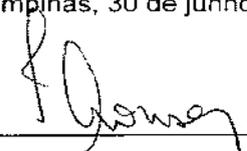
CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1563-1, entitled "The influence of Diabetes Mellitus on alveolar bone alterations induced by primary and secondary occlusal trauma. A histometric study in rats", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - Unicamp) on June 30, 2008.

Campinas, 30 de junho de 2008.



Profa. Dra. Ana Maria Geraldo
Presidente



Fátima Alonso
Secretária Executiva

CEEA - Unicamp
Caixa Postal 6109
13083-970 Campinas, SP - Brasil

Telefone: (19) 3521-6359
E-mail: comisib@unicamp.br
<http://www.ib.unicamp.br/ceea/>

ANEXO 2 – LEITURAS DE REABSORÇÃO ÓSSEA (mm²)

Grupo	Animal	Média área reabsorvida por animal	
		Controle	Teste
Grupo 1 (DM+DP+TO)	1	0,315712	3,96096
	2	0,35328	8,33984
	3	0,34112	2,85632
	4	0,32384	9,888
	5	0,36096	7,2944
	6	0,36736	4,49984
	7	0,41728	6,3616
	8	0,38528	7,7216
Média Grupo 1		0,358104	6,36532
Grupo 2 (DM+TO)	1	0,3648	0,63872
	2	0,26112	0,8704
	3	0,44288	0,67264
	4	0,31616	0,496
	5	0,34048	0,51008
	6	0,30208	0,68608
	7	0,41344	0,71616
	8	0,42112	0,56512
Média Grupo 2		0,35776	0,6444
Grupo 3 (DP+TO)	1	0,3248	4,79808
	2	0,30976	6,13248
	3	0,37888	1,33504
	4	0,39296	7,86816
	5	0,36352	2,1056
	6	0,288	3,219904
	7	0,28544	2,04288
	8	0,30464	1,2064
Média Grupo 3		0,331	3,5885
Grupo 4 (TO)	1	0,2848	0,676928
	2	0,42368	0,766528
	3	0,40192	0,49984
	4	0,35072	0,5664
	5	0,50688	0,46528
	6	0,4352	0,722368
	7	0,3968	0,7252
	8	0,49664	0,53248
Média Grupo 4		0,41208	0,619368

ANEXO 3 – VALORES DE PESO (g) E NÍVEL GLICÊMICO (mg/dl).

Grupo	Animal	Peso		Glicemia	
		Inicial	Final	Inicial	Final
Grupo 1 (DM+DP+TO)	1	291	200	104	330
	2	295	225	100	299
	3	260	248	110	362
	4	260	140	113	250
	5	262	246	117	464
	6	297	177	87	308
	7	286	178	84	330
	8	284	191	112	350
Média Grupo 1		279,375	200,625	103,375	336,625
Grupo 2 (DM+TO)	1	287	218	88	250
	2	267	326	103	300
	3	294	230	82	528
	4	285	197	81	406
	5	270	225	112	473
	6	254	266	122	461
	7	253	265	111	410
	8	261	291	112	449
Média Grupo 2		271,375	252,25	101,375	409,625
Grupo 3 (DP+TO)	1	297	300	108	95
	2	284	344	106	110
	3	285	343	104	102
	4	282	358	115	109
	5	277	311	126	107
	6	272	291	111	108
	7	293	306	101	105
	8	298	300	117	88
Média Grupo 3		286	319,125	111	103
Grupo 4 (TO)	1	280	286	120	116
	2	281	316	110	118
	3	278	289	111	104
	4	285	280	110	92
	5	291	320	112	70
	6	289	239	108	84
	7	281	316	112	116
	8	295	319	135	85
Média Grupo 4		285	295,625	114,75	98,125