



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO” - UNESP
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA

Ricardo Andrés Landázuri Del Barrio

**EFEITO DA DIETA COM DEFICIÊNCIA DE MAGNÉSIO SOBRE A
MANUTENÇÃO DA OSSEOINTEGRAÇÃO DE IMPLANTES DE
TITÂNIO: ANÁLISE RADIOGRÁFICA, DENSITOMÉTRICA E DE
TORQUE REVERSO.**

Araraquara

2008

RICARDO ANDRÉS LANDÁZURI DEL BARRIO

Efeito da dieta com deficiência de magnésio sobre a manutenção da osseointegração de implantes de titânio: análise radiográfica, densitométrica e de torque reverso.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Periodontia – Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de MESTRE em Periodontia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Sgavioli Massucato
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvana Regina Perez Orrico

Araraquara
2008

Landázuri Del Barrio, Ricardo Andrés.

Efeito da dieta com deficiência de magnésio sobre a manutenção da osseointegração de implantes de titânio: análise radiográfica, densitométrica e de torque reverso / Ricardo Andrés Landázuri Del Barrio. – Araraquara: [s.n.], 2008.

89 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato

Co-orientadora: Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico

1. Deficiência de magnésio
 2. Implante dentário
 3. Titânio
 4. Osteoporose
 5. Ratos
- I. Título

RICARDO ANDRÉS LANDÁZURI DEL BARRIO

**Efeito da dieta com deficiência de magnésio sobre a
manutenção da osseointegração de implantes de titânio:
análise radiográfica, densitométrica e de torque reverso.**

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elaine Maria Sgavioli Massucato

2º Examinador: Prof. Dr. Rodolfo Jorge Boeck Neto

3º Examinador: Prof. Dr. Alvaro José Bosco

Araraquara, 31 de março de 2008.

DADOS CURRICULARES

RICARDO ANDRÉS LANDÁZURI DEL BARRIO

- NASCIMENTO 06.02.1981 – QUITO/EQUADOR
- FILIAÇÃO Víctor Hugo Landázuri Guzmán
Maria de las Mercedes Del Barrio Cortéz
- 1998/2004 Curso de graduação
Facultad de Odontología de la Universidad
San Francisco de Quito – Equador
- 2004/2006 Curso de Especialização em Implantodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara
FAEPO – Universidade Estadual Paulista UNESP
- 2006/2008 Curso de pós-graduação nível Mestrado – Área de
concentração: Periodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara
Universidade Estadual Paulista UNESP

Dedicatória

A Deus, por estar sempre me guiando, iluminando e protegendo.

A meus queridos pais, Victor e Maria de las Mercedes pela educação, valores e conselhos que sempre me proporcionaram; pelo apoio e amor durante todo este tempo longe e pelo exemplo de esforço e dedicação que durante toda minha vida me foi transmitido. Muito obrigado pela oportunidade que me ofereceram mesmo sem entender as minhas metas. Amo vocês.

Ao meu amor, Denise, por ser um pilar fundamental na minha vida. Sua ternura, amor e compreensão fazem a vida muito mais fácil. Obrigado por ser meu suporte emocional e pelo exemplo de determinação. Você é minha companheira perfeita, este triunfo também é seu. Te amo muito...

Às minhas irmãs Carolina e Diana (Nena), pela amizade e companheirismo de sempre. Suas contínuas palavras de apoio me estimularam durante este período no Brasil. Sinto muita saudade, amo vocês.

À minha avó (*in memoriam*), pelos ensinamentos de vida e por todo o amor que a Senhora me entregou antes de partir; obrigado por caminhar do meu lado.

Agradecimentos especiais

A minha orientadora, Profa. Elaine Maria Sgavioli Massucato, pelos ensinamentos profissionais e de vida; com sua amizade e carinho tornou mais fácil este período de aprendizado. Obrigado por se preocupar comigo nos momentos que mais precisei.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Silvana Regina Perez Orrico, por conduzir este trabalho com extrema competência e seriedade, o meu reconhecimento.

Ao Prof. Elcio Marcantonio Júnior, por ser um excelente Mestre e amigo, exemplo de competência e inteligência. Obrigado pela confiança depositada em mim.

À Prof. Aureluce Demonte e à Prof. Thais Borges César pela orientação na área de Nutrição deste trabalho.

À Prof. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio, pelo grata recepção no Brasil.

Ao Prof. Dr. Elcio Marcantonio, responsável por minha formação na implantodontia. Sua simplicidade, competência e dedicação ao ensino são exemplos a serem seguidos. Obrigado pela amizade, ensinamentos profissionais e por abrir as portas do seu consultório. Minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Rodolfo Boek Neto pelos diversos conhecimentos e experiências profissionais transmitidas; pela amizade, afeto e boa convivência durante esses anos em Araraquara.

Aos docentes do curso de Pós-graduação de Periodontia, Prof. Dr. Benedito Egbert Corrêa de Toledo, Prof. Dr. Ricardo Samih Georges Abi Rached. Prof. Dr. Carlos Rosa Jr., Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, Prof. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio pelos conhecimentos transmitidos durante o curso de Mestrado.

A José Luis e Maria Esther Del Barrio, pelo apoio emocional e exemplo de determinação e esforço. Muito obrigado por tudo, principalmente pelo carinho.

A Família Rocha Goes e Del Barrio por me receber com o coração aberto em Fortaleza e em Antofagasta-Chile, pela consideração e carinho sendo parte de uma grande família.

À família Boeck-Marcantonio, pelo carinho e consideração.

À Marina e Gabriela, pela companhia durante as horas eternas no “muro dos lamentos” (biotério) durante o período experimental; pela ajuda, disponibilidade e dedicação na realização deste trabalho, minha imensa gratidão.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araraquara nas pessoas da Exma. diretora Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio e Vice-Diretor Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla.

Aos professores que fazem parte do Curso de Pos-graduação de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação para o Desenvolvimento da UNESP (FUNDUNESP) e à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.

À Prof. Dra. Rosa Maria Rodrigues Pereira e Líliam Takayama do laboratório do Metabolismo Ósseo do Departamento de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pela disponibilidade e colaboração no período experimental deste trabalho

Ao Prof. Dr. Vanderlei Menani e Prof. Dr. Laurival de Luca do Departamento de Patologia e Fisiologia por facilitarem o uso de equipamentos do laboratório no período experimental deste trabalho.

À Regina Lúcia pelo carinho, respeito, confiança, ajuda e amizade durante este tempo; sempre será uma pessoa muito especial.

À Maria José (Zezé) pela alegria com que sempre me recebeu, no segundo andar; e por sempre estar disposta a ajudar.

À Dona Maria do Rosário pelo carinho e consideração.

Aos funcionários da disciplina de Periodontia, Claudia, Toninho, Sueli, Terezinha pela atenção e carinho.

Aos funcionários do CAECO, Rosângela, Viviane, Suzana, Niedja, Marlene, Diego e especialmente à Sra. Neuza Mattos pelo carinho e amizade desde que cheguei ao Brasil.

Ao Pedrinho, Ana, Silas e Dona Noêmia por todo o carinho durante a fase experimental deste trabalho.

À Mara e aos funcionários da Seção de Pós-Graduação pela atenção e disponibilidade.

Aos funcionários da Biblioteca pela atenção e disponibilidade.

Ao meu grande irmão de coração, Wagner, por sua sincera amizade, honestidade, solidariedade e afeto durante todo este tempo. Minha gratidão pelos fantásticos conselhos, excelentes conversas profissionais e pessoais e pelos grandes banquetes! . É difícil encontrar um ombro amigo, mas não impossível! Muito obrigado por tudo...

Aos meus grandes amigos Juan Pablo, Gustavo, José Carlos, por poder contar sempre com vocês e realmente saber que nossa amizade é para sempre,

me sinto orgulhoso em ser seu amigo. Minha eterna gratidão pelo apoio “hermanos”.

Aos meus amigos Roberto, Romeu, Milton, Rubão e João Frank, por me ajudarem nos momentos em que mais precisei tanto no emocional como no acadêmico e pela sincera amizade que existe entre nós, espero que dure para sempre. Vivemos excelentes momentos!!!!

Aos meus prezados amigos Mauricio José, Iván, Xavier (Costa Rica), Flamarión, Fábio, Bárbara, Monique, Darlon, Adriano, Thiago, Martin, Maura, Murilo, João Gustavo, Egmont, Carol, Luana, Dalsem, André, Roberta, Mila, Cristina, Fernanda, Betina e Savanna, que se mostraram presentes em momentos de alegria.

Aos amigos da turma do Mestrado: Ana Lúcia, Roberta, Sabrina, Aline, Rodrigo e Yeon, obrigado pelo companheirismo.

Aos amigos da turma do atual Doutorado e as pessoas que já se formaram: Rafael Faeda, Rafael Sartori, Débora, Fernanda, Daniela Gonçalves, Juliana, Daniela Zandim, Rafaela, Fábio, Morgana, Fernando, Ana Emília, Celso, Juliana, Joseane e Rogério, pela convivência e amizade.

À Prag-soluções pela competência nos serviços prestados na fabricação da ração.

À Conexão - Sistemas de Prótese por fornecer gratuitamente os implantes para a realização deste trabalho.

Às pessoas que esqueci e/ou que de alguma forma fizeram parte deste trabalho, meu muito obrigado e desculpas.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas.....	13
Resumo.....	15
Abstract.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	22
3 PROPOSIÇÃO.....	33
4 MATERIAL E MÉTODO.....	34
5 RESULTADO.....	46
6 DISCUSSÃO.....	63
7 CONCLUSÃO.....	74
8 REFERÊNCIAS.....	75
9 ANEXOS.....	88

Lista de abreviaturas

Ti_{cp}: titânio comercialmente puro

Mg: magnésio

Ca: cálcio

PTH: paratormônio

Ig: imunoglobulina

IL: interleucina

TNF α : Fator de Necrose Tumoral alfa

RANK: Fator de transcrição NFkappa beta

RANK-L: Ligante do ativador do receptor do fator de transcrição NFkappa beta

OPG: osteoprotegerina

mRNA: RNA mensageiro

NR: Nutritional Requirement

necessidade nutricional

RDA: Recommended Daily Allowance

ingestão diária recomendada

CEEA: Comitê de Ética em Experimentação Animal

Mg1: grupo com acesso à ração com quantidade reduzida de Mg em 75%

Mg2: grupo com acesso à ração com quantidade reduzida de Mg em 90%

AIN: Instituto Americano de Nutrição

g: gramas

g/cm²: gramas por centímetro quadrado

mg: miligramas

mg/kg: miligrama por quilograma

mg/dL: miligramas por decilitro

ml/kg: mililitro por quilograma

kg: quilogramas

ml: mililitro

mm: milímetros

N.cm: Newton por centímetro

DXA: Dual-energy X-ray Absorptiometry

Densitometria por dupla emissão com fonte de raios X

BMD: Bone mineral density

Densidade óssea mineral

CDR: Computed Dental Radiography

Radiografia dental computadorizada

R1: epífise proximal

R2: epífise distal

R3: diáfise

L2: segunda vértebra lombar

L3: terceira vértebra lombar

L4: quarta vértebra lombar

Landázuri Del Barrio RA. Efeito da dieta com deficiência de magnésio sobre manutenção da osseointegração de implantes de titânio: análise radiográfica, densitométrica e de torque reverso [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Resumo

A deficiência de magnésio (Mg) na dieta pode ser considerada um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose. A diminuição de Mg na dieta está relacionada à perda de massa óssea em humanos; e em animais, estudos têm demonstrado osteopenia, crescimento ósseo anormal e fragilidade esquelética.

Este estudo avaliou a influência da deficiência de Mg na dieta em ratos jovens e adultos sobre o torque de remoção de implantes e sobre a densidade óssea e radiográfica ao redor de implantes osseointegrados instalados na tíbia dos ratos. Noventa ratos Holtzman foram separados em 2 grupos (n=45; 180 gr - animais jovens/ n=45; 360 gr - animais adultos); cada animal recebeu um implante em cada metáfise tibial. Após a osseointegração dos implantes (60 dias), os dois grupos de animais foram sub-divididos em três grupos: grupo Controle (CTRL, n=15), grupo de deficiência de Mg de 75% (Mg1; n=15) e grupo de deficiência de Mg de 90% (Mg2; n=15). Após 150 dias da instalação dos implantes, todos os animais foram sacrificados.

Foram coletadas amostras de sangue e urina, realizada a densitometria óssea das vértebras lombares (L2, L3 e L4) e do fêmur, realizada a densidade óssea radiográfica e mensuração da espessura da cortical óssea, além do teste biomecânico de torque de remoção dos implantes. A análise densitométrica (vértebras lombares e fêmur) e os valores da concentração plasmática e urinária de Mg confirmaram o comprometimento sistêmico dos animais, mostrando valores menores de densidade óssea para os grupos Mg1 e Mg2. A análise da densidade radiográfica demonstrou alterações no osso cortical e medular dos grupos Mg1 e Mg2. A análise da espessura da cortical óssea demonstrou alterações na espessura do osso cortical, apresentando valores menores nos grupos Mg1 e Mg2. A análise do torque de remoção dos implantes nos animais jovens mostrou diminuição dos valores de torque com diferença significativa para os grupos Mg1 e Mg2 ($P < 0.05$) com relação ao grupo controle. Nos animais adultos, os valores de torque de remoção nos grupos Mg1 e Mg2 também foram menores, mas não foram significantes. De acordo com este estudo, observou-se que a deficiência de Mg na dieta causa influência negativa nas características biomecânicas do tecido ósseo ao redor de implantes osseointegrados.

Palavras-chave:

Deficiência de magnésio, implante dentário, titânio, osteoporose, ratos.

Landázuri Del Barrio, RA. Effect of magnesium deficiency on diet on the maintenance of the osseointegration on titanium implants. Radiographic, densitometric and removal torque study. [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Abstract

Low dietary magnesium (Mg) may be a risk factor for osteoporosis. Mg intake has been associated with bone mass loss in humans. Mg deficiency in animal models has showed osteopenia, impaired bone growth and skeletal fragility. This study evaluated the influence of magnesium deficiency on diet in young and adult rats on the removal torque of osseointegrated titanium implants. Ninety male Holtzman rats (n=45; 180 gr - young rats / n=45; 360 gr - adult rats) were divided in two groups and received a titanium implant in the tibia metaphysis. After the healing period of 60 days, the animals were randomly divided in three sub-groups: control group (CTRL, n=15 animals), 75% magnesium deficiency group (Mg1, n=15 animals) and 90% magnesium deficiency group (Mg2, n=15 animals). The dietary magnesium deficiency was induced in two groups (Mg1 and Mg2) for 90 days. After 150 days post-implant placement, all animals were sacrificed and collected samples of blood and urine. Densitometry of femur and lumbar vertebrae was performed by dual-energy x-ray absorptiometry (DXA), bone density was measured by

digital radiographs at 6 points on sides of the implant and was performed the measurement of the thickness of the cortical bone. All implants were subjected to removal torque. Densitometric analysis (femur and lumbar vertebrae) and serum and urinary magnesium concentration confirmed a systemic impairment of the animals, showing lower bone mineral density for Mg1 and Mg2 in young and adult rats. The analysis of radiographic bone density revealed a negative impact of the Mg deficiency in the cancellous and cortical bone. Analysis of the thickness of cortical bone showed alterations on cortical bone in Mg1 and Mg2 groups. Analysis of the removal torque of the implants in young rats showed a decrease of the removal torque for the Mg1 and Mg2 groups ($P < 0.05$) with a statistical difference in relation to the CTRL group. Analysis of the removal torque of the implants in adult rats showed a decrease of the removal torque for the Mg1 and Mg2 groups but without statistical difference in relation to the CTRL group. According to this study, magnesium deficiency on diet was observed to have a negative influence on the biomechanical characteristics of bone tissue around osseointegrated implants.

Key – words:

Magnesium deficiency, dental implant, titanium, osteoporosis, rats.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 40 anos, a Odontologia experimenta um notável desenvolvimento científico com o descobrimento do fenômeno biomecânico conhecido como Osseointegração e definido como a união anatômica e funcional direta entre osso vivo remodelado e superfície do implante⁵.

A osseointegração permite a fixação e ancoragem de próteses sendo reconhecida como um dos melhores recursos utilizados na reabilitação oral, criando melhores alternativas protéticas para o edentulismo parcial, total e unitário e revolucionando a Odontologia integral.

A utilização dos implantes osseointegrados vem sendo consagrada como opção protética devido a seu alto percentual de sucesso (96 a 100%)², previsibilidade de tratamento e, principalmente pelo restabelecimento funcional, psicológico, fonético e estético. A aplicação da Implantodontia na Odontologia, e recentemente na Nutrição e na Fisiologia tem levado ao desenvolvimento de estudos com o objetivo de minimizar o risco de insucessos com implantes osseointegrados, inclusive tentando esclarecer algumas falhas na osseointegração associadas ao metabolismo ósseo.

O sucesso da osseointegração é determinado pela estabilidade inicial do implante e pela ausência de alterações do tecido ósseo no

período de cicatrização²⁹. Estudos têm demonstrado que algumas condições sistêmicas que afetam o metabolismo ósseo como, algumas doenças reumatológicas e hormonais, podem alterar o processo de reparo ósseo sendo consideradas como fator de risco para a instalação de implantes osseointegrados^{19,34,54,55}. Outros estudos também mostram que essas condições podem alterar a cicatrização e a manutenção da osseointegração, culminando, entre outros fatores, na diminuição da densidade do tecido ósseo ao redor dos implantes, no contato osso-implante, na quantidade de tecido ósseo presente entre as roscas e na força necessária para a remoção dos mesmos, comprometendo o sucesso e a previsibilidade do procedimento^{14,19,41,68}.

Alguns estudos em animais têm demonstrado a influência de deficiências nutricionais no metabolismo ósseo e o magnésio (Mg) desempenha um importante papel na manutenção da homeostase deste tecido ósseo, sugerindo a presença de forte correlação entre o consumo de Mg e a manutenção da densidade óssea^{47,50,61}. A deficiência de Mg na dieta produziria alterações na resistência e na micro-arquitetura óssea por meio da diminuição do volume de osso trabecular e do seu conteúdo mineral^{4,10,52,69}. Diante de tais relatos, pode-se supor que as alterações sistêmicas e ósseas provocadas pela deficiência de Mg podem ser um fator de risco à osseointegração, porém não existem estudos na literatura que demonstrem uma correlação entre osseointegração e deficiência de micro-elementos na dieta. Portanto acreditamos ser necessário o

esclarecimento da possível influência da deficiência de Mg na dieta sobre o metabolismo ósseo e sobre a osseointegração em implantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O Mg é o quarto maior cátion presente no ser humano, sendo que a maior parte da absorção deste elemento no organismo é realizada pelo intestino grosso, por difusão¹⁵. Sua concentração corporal numa pessoa adulta e sadia, está entre 20 a 28 g. dos quais, 50 a 60% estará presente nos ossos e o restante em tecidos moles⁵⁷.

Um terço do Mg presente no esqueleto serve como reserva para manter a concentração extracelular deste elemento em níveis normais, tendo um papel importante também nas reações enzimáticas^{15,32,57}.

As funções do Mg estão relacionadas com o transporte intra e extracelular do sódio, potássio e bicarbonato²⁴. Este elemento também tem uma função importante como bloqueador natural dos canais de cálcio (Ca), controlando o Ca intracelular e mediando a contração dos músculos lisos e esqueléticos³⁰.

Ele ainda participa como co-fator em mais de 300 enzimas e atua na geração de energia aeróbia, anaeróbia e na glicólise, além de ser um ativador enzimático. É requerido nos processos de fosforilação e regula a atividade celular, a ação de hormônios como o Paratormônio (PTH), pela interação com o Ca e a expressão de alguns neurotransmissores como a dopamina, a noradrenalina e a serotonina^{31,64,72}. Também tem importância nas patologias cardiovasculares, podendo causar variação da concentração do tromboxano urinário, da angiotensina II, dos níveis de

aldosterona plasmática e conseqüentemente pode provocar alterações na pressão arterial^{39,75}.

Esse elemento possui também um papel importante no tecido ósseo e na homeostase mineral, podendo afetar diretamente a função das células ósseas e a formação de hidroxiapatita, por isso alguma alteração em sua concentração no organismo poderia comprometer a resistência desse tecido^{59,62,70}.

A deficiência de Mg no ser humano não é comum, mas pode se apresentar em certas condições como: no aldosteronismo, no alcoolismo, na má nutrição proteico-calórica e no diabetes. Os sintomas que caracterizam essa deficiência são principalmente, o vômito, a náusea e a anorexia, podendo também surgir desconfortos cardíacos com alterações no eletrocardiograma²⁷.

A hipocalcemia é a manifestação mais comum da deficiência de Mg e essa hipomagnesemia também pode ter influência no metabolismo da vitamina D, causando resistência a doses farmacológicas da hidroxivitamina D e da 1,25 Dihidroxivitamina D, além de problemas na regulação do transporte do Mg no trato intestinal¹⁶.

Estudos realizados em ratos colectomizados, demonstraram fragilidade óssea devido à falta de absorção do Mg, evidenciando uma diminuição nos níveis séricos, sendo que a absorção do cálcio, nestes estudos, foi normal⁵⁹. Em outros estudos, houve aumento nos níveis de

Mg nas fezes de ratos colectomizados, diminuição nos níveis de Mg na urina e aumento nos níveis do fósforo e da piridinolina, da deoxipiridinolina e da 1,25 dihidroxivitamina D na urina¹¹. A deficiência de Mg em ratos, tanto a severa quanto a moderada afeta também a resposta imune, demonstrando alterações nos índices das proteínas plasmáticas. Os índices de IgM estão relacionados com a concentração de Mg no plasma e em depleção severa demonstraram valores menores. Os valores de IgG se mostraram diminuídos na deficiência moderada, mas não foram observadas alterações relacionadas à resposta dos anticorpos⁷⁴.

A deficiência de Mg na dieta de ratos pode desencadear uma modificação na forma da ingestão para que haja compensação do mineral deficiente. Um estudo realizado em ratos mostrou que o apetite por Mg é específico e inato e que o animal tenta compensar a deficiência, procurando uma fonte rica no mesmo³⁵. Existe relação significativa entre a quantidade de Mg na dieta e a quantidade no sangue em estudos realizados com ratos e aqueles submetidos à deficiência na dieta, demonstraram níveis diminuídos de Mg sérico e no fêmur⁷⁶.

Essa depleção de Mg pode ainda ter influência no metabolismo de outros micro-elementos, como do ferro. Estudos em ratos com deficiência de Mg demonstraram aumento da absorção do ferro, diminuição de glóbulos vermelhos e da concentração de hemoglobina, aumento dos leucócitos, aumento significativo do ferro no plasma e no fígado. Não houve mudanças nos valores de concentração de ferro no

músculo esquelético e no fêmur, concluindo-se que a deficiência nutricional produz hemólise por fragilidade de eritrócitos⁵⁶.

Também tem sido demonstrada uma diminuição do volume de osso trabecular e do conteúdo mineral no osso neoformado, com incremento do tamanho dos cristais de hidroxiapatita em caso de deficiências de Mg sendo que mecanicamente, esse osso pode apresentar menor resistência^{4,46}. As propriedades do tecido ósseo dos ratos submetidos a esta depleção têm sido afetadas, principalmente a resistência, havendo redução também do peso, tamanho e diâmetro dos ossos²⁸. Essa influência da deficiência de Mg na resistência óssea tem sido demonstrada em outros estudos realizados em ratos submetidos à deficiência crônica deste elemento na dieta e foi observado que, níveis muito reduzidos do mineral no plasma e na tibia são compatíveis com uma diminuição significativa da resistência óssea, tendo também, como consequência um crescimento ósseo lento, diminuição na concentração do Mg sérico e no fêmur²⁶. Outro estudo realizado em ratos com depleção de Mg na dieta demonstrou que eles apresentaram ossos menores e com menor peso que o grupo não submetido à depleção e foram realizados testes de resistência à deformação evidenciando menor resistência das amostras do grupo com deficiência²⁸.

A complexidade do metabolismo ósseo envolve vários fatores que influenciam na resistência e na estrutura deste tecido como, o conteúdo mineral, as concentrações séricas do paratormônio, da vitamina

D, da osteocalcina (marcador de formação óssea) e da deoxipiridinolina (marcador de reabsorção óssea)¹⁶.

Estudos em ratos com deficiência de Mg na dieta, após um período reduzido (oito dias), apresentaram diminuição nos níveis de osteocalcina, alterando a qualidade e quantidade de tecido ósseo durante o ciclo de crescimento⁶. Também como consequência da depleção do Mg nos estudos em ratos pode ser a redução do crescimento ósseo, principalmente, a diminuição do osso trabecular com aumento no número de osteoclastos e diminuição no número de osteoblastos. Em estudos histoquímicos comprovou-se que, nos ratos com um dia de depleção do Mg, houve aumento dos níveis de substância P em megacariócitos e linfócitos. Além disso, foi constatado aumento dos níveis de IL-1 (interleucina 1), TNF α (Fator de Necrose Tumoral alfa) nos osteoclastos, concluindo-se que as citocinas inflamatórias têm um papel importante e podem contribuir para a osteoporose induzida pela deficiência de Mg⁴⁹. Além de causar aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e o TNF- α , a depleção do Mg na dieta também pode causar aumento da IL-6 em estudos realizados em ratos pela ativação do sistema imune^{3,33,38}.

A associação da deficiência de Mg na dieta com baixa densidade óssea e osteoporose tem sido pesquisada para se obterem resultados mais concretos e um dos mecanismos pelo qual o metabolismo ósseo se vê afetado é a via dos receptores RANK, RANK-L e OPG. A importância

deste sistema regulador do metabolismo ósseo é fundamental e algum desequilíbrio neste mecanismo pode desencadear importantes alterações neste tecido⁴⁵. A expressão de RANK-L ativa os osteoclastos, causando reabsorção óssea, entretanto a expressão de OPG inibe a ativação de osteoclastos, constituindo-se um regulador do metabolismo ósseo⁶⁵. Como resultado da deficiência de Mg, estudos imunohistoquímicos realizados em ratos relatam que algumas citocinas relacionadas com o metabolismo ósseo como a presença de RANK-L e OPG, demonstraram alteração do tecido ósseo. O aumento do RANK-L e a diminuição dos níveis de OPG confirmam a reabsorção óssea causada pela deficiência de Mg (severa e moderada) em ratos, sendo este um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose⁴⁹. A resposta inflamatória demonstrada pelo aumento dos níveis plasmáticos de IL-6 em ratos com deficiência de Mg na dieta, sugere que a diminuição dos níveis plasmáticos de Mg extracelular pode ser o fator predisponente para a ativação de células imunológicas³³.

Estudos relacionados à osteoporose em ratos com deficiência de 90% de Mg, têm demonstrado resultados interessantes em análises radiográficas, histométricas e de resistência óssea e confirmam a diminuição da densidade óssea mineral, aumento da fragilidade, alterações na arquitetura e diminuição na quantidade e no volume de osso trabecular⁶¹. A deficiência severa de Mg muda a homeostasia do tecido ósseo e a diferença da quantidade de Mg na dieta em ratos produz

alterações no metabolismo ósseo incrementando o conteúdo de Ca no tecido, diminuindo a quantidade de Mg; sendo que também causa aumento do zinco no fígado e nos rins e produz ainda aumento na produção de TNF α ⁷¹.

Alguns estudos relatam que, nos animais submetidos à depleção, há um aumento do Ca sérico, uma diminuição de 51% no conteúdo de Mg no osso, uma importante hipomagnesemia, uma diminuição do PTh sérico, da 1,25 dihidroxivitamina D, da fosfatase alcalina, da osteocalcina, o que confirma uma possível redução na atividade osteoblástica. Evidenciaram também diminuição do volume ósseo e da espessura das trabéculas, confirmando um aumento da reabsorção óssea e do número de osteoclastos na superfície devido à liberação de TNF- α e de substância P⁵¹. Outros estudos também realizados em ratos com deficiência severa de Mg demonstraram redução nos níveis de osteocalcina sérica, Mg no fêmur, e osteocalcina no mRNA; entretanto os níveis das concentrações de Ca e fósforo não foram afetadas¹⁰.

Um estudo realizado em ratos com deficiência de Mg de 25% (NR), demonstrou perda óssea com resultados similares aos obtidos com a deficiência severa (90% de depleção de Mg), sendo este um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose⁵⁰ e outro estudo em ratos demonstrou que a deficiência de Mg na dieta por períodos prolongados pode induzir a osteoporose⁶¹.

As alterações causadas pela deficiência severa e moderada de Mg em ratos têm confirmado diminuição da concentração deste elemento no osso e principalmente provocando transtornos no turnover ósseo, com formação de osso desorganizado e frágil^{7,10}.

Em humanos, a quantidade de ingestão de Mg sugerida (RDA- Recommended Daily Allowance) para mulheres adultas é de 320 mg/dia e para homens adultos é de 420 mg/dia e nos EUA. Sendo que na população em geral, a quantidade diária ingerida tanto por adolescentes quanto por adultos, encontra-se quase sempre em níveis inferiores a esses valores mínimos requeridos⁴⁷.

Estudos em pacientes com osteoporose pós-menopausa têm demonstrado diminuição nos níveis de Mg sérico e do conteúdo ósseo mineral⁴⁴, entretanto, em outro estudo realizado também em mulheres pós-menopausa demonstrou que o aumento de Mg e Ca no leite, reduzem a reabsorção óssea medida por testes de deoxipiridinolina na urina²¹.

Alterações no sistema digestivo também têm sido relacionadas com deficiência de Mg²⁵ como demonstrou um estudo em mulheres jovens que desenvolveram hipomagnesemia após colectomia⁵⁹. Da mesma forma é comum se observar a diminuição dos níveis de Mg em pacientes idosos por fatores relacionados à perda de apetite, dieta

inadequada, diminuição da absorção por via intestinal associada à idade ou aumento da excreção do Mg por via renal⁶⁹.

A osteoporose é definida como uma doença sistêmica caracterizada pela perda da massa óssea e deterioração microestrutural do tecido ósseo, levando ao aumento da fragilidade óssea e conseqüentemente a um maior risco de fraturas⁷³.

Como foi relatado, as deficiências nutricionais têm uma influência sistêmica, afetando principalmente a resposta inflamatória, a cicatrização e a reparação do tecido ósseo além de causar alterações no metabolismo e também podem afetar a osseointegração. Afetam principalmente a estabilidade primária pela diminuição da densidade óssea, fragilizando a microestrutura do tecido ósseo peri-implantar e comprometendo o sucesso dos implantes³⁶. Outro fator determinante no sucesso do tratamento com implantes osseointegrados é a qualidade do tecido ósseo e quando este se encontra comprometido, com baixa qualidade, converte-se num fator de risco para a osseointegração³⁶. Estudos têm demonstrado que algumas condições sistêmicas que afetam o metabolismo ósseo, como doenças reumatológicas e hormonais, podem alterar o processo de reparo ósseo, sendo consideradas como fator de risco para a instalação de implantes osseointegrados^{19,34,37,41,54,55}, se tornando uma complicação biológica, que potencialmente causaria a perda dos implantes².

Dentro destas alterações sistêmicas, a osteoporose afeta diretamente a osseointegração, diminuindo o contato osso – implante e causando uma menor estabilidade^{14,40,68}.

O modelo animal mais utilizado para estudos de osseointegração de implantes dentários com osteoporose tem sido com ratas e coelhas ovariectomizadas, devido às características da arquitetura e massa do tecido ósseo serem semelhantes às do ser humano durante o processo de envelhecimento. Para a indução da osteoporose por fatores nutricionais e especificamente por deficiência de Mg em animais, pode-se utilizar este modelo com exemplares machos para se evitar a influência hormonal e assim determinar o papel deste mineral no metabolismo ósseo^{18,60,67,68}.

Um estudo realizado em ratas ovariectomizadas por Giro et al.¹⁹, publicado em 2007, demonstrou menor força de torque reverso e também diminuição da massa óssea do tecido que se encontrava em contato com os implantes colocados nas tíbias dos animais.

Em outro estudo que relacionaram nutrição e sua influência na osseointegração utilizando dieta isocalórica com baixo conteúdo de proteínas em ratos em fase de envelhecimento, evidenciaram alteração na resistência e na microarquitetura óssea ao redor de implantes colocados em tíbias, causando menores valores no teste de torque

reverso, menor contato osso-implante e menor espessura das trabéculas, comparando-se com o grupo controle¹³.

Vários transtornos causados pela deficiência de Mg foram confirmados nesta revisão de literatura sendo os mais evidentes, a diminuição da massa e da densidade óssea. Portanto, as alterações sistêmicas e ósseas causadas pela deficiência de Mg na dieta podem influenciar a osseointegração, levando a uma deficiente estabilidade primária e comprometendo assim o sucesso dos procedimentos com estes implantes.

Pesquisas relacionadas à deficiência de Mg e sua influência na osseointegração ainda são limitadas, sendo necessárias outras investigações mais direcionadas, para se esclarecer a influência de fatores nutricionais na implantodontia atual.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar o efeito da deficiência de Mg na dieta de ratos sobre o padrão ósseo e sobre a manutenção da osseointegração de implantes de titânio com osseointegração estabelecida.

4 MATERIAL E MÉTODO

DESENHO DO ESTUDO

1. ANIMAIS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA), processo nº 20/2006 (Anexo A1).

Neste estudo foram utilizados 90 ratos (*Rattus Norvegicus, albinus, Holtzman*) machos, 45 animais (ratos jovens) com aproximadamente 2 meses de idade (massa média de 180 g) e 45 (ratos adultos) com aproximadamente 5 meses de idade (massa média de 380 g) provenientes do Biotério do Câmpus de Araraquara – UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, confeccionadas em aço-inox, em ambiente com temperatura, umidade e luz controladas.

Os animais jovens e adultos foram divididos em 3 grupos, conforme a dieta que iriam receber :

- Grupo Controle: animais que tiveram acesso à ração com quantidade diária ideal de Mg por um período de 90 dias (n=30).
- Grupo Mg1: animais que tiveram acesso à ração com quantidade reduzida de Mg em 75%, por um período de 90 dias (n=30).
- Grupo Mg2: animais que tiveram acesso à ração com quantidade reduzida de Mg em 90%, por um período de 90 dias (n=30).

Para hidratação, os animais receberam água destilada *ad libitum*.

2. DIETA

A confecção da dieta foi baseada no AIN-93M (American Institute of Nutrition para manutenção de roedores)⁴³, como demonstrado nas Tabelas 1 e 2 a seguir:

Tabela 1- Formulação da dieta para manutenção de roedores (AIN – 93M) sendo a caseína usada como fonte de proteína

INGREDIENTES	AIN – 93M (g/kg DIETA)
Amido de milho	465,69
Caseína (> 85% proteína)	140,00
Malto dextrina	155,00
Sacarose	100,00
Óleo de soja	40,00
Fibra	50,00
Mistura mineral	35,00
Mistura vitamínica	10,00
L-Cistina	1,80
Bitartarato de colina (41.1% colina)	2,50

Tabela 2- Mistura mineral com as concentrações recomendadas para a manutenção de roedores (controle), dieta com redução de 75% (Mg 1) e dieta com redução de 90% (Mg 2) (AIN – 93M – MX)

SUBSTÂNCIAS	Controle	Mg 1	Mg 2
	(g ou mg/kg)	(g ou mg/kg)	(g ou mg/kg)
Carbonato de cálcio anidro (40.04% Ca)	375,00	375,00	375,00
Fosfato de potássio monobásico (22.76% P, 28.73% K)	250,00	250,00	250,00
Citrato de Potássio, tripotássico monohidratado (36.16% K)	28,00	28,00	28,00
Cloreto de sódio (39.34% Na, 60.66% Cl)	74,00	74,00	74,00
Sulfato de potássio (44.78% K, 18.39% S)	46,60	46,60	46,60
Oxido de magnésio (60.32% Mg)	24,00	6,0	2,4
Citrato férrico (16.5% Fe)	6,06	6,06	6,06
Carbonato de zinco (52.14% Zn)	1,65	1,65	1,65
Metassilicato de sódio 9H ₂ O (9.88% Si)	1,45	1,45	1,45
Carbonato de manganês (47.79% Mn)	0,63	0,63	0,63
Carbonato cúprico (57.47% Cu)	0,30	0,30	0,30
Sulfato de cromo potássio 12 H ₂ O (10.42% Cr)	0,275	0,275	0,275
Ácido bórico (17.5% B), mg	81,5	81,5	81,5
Fluoreto de sódio (45.24% F), mg	63,5	63,5	63,5
Carbonato de níquel (45% Ni), mg	31,8	31,8	31,8
Cloreto de lítio (16.38% Li), mg	17,4	17,4	17,4
Selenato de sódio anidro (41.79% Se), mg	10,25	10,25	10,25
Iodato de potássio (59.3% I), mg	10,0	10,0	10,0
Paramolibdato de Amônio 4H ₂ O (54.34% Mo), mg	7,95	7,95	7,95
Vanadato de amônio (43.55% V), mg	6,6	6,6	6,6
Sacarose	209,806	209,806	209,806

As dietas foram formuladas por empresa especializada* e foram quimicamente analisadas com os métodos usuais para determinação da composição centesimal. Para acompanhamento do crescimento e

* Pragsoluções Biociência, Jaú, BR

desenvolvimento dos animais foram controlados diariamente: a ingestão alimentar, as excretas e a adaptação dos mesmos à dieta e ainda semanalmente, a massa corporal.

3. DESENHO EXPERIMENTAL

Após um período de cinco dias para a adequação dos animais ao ambiente do biotério, todos foram submetidos à cirurgia de instalação dos implantes nas tíbias direita e esquerda, recebendo durante esse período a dieta com concentração adequada de Mg. Decorrido um período de 60 dias, necessário à osseointegração dos implantes⁸, apenas os animais dos grupos Mg1 e Mg2 tiveram acesso à dieta com redução do Mg, como mostrado anteriormente, por 90 dias, com o objetivo de se instalar a referida deficiência^{50,51}. Os animais do grupo controle mantiveram a mesma dieta por mais 90 dias. Após esse período, os animais foram sacrificados (Figura 1).

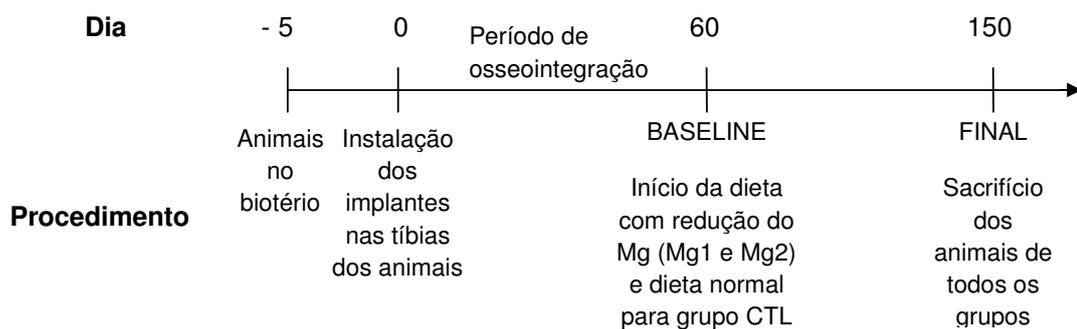


FIGURA 1- Desenho Experimental.

4. CIRURGIA PARA INSTALAÇÃO DOS IMPLANTES

Os animais foram anestesiados com uma combinação de cloridrato de ketamina* numa concentração de 0,08ml/100g de massa corpórea e cloridrato de xilazina** 2% na concentração de 0,04ml/100g. Posteriormente, foram submetidos à tricotomia da região interna das pernas direita e esquerda e realizada a antissepsia com gaze estéril embebida em solução de iodopovidona.

Uma incisão de aproximadamente 10 mm foi realizada, em planos, na região a ser operada, mais precisamente sobre a metáfise tibial. Após uma dissecação delicada, o tecido ósseo foi submetido à osteotomia, realizada por meio de uma seqüência progressiva de fresas (fresa lança; fresa espiral de 2,0 mm) para acomodar um implante*** de titânio de superfície porosa com 4 mm de comprimento por 2,2 mm de diâmetro. Todas as perfurações foram realizadas com motor elétrico**** ajustado a 1200 rpm, sob abundante irrigação com solução salina estéril. O implante foi instalado com a ajuda de uma chave digital*****. A região foi suturada em planos, internamente com fio reabsorvível***** e externamente com fio

* Ketamina Agener – Agener União

** Rompum – Bayer

*** Conexão Sistemas de Prótese

**** BLM 600 – Driller

***** Chave Hexagonal – Conexão

***** Vicryl 5-0 – Johnson & Johnson

de seda^{*}. Os animais receberam, em dose única, penicilina associada à estreptomicina^{**} na dosagem 0,1 ml/kg de peso e 5mg/kg de dexametasona^{***} intramuscular, após a cirurgia. Posteriormente os animais foram acompanhados para avaliação da cicatrização.

5. AVALIAÇÃO DO TORQUE DE REMOÇÃO

No momento do sacrifício, a tíbia esquerda foi removida e estabilizada em uma pequena morsa. Uma chave hexagonal foi conectada tanto no implante como no torquímetro e foi realizado um movimento anti-horário com o objetivo de desrosquear o implante. O pico máximo necessário para movimentar o implante foi registrado como o valor do torque de remoção (N.cm).

6. ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA

Foi realizada análise da densidade mineral óssea (BMD) do fêmur esquerdo e das vértebras lombares para constatação da perda de massa óssea esquelética. Para isso foi utilizado um densitômetro^{****} sendo a análise da densitometria óssea realizada por Dual-energy X-ray Absorptiometry (DXA), empregando-se o software “*Small Animal*”,

* Seda 4-0 – Johnson & Johnson

** Pentabiótico – Wyeth – Whitehall Ltda.

*** Dextar – Agener União

**** Discovery QDR Hologic

fornecido pelo fabricante do aparelho, no modo “*High Resolution*”. A técnica foi padronizada para todos os grupos. Para calibração do aparelho, foi realizado um teste que consiste em mensurar a densidade de um bloco padrão composto por três camadas sintéticas, de constituição semelhante ao osso com área e conteúdo mineral conhecidos.

A delimitação das regiões analisadas foi realizada por dispositivos existentes no programa do aparelho, selecionando sempre o mesmo espaço a fim de padronizar as medidas de todas as sub-regiões.

Foram efetuadas medidas de BMD global e de três sub-regiões, assim determinadas (Figuras 2 e 3):

Fêmur: R1) Epífise proximal;

R2) Epífise distal;

R3) Diáfise.

Vértebras lombares: L2, L3 e L4.

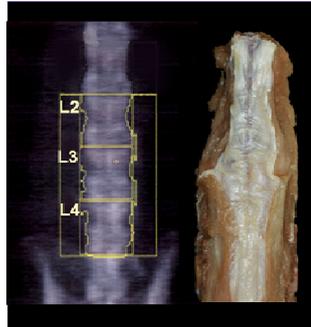


FIGURA 2- Avaliação Global e das sub-regiões da coluna.

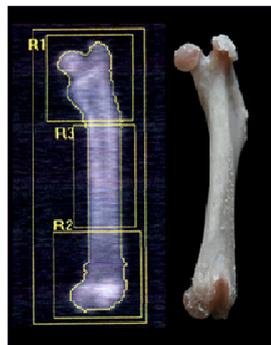


FIGURA 3- Avaliação Global e das sub-regiões do fêmur.

A precisão da DXA na determinação da BMD foi avaliada pela mensuração do coeficiente de variação expresso como uma porcentagem da média²². Para isso, foram realizadas cinco medidas consecutivas de cada região anatômica de uma mesma amostra. Todas as medidas foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Ósseo da Disciplina de Reumatologia da Faculdade de Medicina de São Paulo-USP.

7. ANÁLISE DA DENSIDADE ÓSSEA RADIOGRÁFICA

Aquisição das imagens

As imagens radiográficas da tíbia foram obtidas por meio de um sistema de imagem digital direta - CDR (Computed Dental Radiography para Microsoft Windows, Shick® Technologies, Inc, Dialom Dental Products.), o qual utiliza um sensor eletrônico em substituição ao filme radiográfico. As tíbias foram fixadas em um posicionador de maneira que os implantes ficassem com seu longo eixo perpendicular ao feixe central de raios X e paralelo ao sensor, numa distância foco-objeto de 40 cm. O sensor foi exposto à tomada radiográfica a uma potência de 70KVp e 10mA, com tempo de exposição de 18 pulsos por segundo. A resolução da imagem foi de 635 ppi (pixels per inch) com tamanho da imagem de 900x641 dpi e tamanho dos *pixels* de 40 *microns*. As imagens foram armazenadas em formato TIFF (Tagged Image File Format), sem compressão (8 bits com resolução de 600 dpi).

Análise das imagens

As imagens foram analisadas por meio de um software analisador de imagens (Adobe® Photoshop® 6.0) utilizando-se um computador com processador de 1.73 GHz (Intel Pentium M), 512k, 1 DDR GB e sistema operacional *Windows XP Home* (Microsoft, EUA), em tela plana WXGA *Trubite* de 15.4 polegadas. A densidade óssea radiográfica foi obtida por

meio da análise dos níveis de cinza da radiografia (histograma) em uma área de 5x5 *pixels* em 6 pontos adjacentes ao implante, nas seguintes regiões de interesse: cortical superior, cortical inferior e medular, em ambos os lados do implante (Figura 4).

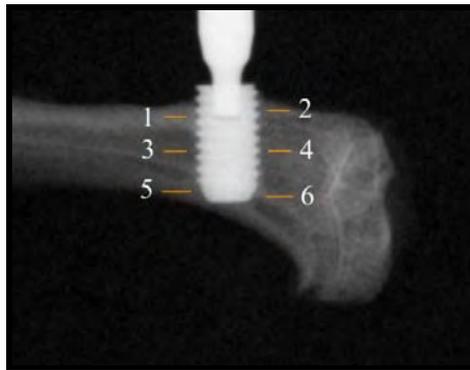


FIGURA 4-Regiões de interesse para análise da densidade óssea radiográfica: (1-2: cortical superior; 3-4: medular; 5-6: cortical inferior)

O cálculo da densidade óssea foi realizado obtendo-se primeiramente a média dos níveis de cinza de cada região de interesse, em seguida, foi obtido o valor de nível de cinza do implante. O valor relativo às regiões de interesse foi dividido pelo valor relativo ao implante com o objetivo de compensar diferenças mínimas entre as radiografias. Também foi realizada a mensuração da espessura das corticais ósseas (superior e inferior) mediante o mesmo software analisador de imagens. O local de mensuração foi padronizado mediante ferramentas próprias do

programa a 1 mm do implante, evitando-se assim a interferência de alterações ou defeitos ósseos próximos ao implante.

8. ANÁLISES LABORATORIAIS

Os animais foram sacrificados após o período previamente determinado com aprofundamento de anestesia. No sacrifício foram removidos os fêmures, direito e esquerdo e as tíbias, direita e esquerda de cada animal.

No momento do sacrifício, uma amostra de sangue foi coletada por punção da artéria caudal, sendo centrifugada por 10 minutos. O soro foi separado do coágulo e congelado a -70°C para análise da concentração de Mg e Ca.

Para a mensuração da concentração sérica de Mg foi utilizado um kit comercial que usa o método colorimétrico*, onde o Mg em meio alcalino reage com o *xylydyl blue*, formando um complexo de cor púrpura e sua intensidade é proporcional à concentração de Mg presente na amostra. A adição do complexo EGTA ao reagente, elimina a interferência dos íons cálcio.

Para a mensuração da concentração sérica de Ca utilizou-se um kit comercial, por meio de método colorimétrico*, onde o Ca reage com o

* Wiener Lab. Rosario, Arg.

arsenazo III produzindo um complexo de cor azul, que foi mensurado em espectrofotômetro a 650 nm.

Na urina também foram determinadas as concentrações de Mg e Ca e para isso os animais foram colocados em gaiolas metabólicas, 24 horas antes do sacrifício, para a coleta de urina. As concentrações de Mg e Ca foram medidas por kits comerciais, sendo o kit e o método de análise semelhantes aos realizados no soro e descritos anteriormente.

9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados, agrupados em tabelas apropriadas, foram submetidos ao teste de D'Agostino para avaliação da normalidade e a partir daí foram aplicados os testes paramétricos (ANOVA) ou não paramétricos (Kruskal-Wallis), para a comparação das médias obtidas nos os grupos experimentais, sendo então realizada a comparação entre os grupos. O nível de significância estabelecido foi de 5%. A hipótese de nulidade foi rejeitada se $p \leq 0,05$.

5 RESULTADO

Peso:

A análise do peso dos ratos jovens no período do Baseline demonstrou que os grupos tiveram diferença significativa. No período Final, houve diferença significativa entre os grupos Mg1 e Mg2 ($p < 0.05$), portanto entre os grupos controle e Mg1 e controle e Mg2 os animais não apresentaram diferença significativa (Tabela 3).

A análise do peso dos ratos adultos no Baseline e no final do experimento, não demonstrou diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3- Média e desvio – padrão do peso (gramas) dos animais jovens e adultos

Ratos jovens

	Controle	Mg1	Mg2
Dia 0	181.1 ± 6.070	190.7 ± 6.269 *	172.7 ± 5.548
Baseline	382.8 ± 34.579	393.4 ± 24.706	397.1 ± 28.62
Final	472.8 ± 71.53	520.7 ± 41.929 **	468.2 ± 47.436

Ratos adultos

	Controle	Mg1	Mg2
Dia 0	377.8 ± 8.029	387.6 ± 8.659 **	373.7 ± 8.330
Baseline	447.5 ± 48.696	417.3 ± 40.828	453.9 ± 30.023
Final	520.7 ± 68.639	535 ± 43.494	483.1 ± 143.719

*(p< 0.05) diferença estatisticamente significante com relação aos grupos do estudo.

** (p< 0.05) diferença estatisticamente significante entre os grupos Mg1 e Mg2.

Resíduos de ração

A análise dos dados (Kruskall – Wallis) dos resíduos de ração total dos ratos jovens entre o Dia 0 e o período precedente ao Baseline, os grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa (Tabela 4). Já durante o período entre o Baseline e o Final, os dados dos animais jovens mostraram diferença significativa entre o grupo controle e o grupo Mg2 e também entre os grupos Mg1 e Mg2 (Tabela 4). Os dados referentes aos resíduos de ração total dos ratos adultos entre o Dia 0 e o período precedente ao Baseline, os animais apresentaram diferença significativa entre o grupo controle e o grupo Mg2 e entre os grupos Mg1 e Mg2 (Tabela 4). Nos animais adultos entre o período do Baseline e o Final, os valores demonstraram diferença significativa entre o grupo controle e os grupos Mg1 e Mg2 e entre os grupos Mg1 e Mg2 (Tabela 4).

Tabela 4- Média e desvio padrão dos resíduos totais de ração (gramas) dos grupos de estudo

Ratos jovens

	Controle	Mg1	Mg2
Dia 0 - Baseline	25.1 ± 21.008	34.7 ± 33.640	19,6 ± 21.364
Baseline - Final	165.7 ± 109.121	24 ± 29.262	142.5 ± 114.007 *

Ratos adultos

	Controle	Mg1	Mg2
Dia 0 - Baseline	17.1 ± 35.076	0	15.5 ± 24.210 *
Baseline - Final	3.7 ± 7.564	0.4 ± 1.549 **	25.3 ± 22.362 *

*($p < 0.05$) diferença estatisticamente significante com relação aos grupos do estudo.

**($p < 0.05$) diferença estatisticamente significante entre os grupos Mg1 e Mg2.

Análises laboratoriais

Concentração plasmática de Cálcio e Magnésio

Os valores da análise (Kruskal – Wallis) da concentração plasmática do Cálcio não demonstraram diferença significativa nos ratos jovens (Tabela 5). O grupo de ratos adultos apresentaram diferença estatisticamente significativa apenas no grupo Mg2, quando comparado com o grupo controle (Tabela 5).

A análise dos dados (Kruskal – Wallis) relativos à concentração plasmática de Magnésio demonstrou diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos Mg1 e Mg2, tanto em animais jovens quanto em animais adultos (Tabela 5)

Tabela 5- Análise da concentração plasmática de Cálcio e Magnésio de animais jovens e adultos

<i>Ratos jovens</i>			
	Controle	Mg1	Mg2
Ca	9.817±1.315	10.199±1.774	9.937±1.943
Mg	4.656±0.671	2.991±0,914*	2.330±1.266*
<i>Ratos adultos</i>			
	Controle	Mg1	Mg2
Ca	9.457±1.208	10.395±1.305	10.713±2.976*
Mg	5.857±1.037	3.361±1.710*	2.975±2.663*

(Kruskal-Wallis)

* p<0.05 em relação ao grupo controle

Concentração urinária de Cálcio e Magnésio

Os dados da concentração urinária do Cálcio, relativos ao grupo de ratos jovens, apresentaram diferença estatisticamente significativa apenas entre os grupos Mg1 e Mg2 (Tabela 6). Os dados analisados dos ratos adultos não demonstraram diferença significativa (Tabela 6).

A análise dos valores (Kruskal – Wallis) da concentração de Magnésio na urina em animais jovens mostrou diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e os grupos Mg1 e Mg2 (Tabela 6). Os valores nos animais adultos apresentaram diferença significativa apenas entre o grupo controle e o grupo Mg2 (Tabela 6).

Tabela 6- Análise da concentração urinária de Cálcio e Magnésio de animais jovens e adultos

<i>Ratos jovens</i>	Controle	Mg1	Mg2
Ca	7.261±6.833	3.463±12.537	14.371±2.234 ^{**}
Mg	7.797±1.806	3.914±1.781*	2.619±1.892*
<i>Ratos adultos</i>	Controle	Mg1	Mg2
Ca	5.541±2.870	5.714±10.439	6.489±3.766
Mg	6.135±1.792	4.853±2.735	3.048±2.72*

(Kruskal-Wallis)

* p<0.05 em relação ao grupo controle

** p<0.05 entre os grupos Mg1 e Mg2

Analisando a influência da idade sobre a concentração plasmática de cálcio e magnésio, foi observada diferença estatisticamente significativa entre grupos controle e grupos com dietas deficientes (Mg1 e Mg2) nas diferentes idades (grupos de ratos jovens e grupos de ratos adultos). A concentração plasmática de cálcio não demonstrou diferença estatisticamente significativa quando observada a influência da idade.

Análise densitométrica lombar

A análise densitométrica das vértebras lombares (ANOVA) mostrou menores valores de densidade para os grupos submetidos à deficiência de Mg. No grupo de ratos jovens foi observada diferença estatística significativa do grupo Mg2 em relação aos demais grupos do estudo, para todas as áreas avaliadas. Os grupos controle e Mg1 não apresentaram diferença estatística entre si, para nenhuma região de interesse (Tabela 7).

Os valores de densitometria das vértebras lombares nos ratos adultos mostraram diferenças significativas para todas as regiões avaliadas do grupo Mg2 em relação ao grupo controle ($p < 0.05$). Essa diferença também foi observada na comparação do grupo Mg2 com o grupo Mg1 em relação à região L3, como mostra a Tabela 7.

Tabela 7- Análise densitométrica das vértebras lombares (média) em animais jovens e adultos

Ratos jovens

	Controle	Mg1	Mg2
GLOBAL	0.2558 ± 0.0121	0.2517 ± 0.0123*	0.2362 ± 0.0087**
L2	0.2509 ± 0.0130	0.2462 ± 0.0116*	0.2321 ± 0.0110**
L3	0.2562 ± 0.0106	0.2537 ± 0.0140	0.2364 ± 0.0105***
L4	0.265 ± 0.0128	0.2656 ± 0.0195	0.2412 ± 0.0119***

Ratos adultos

	Controle	Mg1	Mg2
GLOBAL	0.2666 ± 0.0059	0.2593 ± 0.0200	0.2459 ± 0.0257*****
L2	0.2629 ± 0.0158	0.2563 ± 0.0185	0.241 ± 0.0259*****
L3	0.2694 ± 0.0080	0.2646 ± 0.0170****	0.2428 ± 0.0282
L4	0.2769 ± 0.0082	0.2638 ± 0.0252	0.2525 ± 0.0271*****

(ANOVA)

* (p < 0.05) diferença estatisticamente significativa entre os grupos Mg1 e Mg2

** (p < 0.01) diferença estatisticamente significativa com relação ao grupo Controle

*** (p < 0.01) diferença estatisticamente significativa com relação aos grupos de estudo

**** (p < 0.05) diferença estatisticamente significativa com relação ao grupo Controle

***** (p < 0.05) diferença estatisticamente significativa com relação aos grupos de estudo

Análise densitométrica do fêmur

Os valores de densitometria óssea do fêmur nos animais jovens revelaram diferenças estatisticamente significativas do grupo Mg2 em relação aos grupos controle ($p < 0.01$) e Mg1 ($p < 0.05$) para as regiões R2 e Global. Não foi observada diferença entre os grupos controle e Mg1 para nenhuma das regiões avaliadas (Tabela 8).

A análise densitométrica do fêmur em animais adultos demonstrou diferença significativa apenas para a densidade global do grupo Mg2 em relação aos grupos controle ($p < 0.01$) e Mg1 ($p < 0.05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Densitometria óssea femoral (média) em animais jovens e adultos

<i>Ratos jovens</i>			
	Controle	Mg1	Mg2
R1	0.2415 ± 0.0165	0.2412 ± 0.0071	0.2371 ± 0.0064
R2	0.241 ± 0.0080	0.2382 ± 0.0080*	0.2316 ± 0.0058**
R3	0.2464 ± 0.0129	0.243 ± 0.0101	0.2402 ± 0.0014
Global	0.2487 ± 0.0068	0.2446 ± 0.0036*	0.239 ± 0.0068**
<i>Ratos adultos</i>			
	Controle	Mg1	Mg2
Global	0.2597 ± 0.0069	0.2531 ± 0.0121*	0.2451 ± 0.0161**
R1	0.2606 ± 0.0109	0.2586 ± 0.0215	0.254 ± 0.0116
R2	0.2505 ± 0.0055	0.2467 ± 0.0150	0.2442 ± 0.0177
R3	0.2636 ± 0.0071	0.2574 ± 0.0113	0.254 ± 0.0133

(ANOVA)

* ($p < 0.05$) diferença estatisticamente significante entre os grupos Mg1 e Mg2.

** ($p < 0.01$) diferença estatisticamente significante com relação ao grupo Controle.

Análise da densidade óssea radiográfica:

A análise dos dados (ANOVA) relativos à densidade óssea radiográfica nas regiões cortical superior, medular e cortical inferior em ratos jovens e adultos encontra-se na Tabela 9.

Tabela 9- Média e desvio-padrão dos valores de densidade óssea radiográfica para os grupos controle, Mg1 e Mg2, nas diferentes regiões da tíbia em animais jovens e adultos

Grupo	Cortical superior	Medular	Cortical inferior
Ratos jovens			
Controle	0.770±0.0286 ^{**}	0.703±0.0376 ^{**}	0.705±0.0352 ^{**}
Mg1	0.733±0.0173	0.668±0.0078	0.661±0.0222
Mg2	0.650±0.0286	0.657±0.0368	0.661±0.0349
Ratos adultos			
Controle	0.761±0.0190	0.689±0.0355	0.691±0.0408
Mg1	0.727±0.0131 ^{***}	0.668±0.0075	0.660±0.0196 [*]
Mg2	0.720±0.0085 ^{***}	0.655±0.0247 ^{***}	0.657±0.0228 [*]

(ANOVA)

* p< 0.05 em relação ao grupo controle

** p< 0.01 em relação aos grupos Mg1 e Mg2

*** p< 0.01 em relação ao grupo controle

As análises de densidade óssea radiográfica das corticais superior e inferior da tíbia apresentaram diferença significativa nos grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle, para ambas as idades avaliadas.

A análise do tecido ósseo na região medular mostrou diferença significativa entre os grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle nos ratos jovens. Quando analisados os dados dos grupos de ratos adultos, o grupo Mg2 apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle.

A comparação dos valores de densidade radiográfica entre os grupos dos ratos jovens e adultos foi realizada com base no teste ANOVA, não mostrando diferença entre os grupos de mesmo tratamento, com diferentes idades.

Análise da espessura das corticais tibiais:

A análise dos dados (Kruskal – Wallis) relativos à espessura da cortical óssea superior para o grupo de ratos jovens mostrou diferença estatisticamente significativa entre grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle ($p < 0.05$), porém sem diferença significativa entre eles (Tabela 10).

A análise da cortical inferior não apresentou diferença entre os grupos do estudo ($p=0.0543$; Kruskal - Wallis) (Tabela 10).

Tabela 10- Média e desvio-padrão dos valores de espessura da cortical óssea superior e inferior em ratos jovens e adultos

<i>Ratos jovens</i>		
	Cortical superior	Cortical inferior
Controle	0.462±0.0412*	0.772±0.0406
Mg1	0.375±0.0265	0.759±0.0485
Mg2	0.356±0.0241	0.732±0.0478
<i>Ratos adultos</i>		
	Cortical superior	Cortical inferior
Controle	0.515±0.0414*	0.831±0.0411*
Mg1	0.45±0.02	0.756±0.0264
Mg2	0.404±0.0169**	0.624±0.0283**

(Kruskal-Wallis)

* $p < 0.05$ em relação aos grupos do estudo

** $p < 0.05$ entre os grupos Mg1 e Mg2

Os valores de espessura da cortical óssea superior e inferior, relativos ao grupo de ratos adultos, apresentaram diferença significativa entre os grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle e entre si, como visto na Tabela 10.

Quando analisada a influência da idade utilizando-se os dados sobre a espessura das corticais, observou-se diferença estatística significativa ($p < 0.05$) para todos os grupos estudados com relação à cortical superior, sendo que os grupos de animais adultos apresentaram os maiores valores. Com relação à cortical inferior foi observada diferença estatisticamente significativa apenas para o grupo Mg 2 em relação ao grupo controle, ($p < 0.05$).

Torque de remoção dos implantes:

A análise dos dados relativos ao torque remoção dos implantes (ANOVA) referentes aos ratos jovens (Figura 5) demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) do grupo Mg2 em relação ao grupo controle. Os demais grupos não apresentaram diferença significativa entre si.

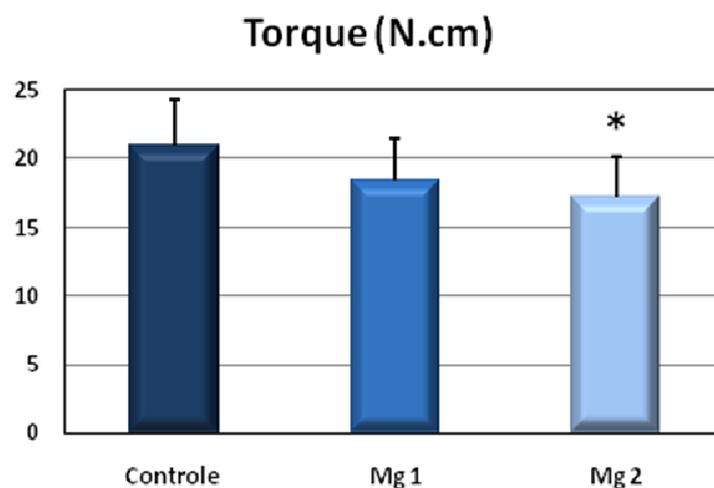


Figura 5- Média e desvio – padrão dos valores de torque de remoção para o grupo de ratos jovens.

* $p < 0.05$ em relação ao grupo controle.

A análise do torque de remoção dos implantes inseridos em ratos adultos não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, como mostra a Figura 6.

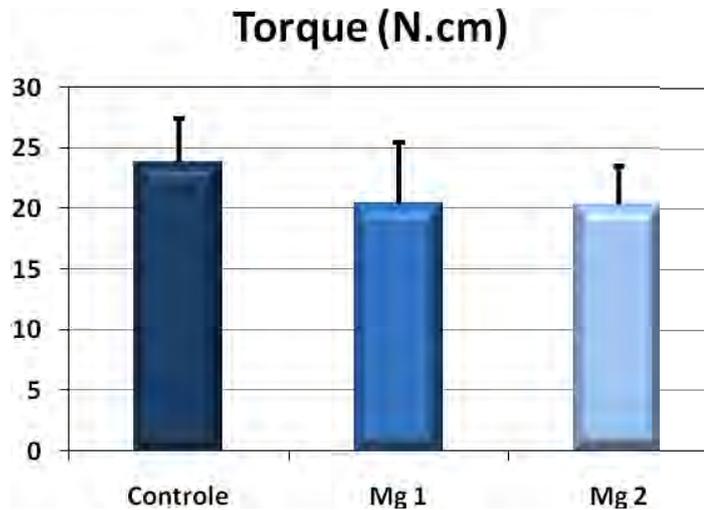


Figura 6- Média e desvio – padrão dos valores de torque de remoção para o grupo de ratos adultos.

A comparação dos valores de torque de remoção dos implantes entre animais de idades diferentes (jovens - adultos) foi realizada com base no teste ANOVA (Tabela 11). Através da análise dos dados, pode-se observar a diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre os ratos de diferentes idades (jovens e adultos) para os grupos Controle e Mg2. Essa diferença não foi observada para os animais pertencentes aos grupos Mg1 ($p = 0.228$).

Tabela 11- Comparação dos valores (média \pm DP) de torque de remoção (N/cm) de implantes entre ratos jovens e adultos

	Controle	Mg1	Mg2
Jovens	20.9 \pm 3.4	18.4 \pm 3.1	17.2 \pm 2.9
Adultos	23.8 \pm 3.6*	20.4 \pm 5.0	20.3 \pm 3.2*

*diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) entre grupos.

6 DISCUSSÃO

A deficiência de magnésio (Mg) na dieta tem sido considerada um fator de risco para a osteoporose, estando relacionada à perda de massa óssea em humanos. Num estudo em animais⁵⁰ foi observada osteopenia, crescimento ósseo anormal e fragilidade esquelética. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da deficiência de Mg na dieta de ratos jovens e adultos sobre o padrão ósseo de implantes de Ticp (titânio comercialmente puro), com osseointegração estabelecida. A deficiência de Mg pode ser induzida por diversos métodos, sendo que o mais utilizado é a deficiência parcial do mineral na dieta diária do animal, e por esta razão, esta metodologia foi empregada em nosso estudo por meio de uma padronização nutricional já determinada e específica para animais em crescimento e manutenção⁴³. A deficiência do mineral foi instituída durante um período de 90 dias para se evitar algum tipo de alteração nos resultados por perda óssea fisiológica por influência do processo de envelhecimento dos animais, principalmente dos adultos.

As dietas com deficiência parcial de Mg (75% e 90% de restrição do mineral), foram estabelecidas por meio de parâmetros estabelecidos em estudos em animais nos quais diversos autores^{47,50,51,62} observaram várias alterações ósseas, como diminuição da densidade óssea mineral, diminuição na quantidade e no volume de osso trabecular, alterações na arquitetura do

tecido ósseo com aumento de fragilidade, podendo tornar-se um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose.

Os animais utilizados nesta pesquisa foram pesados em dois períodos, no *Baseline* e no Final. Os grupos de animais jovens e adultos submetidos às deficiências de Mg (Mg1 e Mg2), não apresentaram diferenças significantes de peso no *Baseline*. Os animais jovens não mostraram diferença significativa nos grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle, apenas apresentaram diferença significativa quando comparados entre si. Esta diferença pode ser causada pela maior quantidade de sobras de ração (aproximadamente 1,5 gr/dia) encontradas nas gaiolas do grupo Mg2, pois a quantidade de resíduos de ração diária foi desprezível.

A deficiência de Mg pode ser comprovada mediante a análise da concentração plasmática e urinária de Mg. Por outra parte, a mensuração do cálcio (Ca) também é importante, pois este mineral atua como antagonista do Mg, competindo pela absorção no intestino, como relataram Rude et al.⁴⁹ e Toba et al.⁶⁶.

A análise dos dados sobre a concentração plasmática de Mg, em ratos jovens e adultos demonstrou diferença significativa ($p < 0.05$) para os grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle. Os dados evidenciam valores associados à hipomagnesemia e estão de acordo com os resultados do

estudo de Rude et al.⁵¹ que utilizou deficiência de 90% de Mg. Com relação à deficiência de Mg de 75% (Mg1), os valores são semelhantes aos achados do estudo de Rude et al.⁵⁰, demonstrando níveis plasmáticos de Mg menores no grupo com deficiência do mineral. Realizando uma comparação com o estudo de Toba et al.⁶⁶, animais com deficiência na dieta de 50% de Mg apresentaram igualmente menores valores de concentração plasmática de Mg em relação a este trabalho na deficiência de 75% de Mg.

A análise dos dados da concentração de Mg na urina demonstrou diferença significativa ($p < 0.05$) para os grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle em ratos jovens; já os resultados da análise da urina dos ratos adultos mostraram diferença ($p < 0.05$) entre o grupo Mg2 e o grupo controle. Os dados revelam que os grupos com deficiência (Mg1 e Mg2) apresentam valores reduzidos do mineral na urina, provavelmente, pelo fato de ter pouca disponibilidade do Mg. Os achados de Toba et al.⁶⁶ apresentaram valores de concentração urinária de Mg sem diferença significativa, contudo, o grupo experimental de deficiência (50% de Mg) apresentou maior concentração de Mg que o grupo com menor deficiência de nosso estudo (75%). No estudo de Toba et al.⁶⁶, o período de tempo de deficiência foi menor, porém os resultados podem ter variabilidade em função do tempo de indução da deficiência.

Em nosso estudo, os resultados de concentração plasmática de Ca nos animais jovens foram maiores que os dados da concentração de Mg, concordando com os achados de Rude et al.⁵⁰, Rude et al.⁵¹ e Toba et al.⁶⁶. Os valores da concentração plasmática de Ca, em nosso estudo demonstram diferença apenas entre o grupo Mg2 em relação ao grupo controle, no grupo de ratos adultos. No estudo de Rude et al.⁵¹, os valores de Ca plasmático demonstraram diferença ($p < 0.0001$) no grupo com deficiência de Mg de 90% em relação ao grupo controle, sendo muito próximos dos resultados deste estudo. Toba et al.⁶⁶ demonstraram no seu estudo valores de concentração de Ca na urina sem diferença significativa; embora os animais fossem mais jovens e foi utilizado um menor tempo de duração da deficiência de Mg. O Ca e o Mg competem pela absorção do Magnésio, porém, na ausência dele, o organismo compensa esta falta, aumentando a concentração do Ca no plasma⁴⁹.

Os valores da concentração urinária de Ca demonstraram diferença significativa ($p < 0.05$) apenas entre os grupos Mg1 e Mg2 no grupo de ratos jovens e este resultado pode demonstrar que existe uma compensação do organismo na tentativa de substituir a deficiência do Mg, aumentando os níveis de Ca, determinando assim uma maior excreção deste mineral. Já nos ratos adultos, não houve diferença significativa, dados que concordam com os estudos de Toba et al.⁴⁹.

Outros estudos^{20,34,37,41,55} já demonstraram que as condições sistêmicas podem alterar a reparação do tecido ósseo peri-implantar, comprometendo o sucesso da osseointegração. A osteoporose atinge o esqueleto axial e apendicular, e, do mesmo modo afeta os ossos maxilares, podendo haver diminuição da quantidade e da densidade óssea. Esta patologia óssea pode prejudicar a reparação do tecido ósseo, podendo ser considerada uma contra-indicação à instalação de implantes^{1,12}. A *dual energy X-ray absorptiometry* (DXA) é o método *gold standard* para diagnóstico da osteoporose em humanos e é também utilizado para estabelecer a perda de massa óssea em animais; determinando a mudança de densidade ao longo de períodos de tempo⁶¹.

A análise de densitometria óssea por DXA realizada em três regiões diferentes do fêmur (R1- epífise proximal , R2- epífise distal e R3- diáfise) mostrou que o grupo Mg2 (deficiência de 90%) apresentou perda de massa óssea na região R2 e global, no grupo de ratos jovens e somente na região global no grupo de ratos adultos. As diferenças não foram significantes entre as 3 regiões (R1, R2 e R3), mas demonstraram resultados significativos na região global, sendo que este achado sugere que a perda de massa óssea não tem um padrão regional. Estes resultados são similares ao estudo de Stendig-Lindberg et al.⁶¹ onde o grupo com deficiência de 90% do Mg apresentou maior perda de massa óssea, evidenciando maior fragilidade e

menor resistência à fratura. Em nosso estudo, o grupo Mg1 apresentou valores de densidade óssea menores, não significantes comparando-se ao grupo controle, provavelmente devido ao curto período de deficiência induzida (3 meses). Entretanto nossos resultados do grupo Mg1 (0.0125 % Mg) foram semelhantes aos achados de Gruber et al.²³, num estudo realizado em camundongos com indução de deficiência de Mg com concentração de 0.002%, no qual os valores de densidade óssea na diáfise do fêmur não demonstraram diferença significativa num curto prazo. Os resultados de Rude et al.⁵⁰, evidenciam que em um período de 2 meses de depleção do mineral, foram identificados valores muito próximos de densidade óssea na tíbia proximal entre o grupo controle e o grupo com deficiência de Mg de 75%; já aos 4 meses, o grupo com deficiência apresentou densidade óssea menor em aproximadamente 50%; sugerindo assim que uma deficiência menor de Mg necessita de maior tempo de indução para que se estabeleçam efeitos mais evidentes de perda de massa óssea em ossos longos.

A análise de densitometria óssea (DXA) das vértebras lombares foi realizada em três vértebras distintas (L2, L3 e L4) demonstrando perda de massa óssea em todas as regiões e também na mensuração global apenas no grupo Mg2 (90%), tanto no grupo de ratos jovens como no grupo de adultos, sendo similares aos achados de Stendig-Lindberg et al.⁶¹ sugerindo

que a deficiência de 90% de magnésio apresenta resultados importantes como aumento de remodelação óssea e do volume trabecular em curto espaço de tempo, induzindo a osteoporose confirmada pela mesma técnica utilizada para diagnóstico em humanos.

O grupo Mg1 (75%) apresentou valores menores de densidade óssea em relação ao grupo controle tanto no fêmur como nas vértebras lombares, pois provavelmente a deficiência do mineral necessita agir durante maiores períodos de tempo para que haja perda de massa óssea mais significativa como os dados demonstrados por Rude et al.⁵⁰, em 2005.

Relacionando-se os resultados de análise densitométrica em animais com deficiência de Mg com resultados em estudos em ratas ovariectomizadas, pode-se observar que nas duas condições existe uma diminuição da densidade óssea e que conseqüentemente leva à perda de massa óssea tanto no fêmur como nas vértebras lombares^{19,39}.

Várias técnicas têm sido utilizadas para se avaliarem as alterações do tecido ósseo ao redor de implantes sob influência de condições sistêmicas específicas^{20,53,54,55,63}. A densidade radiográfica é um método que proporciona um diagnóstico por imagem, mediante um *software* que realiza uma análise dos níveis de cinza em uma área específica. Esta técnica tem

sido utilizada amplamente por oferecer resultados rápidos e precisos na avaliação da densidade óssea ao redor de implantes de titânio⁶³.

A análise dos dados da densidade óssea radiográfica demonstraram a influência da deficiência de Mg no tecido ósseo ao redor dos implantes. Os valores dos grupos Mg1 e Mg2 foram menores na região medular em relação ao grupo controle em ratos jovens; concordando com os achados ósseos radiográficos peri-implantares de Giro et al.²⁰ e Sakakura et al.⁵⁴ que realizaram estudos em ratas ovariectomizadas.

Pela análise da espessura das corticais ósseas (superior e inferior) observou-se que sofreram influência da deficiência de Mg; sendo que os grupos Mg1 e Mg2 apresentaram diferença significativa ($p < 0.01$) em relação ao grupo controle. O osso cortical pode também ser afetado pela osteoporose causada pelas deficiências de Mg (75% e 90%)⁴² e, provavelmente, isso se deve ao aumento da atividade osteoclástica, estimulada pela depleção do mineral⁴². Em nosso estudo os grupos Mg1 e Mg2 nos animais jovens apresentaram uma diminuição da espessura da cortical superior e inferior da tíbia em relação ao grupo controle, ratificando os achados de Comelekoglu et al.⁹ e Nagarredy, Lakshmana⁴² que realizaram estudos em fêmures de ratas ovariectomizadas.

A análise da densidade radiográfica realizada da região medular no grupo de animais adultos apresentou diferença apenas no grupo Mg2 em comparação ao grupo controle, sendo estes dados semelhantes aos achados de outros estudos^{20,54}. O grupo Mg1 (75%) apresentou valores menores que o grupo controle, porém não significantes, e possivelmente se o tempo de deficiência fosse aumentado poderia haver alguma mudança nesta densidade óssea. Na análise das regiões corticais, superior e inferior, os grupos Mg1 e Mg2 mostraram diferença significativa em comparação ao grupo controle. Da mesma maneira, a espessura das corticais ósseas nos animais adultos foi afetada pela deficiência de Mg; sendo que os grupos Mg1 e Mg2 mostraram diferença significativa ($p < 0.05$) quando comparados entre si e em relação ao grupo controle. A diminuição das corticais ósseas nos ratos adultos sugere que a deficiência de Mg tem maior impacto no equilíbrio de formação e reabsorção óssea, provavelmente pelo envelhecimento do animal.

O tecido ósseo ao redor de implantes com osseointegração estabelecida pode ser afetado pela deficiência de Mg, influenciando na qualidade e quantidade óssea, como foi comprovado pela avaliação da densidade radiográfica e também da análise densitométrica havendo menores valores de densidade óssea nos grupos com deficiência de Mg. Estas alterações no metabolismo ósseo comprometem a reparação óssea,

podendo ser um fator de risco ao insucesso dos implantes, alterando o contato osso-implante que é indispensável para a manutenção da osseointegração.

A porcentagem de contato osso-implante está associada diretamente à força necessária para o torque de remoção de implantes, sendo esta metodologia muito utilizada por vários autores^{17,20,40,58} para mensurar biomecanicamente o grau de osseointegração de implantes de titânio.

A análise dos resultados do teste de torque de remoção dos implantes nos ratos jovens evidenciou diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$) somente nos valores do grupo Mg2 em comparação ao grupo controle. Estes resultados foram similares aos obtidos por Giro et al.¹⁹ e Narai, Nagata⁴⁰ em estudos em ratas ovariectomizadas, que apresentaram valores menores de torque de remoção em comparação ao grupo controle.

A condição sistêmica induzida pela deficiência de Mg de 90% pode diminuir o contato osso-implante como demonstraram os resultados do teste de torque de remoção de nosso estudo, causando menor resistência biomecânica. Contudo, o grupo Mg1 (75%) apresentou valores menores aos do grupo controle e próximos aos do grupo Mg2, apesar de não terem sido significantes. Talvez a deficiência de Mg de 75% teria que ser induzida por um período mais prolongado de tempo para que se estabelecesse um menor

contato osso-implante que levasse a alterações biomecânicas mais acentuadas.

No grupo de animais adultos, este teste biomecânico apresentou valores menores nos grupos Mg1 e Mg2 em relação ao grupo controle, entretanto estes valores não apresentaram diferença significativa. Analisando os dados de torque de remoção de implantes comparando-se os grupos de ratos jovens e adultos, pode-se observar que os ratos adultos apresentaram valores maiores ($p < 0.05$) nos grupos controle e Mg2 em comparação com os ratos jovens. Finalmente pode-se sugerir que a deficiência foi menos estabelecida nos animais com maior idade e com menor depleção do Mg (75%).

Os resultados deste estudo podem ajudar a esclarecer uma possível explicação para a diminuição da massa óssea e para alterações biomecânicas do tecido ósseo peri-implantar em ratos, comprovando que a deficiência de Mg na dieta pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose, podendo assim levar a um insucesso de implantes osseointegrados.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo permitem concluir:

1. A deficiência de Mg na dieta em ratos produz perda da massa óssea, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de osteoporose.
2. A depleção de Mg na dieta influencia negativamente na densidade óssea radiográfica do tecido ósseo medular como cortical ao redor dos implantes com osseointegração estabelecida.
3. A deficiência de Mg causa distúrbios que modificam as características biomecânicas do tecido ósseo ao redor de implantes com osseointegração estabelecida.

8 REFERÊNCIAS*

1. Baxter JC, Fattore L. Osteoporosis and osseointegration of implants. *J Prosthodont.* 1993;2:120-5.
2. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol.* 2002; 29 (suppl 3):197-212.
3. Blache D, Devaux S, Joubert O, Loreau N, Schneider M, Durand P, et al. Long-term moderate magnesium-deficient diet shows relationships between blood pressure, inflammation and oxidant stress defense in aging rats. *Free Radic Biol Med.* 2006; 41:277 – 84.
4. Boskey AL, Rimnac CM, Bansal M, Federman M, Lian J, Boyan BD. Effect of short-term hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone. *J Orthop Res.* 1992; 10:774-83.
5. Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindström J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prosthesis. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969; 3: 81-100.
6. Carpenter TO, Mackowiak SJ, Troiano N, Gundberg, CM. Osteocalcin and its messages: relationship to bone histology in magnesium-deprived rats. *Am J Physiol.* 1992; 263:107-14.

*De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

7. Clark I, Bel anger L. The effects of alterations in dietary magnesium on calcium, phosphate and skeletal metabolism. *Calcif Tissue Res.* 1967; 1:204-18.
8. Clokie CM, Warshawsky H. Development of a rat tibia model for morphological studies of the interface between bone and titanium implant. *Compendium.* 1995; 16:56,58,60.
9. Comelekoglu U, Bagis S, Yalin S, Ogenler O, Yildiz A, Sahin NO, et al. Biomechanical evaluation in osteoporosis: ovariectomized rat model. *Clin Rheumatol.* 2007;26:380-4.
10. Creedon A, Flynn A, Cashman K. The effect of moderately and severely restricted dietary magnesium intakes on bone composition and bone metabolism in the rat. *Br J Nutr.* 1999; 82:63 - 71.
11. Croner R, Schwille PO, Erben RG, Gepp H, Stahr K, R umenapf G, et al. Effects of partial and total colectomy on mineral and acidbase homeostasis in the rat: magnesium deficiency, hyperphosphaturia and osteopathy, in the presence of high serum 1,25-dihydroxyvitamin D but normal parathyroid hormone. *Clin Sci.* 2000; 98:649-59.
12. Dao TT, Anderson JD, Zarb GA. Is osteoporosis a risk factor for osseointegration of dental implants?. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1993; 8: 137-44.

13. Dayer R, Rizzoli R, Kaelin A, Ammann P. Low protein intake is associated with impaired titanium implant osseointegration. *J Bone Miner Res.* 2006; 21:258-64.
14. Duarte PM, César-Neto JB, Sallum AW, Sallum EA, Nociti FH Jr. Effect of estrogen and calcitonin therapies on bone density in a lateral area adjacent to implants placed in the tibiae of ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2003; 74:1618 – 24.
15. Elin, RJ. Assessment of magnesium status. *Clin Chem.* 1987; 33:1965-70.
16. Fatemi S, Ryzen E, Flores J, Endres DB, Rude RK. Effect of experimental human magnesium depletion on parathyroid hormone secretion and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 73:1067–72.
17. Gahlert M, Gudehus T, Eichhorn S, Steinhauser E, Kniha H, Erhardt W. Biomechanical and histomorphometric comparison between zirconia implants with varying surface textures and a titanium implant in the maxilla of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18:662-8.

18. Giro, G. Avaliação radiográfica e biomecânica da influência da osteoporose induzida em ratas, e seu tratamento com alendronato e estrógeno, sobre o tecido ósseo ao redor de implantes com osseointegração estabelecida [Dissertação de Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2006.
19. Giro G, Gonçalves D, Sakakura CE, Pereira RM, Marcantonio Júnior E, Orrico SR. Influence of estrogen deficiency and its treatment with alendronate and estrogen on bone density around osseointegrated implants: radiographic study in female rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;105:162-7.
20. Giro G, Sakakura CE, Gonçalves D, Pereira RM, Marcantonio E Jr, Orrico SR. Effect of 17beta-estradiol and alendronate on the removal torque of osseointegrated titanium implants in ovariectomized rats. *J Periodontol.* 2007; 78:1316-21.
21. Green J, Richards J, Madigan J, Bunmng R. Bone resorption responses to magnesium enriched high calcium milk in postmenopausal women. *Bone.* 2000; 27(4 Suppl 1):S44.
22. Grier SJ, Turner AS, Alvis MR. The use of Dual-Energy X ray absorptiometry in animals. *Invest Radiol* 1996; 31: 50-62.

23. Gruber HE, Rude RK, Wei L, Frausto A, Mills BG, Norton HJ. Magnesium deficiency: effect on bone mineral density in the mouse appendicular skeleton. *BMC Musculoskelet Disord.* 2003; 4:7.
24. Gunther, T. Mechanisms and regulation of Mg²⁺ efflux and Mg²⁺ influx. *Miner Electrolyte Metab.* 1993; 19:259-65.
25. Hara H, Konishi A, Kasai T. Contribution of the cecum and colon to zinc absorption in rats. *J Nutr.* 2000; 130:83.
26. Héroux O, Peter D, Tanner A. Effect of a chronic suboptimal intake of magnesium on magnesium and calcium content of bone and on bone strength of rat. *Can J Physiol Pharmacol.* 1975; 53:304-10.
27. Iannello S, Prestipino M, Cavalleri A, Spina S, Belfiore F. Precordial discomfort and ECG changes of repolarization associated with hypomagnesemia in a young woman following colectomy for diffuse colonic lipomatosis. *Minerva Cardioangiol.* 1997; 45: 581-6.
28. Kenney M, McCoy H, Williams L. Effects of magnesium deficiency on strength, mass, and composition of rat femur. *Calcif Tissue Int.* 1994; 54:44-9.
29. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-years follow up study of mandibular fixed prosthesis supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss. *Clin Oral Implants Res.* 1996; 7:329-36.

30. Ma J, Ma J, Folsom AR, Melnick SL, Eckfeldt JH, Sharrett AR, Nabulsi AA, et al. Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: The ARIC study. *Atherosclerosis Risk in Community Study. J Clin Epidemiol.* 1995; 48:927- 40.
31. Maguire ME. Hormone-sensitive magnesium transport and magnesium regulation of adenylate cyclase. *Trends Pharmacol Sci.* 1984; 5:73-7.
32. Maguire ME, Cowan JA. Magnesium chemistry and biochemistry. *BioMetals.* 2002; 15:203 - 10.
33. Malpuech-Brugère C, Nowacki W, Daveau M, Gueux E, Linard C, Rock E, et al. Inflammatory response following acute magnesium deficiency in the rat. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1501:91 – 8.
34. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, Pepato MT, Alba RC, Marcantonio E. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent.* 2003; 12:333-9.
35. McCaughey S, Tordoff MG. Magnesium appetite in the rat. *Appetite.* 2002; 38:29-38.
36. Molly L. Bone density and primary stability in implant therapy. *Clin Oral Imp Res.* 2006; 17(Suppl 2):124-35.

37. Mombelli A, Cionca N. Systemic diseases affecting osseointegration therapy. *Clin Oral Imp Res.* 2006; 17(Suppl. 2): 97-103.
38. Nakawaga M, Oono H, Nishio AD. Enhanced production of IL-1 β and IL-6 following endotoxin challenge in rats with dietary magnesium deficiency. *J Vet Med Sci.* 2001; 63:467- 9.
39. Namkung-Matthai H, Appleyard R, Jansen J, Hao Lin J, Maastricht S, Swain M, Mason RS, Murrell GA, Diwan AD, Diamond T. Osteoporosis influences the early period of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Bone.* 2001;28:80-6.
40. Narai S, Nagahata S. Effects of alendronate on the removal torque of implants in rats with induced osteoporosis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18:218 – 23.
41. Neukam FW, Flemmig TF. Local and systemic conditions potentially compromising osseointegration. Consensus report of working group 3. *Clin Oral Imp Res.* 2006; 17 (Suppl 2): 160-2.
42. Reddy Nagareddy P, Lakshmana M. Assessment of experimental osteoporosis using CT-scanning, quantitative X-ray analysis and impact test in calcium deficient ovariectomized rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2005;52:350-5.
43. Reeves PG. Components of the AIN-93 Diets as improvements in the AIN-76 diet. *J Nutr.* 1997; 127:838S-41S.

44. Reginster JY, Strause L, Deroisy R, Lecart MP, Saltman P, Franchimont P. Preliminary report of decreased serum magnesium in postmenopausal osteoporosis. *Magnesium*. 1989; 8:106-9.
45. Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science*. 2000; 289(5484):1508-14.
46. Rude RK. Magnesium metabolism and deficiency. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1993; 22:377-95.
47. Rude RK, Gruber HE. Magnesium deficiency and osteoporosis: animal and human observations. *J Nutr Biochem*. 2004; 15:710-6.
48. Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A. Immunolocalization of RANKL is increased and OPG decreased during dietary Magnesium deficiency in the rat. *Nutr Metab*. 2005; 2:24.
49. Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. *Calcif Tissue Int*. 2003; 72:32 - 41.
50. Rude RK, Gruber HE, Norton HJ, Wei LY, Frausto A, Kilburn J. Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. *Bone*. 2005; 37:211-9.

51. Rude RK, Gruber HE, Norton HJ, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Bone loss induced by dietary magnesium reduction to 10% of the nutrient requirement in rats is associated with increased release of substance P and Tumor Necrosis Factor- α 1. *J Nutr.* 2004; 134:79 - 85.
52. Ryder KM, Shorr RI, Bush AJ, Kritchevsky SB, Harris T, Stone K, Cauley J, et al. Magnesium intake from food and supplements is associated with bone mineral density in healthy older white subjects. *J Am Geriatr Soc.* 2005, 53:1875 – 80.
53. Sakakura CE, Marcantonio E Jr, Wenzel A, Scaf G. Influence of cyclosporin A on quality of bone around integrated dental implants: a radiographic study in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2007; 18:34-9.
54. Sakakura CE, Margonar R, Sartori R, Morais JA, Marcantonio EJr. The influence of cyclosporin a on mechanical retention of dental implants previously integrated to the bone: a study in rabbits. *J Periodontol.* 2006; 77:2059-62.
55. Sakakura CE, Margonar R, Holzhausen M, Nociti FHJr, Alba RCJr, Marcantonio EJr. Influence of cyclosporin A therapy on bone healing around titanium implants: a histometric and biomechanic study in rabbits. *J Periodontol.* 2003; 74:976-81.

56. Sanchez-Morito N, Planells E, Aranda P, Llopis J. Influence of magnesium deficiency on the bioavailability and tissue distribution of iron in the rat. *J Nutr Biochem.* 2000; 11:103-8.
57. Saris NE, Mervaalla E, Karppanen H, Khawaja JA, Lewenstam A. Magnesium. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta.* 2000; 294:1-26.
58. Shalabi MM, Wolke JG, de Ruijter AJ, Jansen JA. A mechanical evaluation of implants placed with different surgical techniques into the trabecular bone of goats. *J Oral Implantol.* 2007;33:51-8.
59. Shiga K, Hara H, Suzuki T, Nishimukai M, Konishi A, Aoyama Y. Massive large bowel resection decreases bone strength and magnesium content but not calcium content of the femur in rats. *Nutrition.* 2001; 17:397- 402.
60. Shirota T, Tashiro M, Ohno K, Yamaguchi A. Effect of intermittent parathyroid hormone (1-34) treatment on the bone response after placement of titanium implants into the tibia of ovariectomized rats. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003; 61:471-80.
61. Stendig-Lindberg G, Koeller W, Bauer A, Rob PM. Experimentally induced prolonged magnesium deficiency causes osteoporosis in the rat. *Eur J Intern Med.* 2004; 15:97- 107.

62. Steven E. Selub, digestion and absorption, water, electrolyte, and vitamin transport. In: Haubrich W, Shaffner F, Berk JE, editors. Bockus gastroenterology. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 947.
63. Taba Júnior M, Novaes Júnior AB, Souza SL, Grisi MF, Palioto DB, Pardini LC. Radiographic evaluation of dental implants with different surface treatments: an experimental study in dogs. *Implant Dent.* 2003;12:252-8.
64. Takami M, Shinnichi S. Bone and magnesium. *Clin Calcium.* 2005; 15:91 - 6.
65. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289(5484):1504 – 8.
66. Toba Y, Masuyama R, Kato K, Takada Y, Aoe S, Suzuki K. Effects of dietary magnesium level on calcium absorption in growing male rats. *Nutrition Research.* 1999; 19: 783-793.
67. Tokugawa Y, Shirota T, Ohno K, Yamaguchi A. Effects of bisphosphonate on bone reaction after placement of titanium implants in tibia of ovariectomized rats. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003; 18:66-74.
68. Tresguerres IF, Clemente C, Donado M, Gomez-Pellico L, Blanco L, Alobera MA, et al. Local administration of growth hormone enhances

- periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Implants Res.* 2002; 13:631-6.
69. Tucker KL. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:727-36.
70. Vormann, J. Magnesium: nutrition and metabolism. *Mol Aspects Med.* 2003; 24:27-37.
71. Vormann J, Günther T, Höllriegl V, Schümann K. Effect of various degrees and duration of magnesium deficiency on lipid peroxidation and mineral metabolism in rats. *J Nutr Biochem.* 1995; 6:681-8.
72. Wacker WE, Parisi AF. Magnesium metabolism. *N Engl J Med.* 1968; 278:658 - 63.
73. World Health Organization, Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. Geneva: WHO; 1998.
74. Windhauser M, Kappel LC, Hegsted M. The humoral immune response in marginally and severely magnesium deficient rats. *J Nutr Biochem.* 1991; 2:541-6.

75. Yamamoto ME, Yamamoto ME, Applegate WB, Klag MJ, Borhani NO, Cohen JD, et al. Lack of blood pressure effect with calcium and magnesium supplementation in adults with high-normal blood pressure. Results from Phase I of the Trials of Hypertension Prevention (TOHP). Trials of Hypertension Prevention (TOHP) Collaborative Research Group. *Ann Epidemiol.* 1995; 5:96 - 107.
76. Zimmermann P, Weiss U, Classen HG, Wendt B, Epple A, Zollner H, et al. The impact of diets with different magnesium contents on magnesium and calcium in serum and tissues of the rat. *Life Sci.* 2000; 67:949-58.