

Trabalho de Conclusão de Curso

Efeito da diabetes na indução e progressão das infecções pulpar e
periodontal. Análise por imagens.

Orientador: Luciano Tavares Angelo Cintra

Co-Orientador: Gilberto Aparecido Coclete

Orientada: Clicia Pereira Ribeiro

ARAÇATUBA-SP

2013

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar por imagens radiográficas digitais o efeito da diabetes no desenvolvimento da infecção pulpar e da doença periodontal em ratos Wistar. Foram utilizados 60 animais divididos em 6 grupos: 1 – ratos controle; 2 – ratos com infecção pulpar; 3 – ratos com doença periodontal; 4 – ratos diabéticos; 5 – ratos diabéticos com infecção pulpar; 6 – ratos diabéticos com doença periodontal. A diabetes foi induzida por meio de uma aplicação de estreptozotocina cujo desenvolvimento da doença foi confirmado nas 24/48 horas subsequentes pela avaliação glicêmica. Na sequência, nos grupos 2 e 5 foi realizada a exposição pulpar do primeiro molar superior direito para o desenvolvimento da infecção pulpar. Nos grupos 3 e 6 foi realizada a ligadura junto ao colo dentário do segundo molar superior esquerdo para o desenvolvimento da doença periodontal. Os animais foram sacrificados após 30 dias e as maxilas direita e esquerda foram removidas e separadas. As hemimaxilas foram radiografadas empregando-se o aparelho GE 1000 e as imagens captadas de forma digital pelo software Digora for Windows 1.51, utilizando a densidade radiográfica no método de análise. Os dados foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguidos do teste de Tukey ($p < 0.05$). As análises radiográficas revelaram que ratos diabéticos apresentam lesões periapicais e periodontais significativamente maiores quando comparadas aos ratos controles ($p < 0.05$). Dessa forma o presente estudo indica que a diabetes acelera o desenvolvimento e progressão de lesão periapical e doença periodontal em ratos.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of experimental diabetes on the development of periapical lesions and/or periodontal disease by bone density measurement. It were used 60 Wistar rats divided into 6 groups of 10 animals each: G1 - normal rats, G2 - rats with pulpal disease, G3 - rats with periodontal disease, G4 - diabetic rats, G5 - diabetic rats with pulpal disease, G6 - diabetic rats with periodontal disease. Diabetes was induced using streptozotocin, the periapical lesions were induced by dental pulp exposure to the oral environment and the periodontal disease by periodontal ligature. The animals were killed after 30 days. The jaws were surgically removed and fixed in formalin and then radiographed in a standardized position and the images evaluated using the Digora TM digital radiographic system. Bone mineral density data were tabulated

according to each experimental group and statistically analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey test ($p < 0.05$). Radiographic analysis revealed that diabetic rats presented significantly larger periapical and periodontal lesions when compared with control rats ($p < 0.05$). Data from the present study indicated that diabetes accelerates the development and progression of periapical lesions and periodontal disease in rats.

Keywords

Diabetes; periodontal disease, pulpal infection, digital radiographic.

I - INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Diabetes Mellitus é uma doença metabólica devido aos distúrbios na produção de insulina resultando no metabolismo anormal de gordura, açúcar e proteína produzindo um estado hiperglicêmico (American Diabetes Association, 2004, 2006). A insulina é um hormônio produzido pelo pâncreas e liberado constantemente em pequenas quantidades, entretanto, quando há consumo de alimento, a insulina é liberada em maiores quantidades. O corpo tem a habilidade de remover o excesso de glicose e estocá-la no fígado e músculo na forma de glicogênio ou convertê-la em gordura. Quando necessário, a glicose armazenada é liberada de volta à corrente sanguínea para ser levada às células com auxílio da insulina. Em um paciente diabético, este processo está alterado, pois a glicose está em excesso na corrente sanguínea devido à liberação insuficiente de insulina pelo pâncreas ou pela resistência celular à insulina (Guyton, 2002). Os primeiros registros da doença constam no Papiro de Ebers, em 1500ac. A expectativa para o ano de 2025, segundo estudos de King et al., (1998) é de 300 milhões de diabéticos no mundo sendo 11,6 milhões no Brasil. Atualmente nosso país ocupa o sexto lugar no ranking mundial em relação ao número de portadores desta disfunção, abrangendo cerca de 5 milhões de diabéticos.

Em 1997, a American Diabetes Association (ADA) divulgou os critérios de diagnóstico e classificação da Diabetes, os quais foram alterados em 2003 segundo notificação do Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus 1997; 2003) Atualmente a classificação da Diabetes publicada pela ADA no periódico Diabetes Care compreende (American Diabetes Association, 2006):

- Diabetes do tipo 1;
- Diabetes do tipo 2;
- Diabetes gestacional (GDM)
- Outros tipos específicos como: problemas genéticos na função das células beta, defeitos genéticos na ação de insulina, doenças do pâncreas (fibrose cística), endocrinopatias, ou por meio de drogas ou produtos químicos decorrente do tratamento de AIDS ou órgão após transplante (Mealey & Oates 2006; American Diabetes Association, 2004, 2006).

O diabetes tipo 2 usualmente se desenvolve ao longo do tempo e tipicamente envolve reduzida resposta dos tecidos à insulina circulante. A diabetes é frequentemente

controlada pela dieta ou agentes hipoglicemiantes (Guyton, 2002). Se não controlada através do monitoramento glicêmico, dieta e peso, a diabetes tipo 2 pode contribuir para o aumento na suscetibilidade à infecção e inflamação como aquelas da doença periodontal ou endodôntica (Offenbacher, 1996; Iacopino, 2001; Soskolne & Klinger, 2001; Taylor, 2001; Lalla et al., 2001; Fouad, 2003).

Sabe-se que a Diabetes mellitus é uma doença crônica e que possui consequências graves para a saúde geral assim como para a cavidade bucal. Segundo Bender & Bender (2003), as manifestações bucais das infecções ocorrem mais rapidamente e mais severamente no tipo 1 do que no tipo 2. A idade e duração da doença além do grau de controle metabólico podem influenciar esta situação. Ainda segundo o autor, algumas queixas são mais comuns em pacientes diabéticos como alterações gustativas e xerostomia.

As alterações gustativas têm sido atribuídas à alteração nos receptores de glicose ou às manifestações neuropáticas da diabetes (Bender & Bender 2003). A xerostomia é decorrente do aumento das glândulas parótidas e da diminuição fluxo salivar ocasionando dificuldade em engolir alimentos secos. Esta diminuição do fluxo salivar influencia diretamente na microflora oral (Ficara et al., 1975; Thorstensson et al., 1979) que por sua vez, favorece a predisposição e o desenvolvimento da doença cárie, além de alterações no periodonto (Moore et al., 2001; Herring & Shah 2006; Mealey & Rose 2008; Siudikiene et al., 2008).

Uma prolongada condição hiperglicêmica é o primeiro fator no desenvolvimento das complicações do paciente diabético. A base bioquímica é a formação de uma estrutura quimicamente irreversível denominada AGE (Advanced Glycation End products). Estes componentes derivados de glicose são formados lenta e continuamente em função da concentração de glicose no sangue. Os AGEs se acumulam no plasma e nos tecidos de pacientes diabéticos (Brwonlee, 1992; Schimidt et al., 1996). Os macrófagos têm uma afinidade pelo AGE e geralmente ajudam no turn over tecidual normal ligando-se ao receptor RAGE (receptor advanced glycation endo products) ativando a síntese de TNF- α e IL-1. Quando da síntese e secreção aumentadas, como na hiperglicemia, ocorre degradação tecidual (Vlassara et al., 1988).

Diabetes mellitus é, portanto, uma lesão crônica com sérias consequências debilitantes ao longo de sua evolução e até o momento sem cura. A relação entre a doença bucal e a diabetes tem sido extensivamente estudada, particularmente com

relação à doença periodontal. Os pacientes diabéticos mostram um aumento no risco à infecções em geral e a doença periodontal também é atingida. Nota-se que pacientes diabéticos tipo 2 têm o risco de desenvolvimento de doença periodontal multiplicado por três sem relação com idade, sexo ou higiene bucal (Emrich et al., 1991). Estudos têm mostrado que a doença periodontal é uma das complicações mais prevalentes do paciente diabético (Iacopino, 2001; Soskolne & Klinger, 2001; Taylor, 2001). A progressão clássica da doença periodontal é relacionada ao acúmulo de biofilme e cálculo nas superfícies dentais e fatores de virulência bacteriana causando destruição do tecido periodontal e osso alveolar (Page et al., 1997). Pacientes diabéticos têm resposta contra a infecção bacteriana comprometida participando no aumento do risco ao desenvolvimento da doença periodontal. Por outro lado, a infecção periodontal pode exacerbar a condição diabética (Grossi & Genco, 1998). Alguns estudos demonstrando a associação dos microrganismos com a prevalência e severidade da doença periodontal mostraram que a flora associada com o diabetes não parece diferir de pacientes não diabéticos (Taylor et al., 1996), assim como pacientes que têm um controle do diabetes precário e periodontite simultaneamente mostram aumento na progressão da periodontite.

Tradicionalmente, as complicações do diabetes têm sido atribuídas ao estado hiperglicêmico, que com o tempo, resultam na glicosilação da estrutura das proteinases lipídeos que comprometem a matriz extracelular e o tecido conjuntivo, bem como os tecidos vasculares. Estas mudanças estruturais resultam numa função capilar alterada e pobre profusão sanguínea engatilhando um processo inflamatório sistêmico. A ativação da inflamação resulta na elevação da proteína C-reativa importante para o desenvolvimento da fase aguda da periodontite (Tanet et al., 2004). Estudos mostraram que pacientes diabéticos tem uma tendência à correlação com o grau de controle glicêmico, sugerindo que a doença periodontal pode contribuir para o desbalanceamento metabólico e resultar em intolerância à insulina em pacientes diabéticos tipo 2 (King et al., 2003; Tanet et al., 2004; Streja et al., 2003).

A inflamação tem sido ressaltada como um importante fator na patogênese do diabetes. Embora a lesão periodontal seja um processo inflamatório localizado, um significativo impacto no controle do diabetes pode existir (D'Aiuto et al., 2005; Karima et al., 2005; Kiran et al., 2005; Mealey, 2006; Saito et al., 2006; Talbert et al., 2006). Uma íntima relação entre bolsas profundas e o desenvolvimento de intolerância à glicose já foi relatado (Saito et al., 2006). Por outro lado, condições subclínicas de periodontite crônica, inflamação periodontal aguda e abscesso periodontal agudo ainda não foram bem

relacionados com o diabetes. Pontes Andersen (2006) reportaram a relação entre a inflamação periodontal aguda e resistência à insulina em ratos, e os resultados indicaram que uma periodontite aguda combinada com diabetes causou um aumento de 30% na intolerância à insulina comparado ao grupo diabético sem periodontite.

A correlação entre a diabetes e as infecções endodônticas, em parte, já foram relatadas (Yamasaki et al., 1994; Kohsaka et al., 1996; Armada et al., 2006; Iwava et al., 2006; Catanzaro et al., 2006; Leite et al., 2008).

As lesões periapicais são relacionadas primariamente à cárie dental que propicia a infecção do sistema de canais radiculares. A reação dos tecidos periapicais aos irritantes microbianos oriundos desta infecção gera as diferentes formas de lesão periapical. O tratamento endodôntico constitui elemento decisivo para o restabelecimento da normalidade dos tecidos apicais e periapicais (Katebzadehet al., 2000; Kerekes & Tronstad, 1979; Nakamura, 2004; Holland et al., 2003).

A infecção endodôntica também é muito prevalente na população em geral (Bergstrom et al., 1987; Odesjo et al., 1990; Ainamo et al., 1994; Seppala & Ainamo 1994; Saunders & Saunders, 1998; Palmqvist, 1986; Eriksen & Bjertness, 1991) e causada por fatores microbianos muito semelhantes aqueles observados como etiológicos das doenças periodontais (Fouad, 2003), entretanto, não tem sido cientificamente explorada na mesma magnitude que as doenças periodontais. A literatura atual apresenta alguns artigos que mencionam as infecções endodônticas com um caráter mais agressivo e destrutivo em pacientes diabéticos (Armada et al., 2006; Iwava et al., 2006; Catanzaro et al., 2006; Leite et al., 2008).

Estudos de Armada et al. (2006) demonstraram que os ratos diabéticos são mais significativamente afetados por problemas de origem endodônticas e sugerem uma ligação com a diminuição da capacidade de defesa contra patógenos microbianos. Em estudo semelhante, Iwava et al., (2006) também demonstraram que o grau de severidade das lesões foi maior em ratos diabéticos do que os controle. O trabalho sugere que as circunstâncias metabólicas produzidas pelo tipo diabetes 2 realça o desenvolvimento de lesões periradicular nos ratos. Em trabalho de Catanzaro et. al., 2006 descreveu-se que a diabetes Mellitus descontrolada é um fator de risco para o desenvolvimento de complicações orais atuando como um fator crítico que resulta em alterações de mediadores inflamatórios e modificação nos componentes estruturais da polpa. Acrescenta-se a este fato o relato de Leite et.al., 2008 que declararam que a Diabetes

pode interferir na nutrição dos tecidos e pode prejudicar o metabolismo da polpa dentária, além de provocar estresse oxidativo em células e tecidos.

Modelos animais têm sido utilizados para estabelecer a relação entre diabetes e as infecções bucais. Lesões periapicais induzidas em ratos hiperglicêmicos foram maiores que ratos não diabéticos controle (Kohsaka et al., 1996). Camundongos diabéticos NOD (diabetes tipo 1) mostraram mais lesões periapicais prematuramente quando comparados ao controle (não diabéticos), além disso, os camundongos diabéticos após exposição pulpar mostraram maior perda de peso em relação aos camundongos diabéticos que não tiveram suas polpas dentais expostas ao meio oral, evidenciando aumento da morbidade, entretanto, não se observou diferença na expressão de IL-6 entre os animais diabéticos e não diabéticos (Fouad et al., 2002).

Diferentes métodos podem ser utilizados para se verificar a influência do quadro sistêmico no desenvolvimento da infecção pulpar e da doença periodontal, sendo um deles a avaliação por imagens. A partir da inflamação presente, as lesões pulpares e periodontais levam a perda óssea. Essa perda óssea se apresenta radiograficamente como uma área radiolúcida no local afetado e seu tamanho depende da severidade da lesão, bem como de fatores sistêmicos associados.

A imagem radiográfica é formada por diferentes tons de cinza. Considerando uma escala numérica em que cada tom corresponda a um número (um nível de cinza), quanto mais claro, maior o número na escala. A imagem digital analisa 256 tons de cinza, denominados de densidade radiográfica, podendo com isso avaliar a perda óssea ocasionada pelas infecções e seus fatores coadjuvantes. Neste particular, um dos programas que pode ser empregado para esta avaliação é o Digora (Soredex Orion Corporation; Finland). Baseado no sistema de placa fósforo ativado para captura de imagens e manipulação das mesmas com rapidez de processamento e arquivo de dados, este programa tem sido muito útil para as pesquisas experimentais e clínicas (Oliveira et al., 2011; Borges et al., 2011).

Percebe-se que há uma influência direta da diabetes no desenvolvimento e manutenção da infecção endodôntica e periodontal, entretanto, também de forma escassa, poucos trabalhos se preocuparam em analisar o seu grau de severidade por meio de análise em imagens radiográficas digitais. Desta forma, procuramos desenvolver um estudo que preencha parte das lacunas existentes na literatura atual buscando investigar por meio da avaliação radiográfica digital as alterações periapicais e

periodontais decorrentes da indução e progressão da doença pulpar e periodontal em ratos diabéticos.

II - OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi:

- Avaliar em imagens digitais, por meio da densidade radiográfica, a influência da diabetes no desenvolvimento das infecções pulpar e periodontal em ratos diabéticos.

III - MATERIAL E MÉTODOS

Material

Animais

Foram utilizados 60 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 350g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, quatro ratos por gaiola, alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 24 horas após a intervenção. Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram aprovados pelo comitê de conduta ética no uso de animais em experimentação (CEAE – UEM).

Drogas empregadas

Para anestesia dos animais foi utilizado via intramuscular um sedativo à base de xilazina (Dopaser, Calier S.A. - Barcelona, Espanha – 10mg/Kg) e um anestésico à base de Cloridrato de Ketamina a 5% (Vetanarcol, König S. A. – Avellaneda, Argentina – 25mg/Kg).

Para a indução da diabetes foi utilizado via veia peniana uma dose de 60mg/kg de estreptozotocina (Sigma®).

Sistema de análise por imagens

O aparelho de Raio x empregado foi da marca General Electric (General Electric Company, Milwaukee, Wisconsin, EUA), modelo GE 1000, operando com 65 kVp, 10 mA,

tempo de exposição de 0,2 segundos e distância foco-filme de 50cm. A captação foi feita por meio de um sensor difósforo ativado.

Para avaliação das imagens radiográficas foi empregado à ferramenta específica do software Digora for Windows 1.51 utilizando a densidade radiográfica no método de análise.

Métodos

Indução da diabetes

Na primeira fase do experimento todos os animais foram anestesiados via intramuscular com uma associação do sedativo Dopaser, à base de xilazina (relaxante muscular, analgésico e sedativo), na dosagem de 10mg por Kilograma de peso corporal e o anestésico Vetanarcol, à base de cloridrato de Ketamina a 5% na dosagem de 25mg por Kilograma de peso corporal. Após anestesia, metade dos animais (30 ratos), recebeu uma dose de 60mg/kg de estreptozotocina dissolvida em tampão citrato (0.01 m; pH 4,5), via endovenosa (veia peniana). A outra metade (30 ratos) recebeu também por via endovenosa solução salina (0.15m), com o intuito de promover nestes animais uma indução fictícia. No terceiro dia do experimento, foi realizada a dosagem de glicose sanguínea para confirmação da hiperglicemia. A glicose sanguínea foi determinada utilizando o Accu-Check Advantage II com as fitas glicotestes e por meio de punção na extremidade caudal. Foram selecionados os ratos que obtiverem resultados acima de 250 mg/dL e, este dia, foi considerado o primeiro dia da doença Diabetes. Outros animais foram adicionados ao estudo até que se complete o total de 30 ratos diabéticos.

Indução da infecção pulpar:

Na segunda fase do estudo, 20 ratos (grupos 2 e 5) foram novamente anestesiados e as polpas dos primeiros molares superiores direitos de cada animal foram expostas, empregando-se de uma broca em aço carbono (Broca Ln LongNeck - Maillefer, Dentsply) dotada de uma esfera na extremidade com 0,1mm de diâmetro. Desta forma, todas as exposições pulpares foram padronizadas de acordo com o diâmetro da broca.

Indução da doença periodontal:

Para o desenvolvimento da infecção periodontal, 20 animais (grupos 3 e 6) foram anestesiados com o mesmo protocolo anestésico descrito anteriormente. Após anestesia foi realizada a ligadura ou amarria em torno do colo dentário do segundo molar superior

esquerdo de cada animal. A indução por ligadura foi descrita por Holzhausen et al. (2002) e foi realizada com a colocação de um fio de algodão numero 24, ao redor do segundo molar superior, cujo posicionamento correto das ligaduras foi feito com o auxílio de uma pinça modificada e de um espaçador digital #25 empregado para o afastamento dos dentes, facilitando a passagem do fio. As ligaduras permaneceram por todo o período pós-operatório.

Divisão em grupos:

Os grupos foram formados de acordo com as condições sistêmicas e procedimentos locais de indução das doenças pulpares e periodontais e podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais de acordo com os procedimentos locais e condições sistêmicas dos animais:

		CONDIÇÃO LOCAL			n
		Normal	Doença Pulpar	Doença Periodontal	
CONDIÇÃO SISTÊMICA	Normal	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	30
	Diabético	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	30

Os 60 ratos em estudo foram divididos em 6 grupos experimentais, contendo 10 animais cada assim compostos:

- Grupo 1: ratos controle;
- Grupo 2: ratos portadores de infecção pulpar induzida;
- Grupo 3: ratos portadores de doença periodontal induzida;
- Grupo 4: ratos diabéticos;
- Grupo 5: ratos diabéticos e portadores de infecção pulpar induzida;
- Grupo 6: ratos diabéticos e portadores de doença periodontal induzida;

As infecções pulpares e/ou periodontais foram realizadas no quarto dia seguinte à injeção de estreptozotocina empregada para o desenvolvimento da diabetes.

Sacrifício dos animais

Os ratos foram mortos aos 30 dias pós-operatórios com uma superdose de cloridrato de ketamina (anestésico) que será injetada no coração. Após sacrifício, será

removida toda a pele correspondente à face direita e esquerda do animal e com dois cortes com tesoura, situados no ângulo da boca, será realizada a separação da mandíbula e maxila. Empregando uma lâmina intercambiável nº15, montada em cabo de bisturi, foi realizada uma incisão em profundidade no palato do animal ao nível de plano sagital mediano acompanhando a sutura intermaxilar separando a maxila direita da esquerda. Separadas as maxilas e, empregando-se novamente uma tesoura, foi realizado outro corte de modo a tangenciar a face distal dos molares superiores direitos, possibilitando a obtenção da hemimaxila direita e esquerda contendo os dentes posteriores, objeto do estudo.

Análise Radiográfica:

As hemimaxilas de todos os grupos foram radiografadas empregando o aparelho de raio-x General Electric (General Electric Company, Milwaukee, Wisconsin, EUA), modelo GE 1000 e analisadas usando o software Digora® (Soredex, Orion Corporation, Helsinki, Finlândia), totalizando 60 imagens radiográficas digitais, sendo 10 por grupo (Figura 1 e 2).

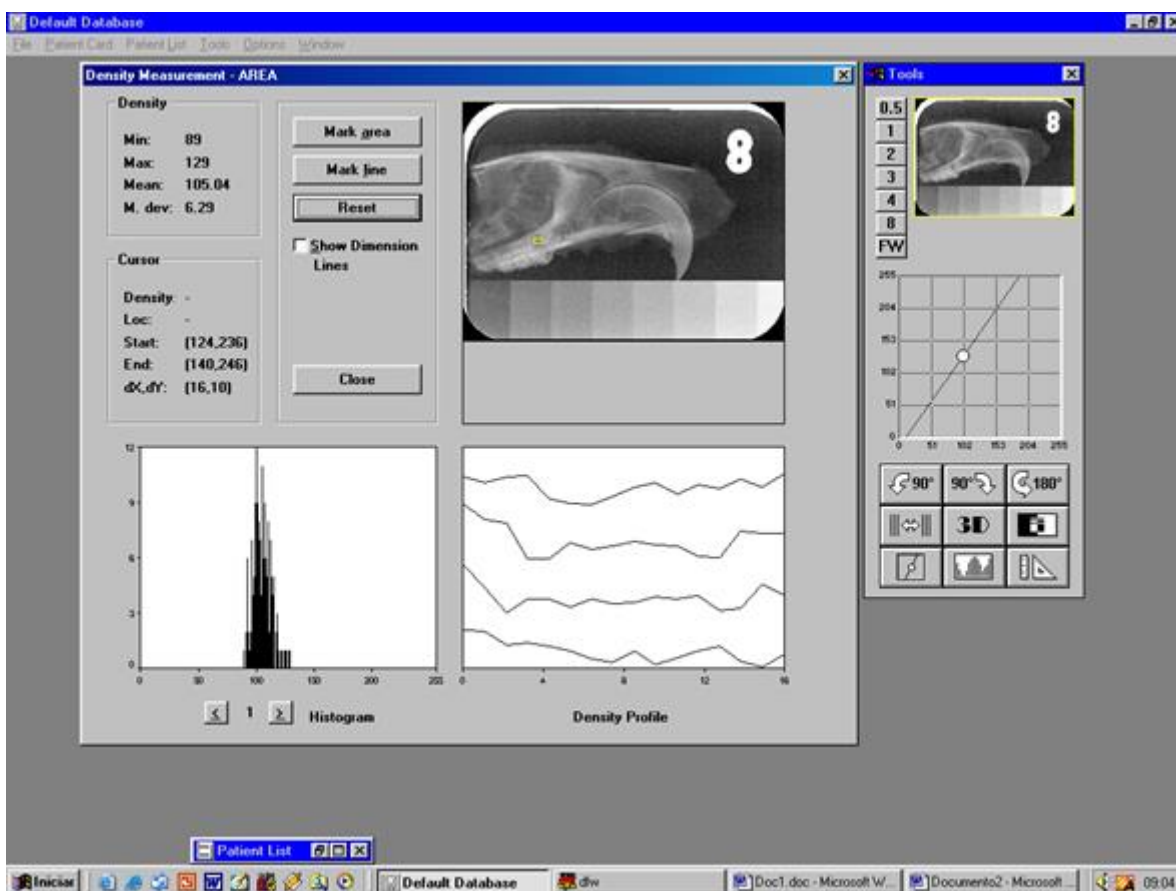


Figura 1 – Mensuração da densidade óptica junto ao periápice dentário empregando e Software Digora®.

Foram realizadas mensurações junto aos tecidos periapicais (Figura 1) e periodontais (figura 2).

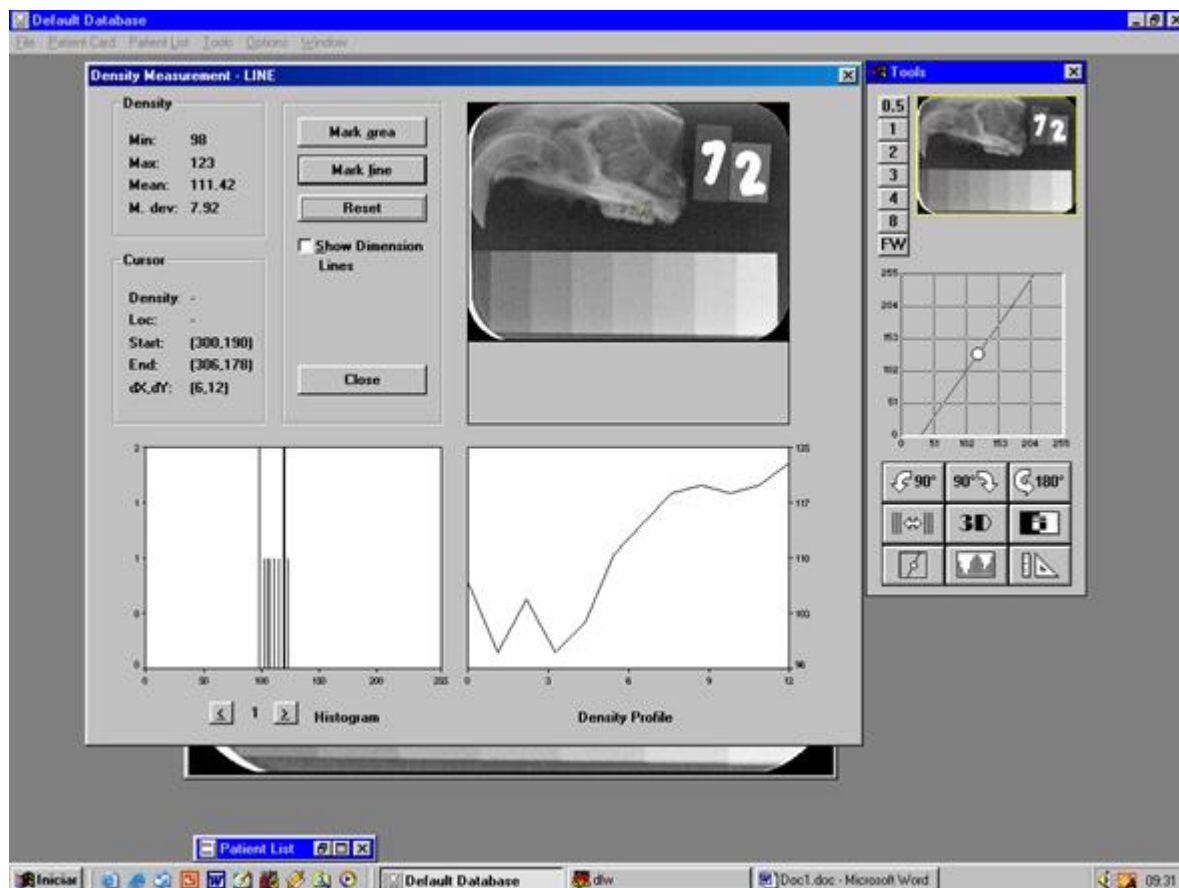


Figura 2 – Mensuração da densidade óptica junto ao periodonto lateral empregando e Software Digora®.

As lesões foram mensuradas por meio da avaliação da densidade óptica (DO), em valores de *pixels*, que foram realizadas de acordo com as especificações do programa de imagem (Digora for Windows5.1) utilizado. Para realizar a leitura foi selecionada uma área quando da mensuração junto ao periápice dentário (Figura 1) no local onde a lesão foi observada e em local correspondente nos ratos controle. Para a lesão periodontal foi realizada a medida linear junto ao periodonto lateral (Figura 2) no local correspondente à perda em altura da crista óssea alveolar e em local semelhante nos ratos controle.

Análise estatística:

Os valores aferidos foram tabulados de acordo com cada grupo experimental e submetidos à análise estatística por meio da análise da variância (ANOVA). Em seguida, foi utilizado o teste de Tukey (Tabela 5 e 6), em nível de significância de 5% ($p < 0,05$), para comparação individual.

IV - RESULTADOS

O nível glicêmico dos animais foi mensurado no primeiro, no terceiro e no último dia do experimento. Esta avaliação objetivou comprovar o estado sistêmico dos animais, evidenciando a efetividade do modelo de indução da diabetes empregado. Assim os resultados desta análise estão expostos na tabela 2.

Table 2 – Médias e desvio padrão (SD) dos níveis glicêmicos (mg/dL) de acordo com o grupo

Group	Níveis glicêmicos (mg/dL) \pm SD*			n
	Dia1	Dia 3	Dia 30	
G1	75.2 \pm 11.2 ^a	104.8 \pm 9.9 ^a	101.3 \pm 10.1 ^a	10
G2	75.0 \pm 10.7 ^a	109.3 \pm 6.9 ^a	96.8 \pm 8.8 ^a	10
G3	76.2 \pm 9.2 ^a	103.5 \pm 12.1 ^a	94.5 \pm 7.9 ^a	10
G4	77.7 \pm 8.8 ^a	328.2 \pm 37.8 ^b	361.8 \pm 42.9 ^b	10
G5	77.4 \pm 10.1 ^a	328.1 \pm 46.1 ^b	364.3 \pm 39.1 ^b	10
G6	78.4 \pm 7.6 ^a	316.9 \pm 38.4 ^b	376.5 \pm 44.7 ^b	10

*Letras iguais não indicam diferença estatística ($p > 0.05$).

Pode-se observar curvas glicêmicas semelhantes nos grupos em que os animais foram submetidos à indução fictícia, comprovando o caráter normoglicêmico dos animais dos grupos 1 a 3. Da mesma forma, observaram-se curvas glicêmicas semelhantes, porém denotando glicemia acima de 250mg/dL para os grupos em que foi realizada a indução da diabetes por meio da injeção de estreptozotocina.

Assim pode-se dizer que todos os animais dos grupos 1 a 3 apresentaram aspectos de normalidade durante todo o tempo experimental. Por outro lado, os animais dos grupos

4 a 6 apresentaram poliúria e polidipsia, além de altos níveis glicêmicos, comprovando a diabetes.

Com relação aos achados radiográficos pode-se observar aspectos de normalidade junto aos tecidos periapicais e periodontais dos animais normoglicêmicos, sem infecção pulpar ou periodontal (Figura 3). O grupo controle com diabetes (Figura 4) denotou aspectos semelhantes ao grupo controle (G1). Os grupos com infecção pulpar e periodontal apresentaram alterações na densidade óssea evidenciando o desenvolvimento da infecção tanto no periápice quanto no periodonto lateral (Figuras 5 e 7, respectivamente). A presença da diabetes intensificou o processo reabsortivo tanto no periápice (Figura 6), para os casos de infecção pulpar, quanto para o periodonto lateral (Figura 8) para os casos de doença periodontal.



Figura 3 - Imagem radiográfica da maxila de rato normoglicêmico, sem infecção (G1)



Figura 4 - Imagem radiográfica da maxila de rato diabético, sem infecção (G4)



Figura 5 - Imagem radiográfica da maxila de rato normoglicêmico com infecção pulpar (G2)



Figura 6 - Imagem radiográfica da maxila de rato diabético, com infecção pulpar (G5)



Figura 7 - Imagem radiográfica da maxila de um rato normoglicêmico, com lesão periodontal (G3)



Figura 8 - Imagem radiográfica da maxila de um rato diabético, com lesão periodontal (G6)

A Tabela 3 fornece os dados da Densidade Ótica Positiva do periápice e periodonto, nos 60 ratos submetidos à análise, contendo os valores da Densidade mínima, Densidade Máxima e suas respectivas médias e desvio padrão.

Tabela 3 – Valores das Densidades Óticas Positivas mensuradas no periápice e periodonto de ratos.

DENSIDADES ÓTICAS POSITIVAS									
Grupo	Rato	Periápice				Periodonto			
		Min+	Max+	Med+	Dp+	Min+	Max+	Med+	Dp+
1	1	105	148	131,5	5,7	123	151	136,4	7,5
	2	101	153	129,5	9,6	122	142	133,7	5,1
	3	114	155	140,5	6,9	123	155	141,3	6,6
	4	119	159	145,7	7,2	137	153	147,8	4,6
	5	118	153	137,9	5,6	133	161	152	7,5
	6	135	164	147,9	5	137	164	151,4	5,7
	7	123	155	140,8	5,2	136	153	140,4	4
	8	131	167	151,7	6,6	152	167	157	3,5
	9	103	153	124,9	6,2	108	145	132	12,2
	10	131	150	140,4	3,6	131	149	141,7	4,8
2	11	88	124	104,2	6,7	0	0	0	0
	12	87	130	105,9	8,3	0	0	0	0
	13	99	126	110,6	5,4	0	0	0	0
	14	109	132	120	5,8	0	0	0	0
	15	106	134	118,7	5	0	0	0	0
	16	93	133	111,4	8	0	0	0	0
	17	101	132	117	7,3	0	0	0	0
	18	104	120	111	3,3	0	0	0	0
	19	104	133	116	5	0	0	0	0
	20	96	121	110	4,5	0	0	0	0
3	21	0	0	0	0	121	150	135	7,8
	22	0	0	0	0	118	145	129,7	6,7
	23	0	0	0	0	111	134	121	5,4
	24	0	0	0	0	110	142	121	7,6
	25	0	0	0	0	105	154	129	14,3
	26	0	0	0	0	93	141	112	15
	27	0	0	0	0	98	123	115	5
	28	0	0	0	0	111	126	119	3,6
	29	0	0	0	0	100	152	126	15
	30	0	0	0	0	112	139	124	9,1
4	31	116	135	124,1	3,5	144	158	151,2	3,4
	32	99	120	109	3,6	148	166	158	5,9
	33	101	132	114	6,5	127	153	144,1	5,9
	34	114	172	148,6	9,8	111	124	117	4,7
	35	114	177	143	10,1	107	125	116	5,5
	36	123	167	144,2	9,5	129	173	154,3	11,4

	37	91	129	107	7,7	139	158	145,4	4,1
	38	113	147	129	5,9	86	115	99	8,2
	39	135	164	147,9	5	137	164	151,4	5,7
	40	119	159	145,7	7,2	137	153	147,8	4,6
5	41	82	115	94,7	6,1	0	0	0	0
	42	80	114	98,7	4,8	0	0	0	0
	43	89	129	105	6,5	0	0	0	0
	44	85	114	99,6	4,8	0	0	0	0
	45	75	111	92,8	7,2	0	0	0	0
	46	72	112	87,2	5,9	0	0	0	0
	47	76	111	90,5	6,3	0	0	0	0
	48	85	112	96,6	5,1	0	0	0	0
	49	78	109	89,9	5,3	0	0	0	0
	50	72	112	87,2	5,9	0	0	0	0
6	51	0	0	0	0	68	130	95,2	12
	52	0	0	0	0	92	116	104	5,1
	53	0	0	0	0	85	105	96,2	5,3
	54	0	0	0	0	83	103	92	4,1
	55	0	0	0	0	78	109	94	7
	56	0	0	0	0	76	104	87,1	8,5
	57	0	0	0	0	75	104	88,9	9,6
	58	0	0	0	0	121	139	126	3,9
	59	0	0	0	0	106	129	121	6,3
	60	0	0	0	0	82	129	111	16

A Tabela 4 fornece os dados da Densidade Ótica Negativa, feita nos mesmos padrões de análise da tabela 3, evidenciando coerência nos resultados.

Tabela 4 – Valores das Densidades Óticas Negativas mensuradas no periápice e periodonto de ratos

DENSIDADES ÓTICAS NEGATIVAS									
Grupo	Rato	Periápice				Periodonto			
		Min-	Max-	Med-	Dp-	Min-	Max-	Med-	Dp-
1	1	108	147	122,8	5,7	112	128	120,7	4
	2	102	143	121,3	6,1	116	136	121,6	4,4
	3	94	143	114,4	11,3	96	112	105,9	4,2
	4	96	116	105	3,7	86	103	96,1	4,1
	5	102	132	114,9	4,6	100	136	124	9,8
	6	91	120	106,1	4,7	96	115	104,1	4,3
	7	98	127	110,2	4,6	100	119	109,1	5,9
	8	92	136	109,7	9,5	95	129	112,8	9,3
	9	119	139	128,2	4,4	119	127	122,1	1,9
	10	104	132	117,12	4,3	104	131	117	5,5

2	11	131	167	152,9	6,4	0	0	0	0
	12	140	171	155,5	5,5	0	0	0	0
	13	129	156	143,9	5,2	0	0	0	0
	14	123	146	134,9	5,5	0	0	0	0
	15	121	149	137,7	4,2	0	0	0	0
	16	135	162	149	5,5	0	0	0	0
	17	133	150	142	3,9	0	0	0	0
	18	129	152	142	4,5	0	0	0	0
	19	121	161	139	5,6	0	0	0	0
	20	135	155	144	4,8	0	0	0	0
3	21	0	0	0	0	119	157	141	12
	22	0	0	0	0	105	118	110,9	3
	23	0	0	0	0	137	147	143	2,7
	24	0	0	0	0	120	157	140	12
	25	0	0	0	0	102	133	114	7
	26	0	0	0	0	114	153	133	13
	27	0	0	0	0	132	143	137	2,7
	28	0	0	0	0	124	146	135	6,1
	29	0	0	0	0	103	155	138	15
	30	0	0	0	0	119	153	139	10
4	31	123	142	132,2	4	91	109	97,8	4,2
	32	135	151	141	4,3	94	117	104,2	5,8
	33	140	154	148	2,9	99	128	109,6	6,6
	34	89	117	105,6	5,71	133	144	140	3,1
	35	99	141	120,25	7,1	131	148	143	3,9
	36	98	128	111,7	5,1	90	107	98,4	4,1
	37	143	165	153	3,7	82	130	102	9
	38	108	140	123	5,4	140	173	155,3	8,6
	39	91	120	106,1	4,7	96	115	104,1	4,3
	40	96	116	105	3,7	86	103	96,1	4,1
5	41	138	173	157	7,3	0	0	0	0
	42	141	175	155	5,2	0	0	0	0
	43	127	164	147	6,2	0	0	0	0
	44	139	170	155	4,9	0	0	0	0
	45	132	180	163,6	6,6	0	0	0	0
	46	160	183	170,8	4,4	0	0	0	0
	47	144	179	164,5	6,4	0	0	0	0
	48	138	170	156,6	6	0	0	0	0
	49	144	177	164,9	5,3	0	0	0	0
	50	160	183	170,8	4,4	0	0	0	0
6	51	0	0	0	0	139	187	165	7,3
	52	0	0	0	0	143	153	147	2,7
	53	0	0	0	0	160	179	171	6
	54	0	0	0	0	155	171	163	4
	55	0	0	0	0	153	180	160	6,6
	56	0	0	0	0	151	189	167,9	8,9
	57	0	0	0	0	151	180	166,1	9,6
	58	0	0	0	0	105	131	124	7,4
	59	0	0	0	0	120	138	129,9	4,3

60	0	0	0	0	129	176	152	15,4
----	---	---	---	---	-----	-----	-----	------

A partir dos resultados individuais foi possível realizar a análise estatística para a infecção pulpar (Tabela 5) e para a infecção periodontal (Tabela 6). As médias e desvio padrão para todos os grupos estão apresentados nas Tabelas 5 e 6:

Tabela 5 - Médias e desvio padrão dos valores obtidos junto ao periápice dentário

Grupo	Média	Desvio Padrão	N. de Valores
G1	139,0800	8,42810114	10
G2	112,4800	5,30153018	10
G4	131,2500	16,7653246	10
G5	94,22000	5,81373852	10

Tabela 6 – Médias e desvio padrão dos valores obtidos junto ao periodonto lateral

Grupo	Média	Desvio Padrão	N. de Valores
G1	143,3700	8,37735705	10
G3	123,1700	7,02061251	10
G4	138,4200	20,1431984	10
G6	101,6400	13,4701480	10

Foram realizadas as seguintes comparações entre grupos:

1 – Comparação entre os grupos de ratos normoglicêmicos, diabéticos, portadores de lesão periapical induzida ou não (G1 x G2 x G4 x G5); (Tabela 7)

Tabela 7 – Comparação pelo teste de Tukey para os grupos G1, G2, G4 e G5

	G1	G2	G4	G5
G1		X		X
G2			X	X
G4				X
G5				

Observaram-se diferenças esperadas entre o grupo controle e diabético sem infecções contra os grupos portadores de infecções pulpares (G1xG2, G1xG5 e G4xG2, G4xG5). Além disso, pode-se observar que a presença da diabetes intensificou o

processo destrutivo na região periapical de forma significativa, que pode ser comprovado pela Densidade Ótica (G2xG5) ($p = 0,001445$).

2 – Comparação entre os grupos de ratos normoglicêmicos, diabéticos, portadores de lesão periodontal induzida ou não (G1 x G3 x G4 x G6); (Tabela 8)

Tabela 8 – Comparação pelo teste de Tukey para os grupos G1, G3, G4 e G6

	G1	G3	G4	G6
G1		X		X
G3			X	X
G4				X
G6				

Observou-se também, diferenças esperadas entre o grupo controle e diabético sem infecções contra os portadores de infecções periodontais (G1xG3, G1xG6 e G4xG3, G4xG6). Também de forma semelhante à comparação realizada com os grupos de infecção pulpar, pode-se observar que a presença da diabetes intensificou o processo destrutivo na região do periodonto lateral de forma significativa, que pode ser comprovado pela Densidade Ótica (G3xG6) ($p = 0,009137$).

V-DISSCUSSÃO

Dentre as manifestações orais da diabetes, destacam-se a ocorrência e aumento da severidade da doença periodontal crônica, aumento da predisposição a infecções, abscessos periodontais (Löe, 1993; Nishimura, 1998; Lalla *et al.*, 2000), como também aumento de alterações pulpares e predisposição à cárie (Leite *et al.*, 2008). Esta pesquisa avaliou, através de imagens digitais, as alterações na densidade óssea maxilar decorrentes da indução e progressão da doença pulpar e periodontal em ratos diabéticos.

Foram utilizados ratos Wistar, pela similaridade anatômica dos tecidos periapicais e periodontais em relação aos humanos. Nestes animais, as estruturas identificadas, tais como o complexo dentinho pulpar, os epitélios gengival oral, sulcular e juncional, as fibras colágenas do ligamento periodontal, o cemento celular e acelular e o osso alveolar, do ponto de vista histológico são semelhantes (Page & Schroeder, 1982). Assim a imagem radiográfica obtida das regiões de interesse também pode ser correlacionada com os estudos em humanos.

Ainda com relação à estrutura dos tecidos dentários, de sustentação e suporte dos ratos Wistar, as dimensões de cada estrutura diferem dos humanos, no entanto os grupos controle permitem identificar a degradação e destruição tecidual dos grupos experimentais em proporções relativas às originais.

Mais uma característica do modelo utilizado é que o periodonto dos ratos, devido a uma perda óssea fisiológica ou pela própria indução da doença periodontal, pode apresentar-se reduzido (Klausen, 1991). Além dos grupos controle, foram utilizados ratos com a mesma idade e peso inicial similar para isolar esta variável.

Quanto ao método de indução da diabetes considera-se o tipo de droga, a dosagem e a via de administração. A droga de escolha foi a estreptozotocina por ser segura e utilizada em inúmeras experimentações com índice de sucesso alto no percentual de indução (Leite *et al.*, 2008; Garber *et al.*, 2009; Kador *et al.*, 2011).

A estreptozotocina é utilizada para a indução da diabetes experimental há muito tempo e ainda é alvo de discussão seu mecanismo de ação tóxico sobre as células do pâncreas. Em 1960, Herr *et al.*, isolaram e caracterizaram a estreptozotocina como um antimicrobiano de largo espectro a partir de colônias de *Streptomyces achromogenes*. (Herr *et al.*, 1960). Mais tarde, após três anos, Rakieten *et al.*, estabeleceram que 50mg/kg de estreptozotocina via endovenosa produzia diabetes mellitus em ratos e cães (Rakieten *et al.*, 1963).

Um detalhe a ser observado é a via de administração, devido à sua influencia na quantidade da droga necessária para provocar as alterações endócrinas e desenvolver o quadro da diabetes (Delfino *et al.*, 2002). A via endovenosa, possui a dosagem recomendada de 60mg/kg (Catanzaro *et al.*, 2006; Leite *et al.*, 2008), já via intraperitoneal é de 70mg/kg (Garber *et al.*, 2009). No presente experimento foi empregada a injeção via veia peniana, possibilitando uma redução na quantidade da droga e diminuindo os efeitos colaterais. Sendo assim, pode-se afirmar que a administração da estreptozotocina na dosagem de 60mg/kg via endovenosa em ratos Wistar, acarretou alterações endócrinas elevando o nível glicêmico dos animais acima de 250mg/dl, podendo representar o modelo da diabetes em murinos.

Quanto ao método de indução da infecção pulpar, constatou-se que o método utilizado produziu semelhantes alterações entre os espécimes de um mesmo grupo, aspecto que denota o sucesso da indução e a confiabilidade de poder ser empregada em pesquisas que envolvam os tecidos do endodonto, assim como demonstrado em outros estudos (Iwama *et al.*, 2003, 2006; Armada-Dias *et al.*, 2006).

O método utilizado para a indução da doença periodontal, foi baseado no estudo de Holzhausen e colaboradores (Holzhausen *et al.*, 2002). Observou-se em todos os espécimes do mesmo grupo padrão semelhante do perfil da doença periodontal evidenciando a confiança no método empregado para o estudo dos tecidos periodontais, assim como demonstrado em outros experimentos (Lui *et al.*, 2006; Bezerra *et al.*, 2008; Gomes *et al.*, 2009).

Quanto ao método radiográfico empregado, os sistemas radiográficos digitais intra-orais apresentam várias vantagens em comparação aos filmes radiográficos convencionais. Fatores como a menor exposição do paciente à radiação devem ser levados em consideração, visto o efeito da radiação acumulativa em exames de controle intensivo. Além disso, a obtenção de uma imagem mais rápida, mais nítida e obtida de forma digital são vantagens a serem ressaltadas.

A avaliação por ferramentas digitais empregando o valor de pixel representa maior segurança na leitura dos resultados e no fornecimento de dados para a análise estatística (Balto *et al.*, 2000; Grecca *et al.*, 2001; Schmitd *et al.*, 2008). A avaliação da perda óssea periapical mensurado por área e da crista óssea alveolar mensurado por linha, são métodos comumente empregados na mensuração de dados desta natureza (Kohsaka *et al.*, 1996,).

Radiografias nem sempre refletem a extensão do processo destrutivo nos tecidos periapicais e, geralmente, sub-representam o tamanho de uma lesão. Estudos têm sugerido que o envolvimento patológico da tábua cortical, ou pelo menos das trabéculas ósseas, é um pré-requisito para a detecção radiográfica de patologias periapicais (Farman *et al.*, 1998;). No entanto, lesões periapicais confinadas ao osso esponjoso poderiam ser detectadas radiograficamente usando os valores de pixel, uma das ferramentas da imagem digital, ou histograma. Marmary *et al.*, 1999; Grecca *et al.*, 2001).

A captura através das placas possui a vantagem de apresentar menos ruído e uma imagem de melhor qualidade do que os outros sistemas diretos, além de ser mais sensível a pequenas variações da fonte de exposição em comparação com os filmes convencionais, e deve ser usado quando pequenas diferenças de contraste são importantes. (Hildebold *et al.*, 1997, Kashima *et al.*, 1995). As imagens obtidas foram baixadas após a tomada radiográfica, já que o tempo entre o momento em que se realiza a tomada radiográfica e o momento em que elas são baixadas também exerce influência nos valores de pixel (Borg *et al.*, 2000; Freitas *et al.*, 2006).

A severidade e progressão da doença periodontal têm sido demonstrada em maior aumento em indivíduos diabéticos (Cianciola *et al* 1982). De forma semelhante a literatura demonstra que as doenças pulpares de forma geral podem ser agravadas pelo quadro da diabetes (Fouad *et al.*, 2002, 2003; Iwama *et al.*, 2003, 2006; Armada-Dias *et al.*, 2006; de Almeida *et al.*, 2008). Curiosamente, muito poucos estudos investigaram a possível associação entre ambas as formas de diabetes e infecções dentárias de origem pulpar e periodontal (Falk *et al*, 1989). Um estudo anterior confirmou radiograficamente a presença e intensidade da reabsorção óssea observada também pelo estudo histológico, na região do primeiro molar mandibular onde foi induzida a lesão periapical, entretanto, não foi verificado este perfil no modelo da diabetes (Teixeira *et al* 2010).

Comparando os grupos 1 e 4, ou seja ratos normais contra diabéticos, sem infecção, pôde-se observar que a diabetes por si só não produziu alterações no periodonto de sustentação ou no periápice dentário até o período de observação de 30 dias. Por outro lado, outros estudos avaliaram as alterações morfológicas do tecido gengival em função da presença da diabetes em ratos, cujos grupos avaliados se assemelham aos grupos 1 e 4 do presente estudo (Claudino *et al.*, 2007; Tesseromatis *et al.*, 2009). Estes estudos demonstraram alterações inflamatórias e vasculares significativas junto ao tecido gengival nos ratos diabéticos. Apesar de uma análise diferente, nossos resultados não evidenciaram qualquer alteração no periodonto. Deve-se acrescentar que nestes estudos foram utilizados maiores períodos de observação. Acredita-se que o período de observação influencie diretamente no aparecimento de tais alterações. No presente estudo a observação foi em 30 dias, enquanto outros estudos acompanharam de 90 até 360 dias após a indução (Claudino *et al.*, 2007; Tesseromatis *et al.*, 2009).

Com relação aos grupos portadores de infecção pulpar, com conseqüente lesão periapical, pode-se observar que a diabetes intensificou o processo destrutivo junto ao periápice dentário. Estudos de Kohsaka 1996, onde foi usado metodologia semelhante porém análise no primeiro molar mandibular, a inflamação no ligamento periodontal apical e reabsorção radicular e reabsorção óssea alveolar foram mais severas do que nos ratos controle. Este estudo também revelou histometricamente que, em ratos experimentais, lesões na área periapical foram significativamente maiores do que aqueles em ratos de controle. No estudo de Armada Dias, 2006 a análise radiográfica também revelou que os ratos diabéticos apresentavam lesões perirradiculares significativamente maior quando em comparação com ratos normais, independentemente do período experimental.

De forma semelhante à comparação entre os grupos portadores de infecção periapical, a correlação entre os grupos de ratos portadores de lesão periodontal com e sem diabetes também denotou exacerbação do processo destrutivo junto ao periodonto lateral.

VI - CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que:

- ✓ A diabetes não produziu alterações significativas em imagens radiográficas digitais, junto aos tecidos periapicais e periodontais de animais sem infecções orais, até o período de 30 dias;
- ✓ A presença da diabetes intensificou a perda da densidade óssea periapical em animais portadores de infecção pulpar;
- ✓ A presença da diabetes intensificou a perda da densidade óssea periodontal em animais portadores de doença periodontal.

IV - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ainamo A, Soikkonen K, Wolf J, et al. Dental radiographic findings in the elderly in Helsinki, Finland. *Acta Odontol Scand* 1994; 52:243-9.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2004; 27 Suppl1:S5-S10.
3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*. 2006; 29 Suppl1:S4-S36
4. Armada-Dias L, Breda J, Provenzano JC, Breitenbach M, Rôças IN, Gahyva SM, Siqueira Junior JF. Development of periradicular lesions in normal and diabetic rats. *J Appl Oral Sci*. 2006; 14(5):371-5.
5. Balto K, Müller R, Carrington DC, Dobeck J, Stashenko P. Quantification of periapical bone destruction in mice by microcomputed tomography. *J Dent Res*. 2000;79:35-40.
6. Bender IB, Bender AB. Diabetes mellitus and the dental pulp. *J Endod* 2003; 29(6):383-9.
7. Bergstrom J, Eliasson S, Ahlberg KF. Periapical status in subjects with regular dental care habits. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15:236-9.
8. Borg E, Attaelmanan A, Gröndahl HG. Image plate systems differ in physical performance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000 ;89:118-24.
9. Borges AH, Pedro FL, Semanoff-Segundo A, Miranda CE, Pécora JD, Cruz Filho AM. Radiopacity evaluation of Portland and MTA-based cements by digital radiographic system. *J Appl Oral Sci*. 2011 Jun;19(3):228-32.
10. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 15(12):1835-43.
11. Catanzaro O, Dziubecki D, LauriaLC, Ceron CM, Rodriguez RR. Diabetes and its effects on dental pulp. *J Oral Sci*. 2006; 48(4):195-9.
12. EmrichLJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1991; 62(2):123-31.
13. Eriksen HM, Bjertness E. Prevalence of apical periodontitis and results of endodontic treatment in middle-aged adults in Norway. *Endod Dent Traumatol*

1991; 7:1-4.

14. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20(7):1183-97.
15. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26:3160-7.
16. Farman AG, Avant SL, Scarfe WC, Farman TT, Green DB. In vivo comparison of Visualix-2 and Ektaspeed Plus in the assessment of periradicular lesion dimensions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85:203-9.
17. Farrier SL, Drage NA, Newcombe RG, Hayes SJ, Dummer PM. A comparative study of image quality and radiation exposure for dental radiographs produced using a charge-coupled device and a phosphor plate system. *IntEndod J.* 2009;42:900-7.
18. Ficara AJ, Levin MP, Grower MF, Kramer GD. A comparison of the glucose and protein content of gingival fluid from diabetics and non diabetics. *J Periodontal Res* 1975; 10:171-5.
19. Fouad AF. Diabetes mellitus as a modulating factor of endodontic infections. *J Dent Educ.* 2003; 67(4):459-67.
20. Freitas P, Yaedú RY, Rubira-Bullen IR, Escarpinati M, Vieira MC, Schiabel H, et al. Reproducibility of pixel values for two photostimulable phosphor plates in consecutive standardized scannings. *Braz Oral Res.* 2006;20:207-13.
21. Grecca FS, Leonardo MR, Silva LA, Tanomaru Filho M, Borges MA. Radiographic evaluation of periradicular repair after endodontic treatment of dog's teeth with induced periradicular periodontitis. *J Endod.* 2001;27:610-2.
22. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol.* 1998; 3(1):51-61.
23. Guyton, A.C. *Fisiologia médica.* 10ª ed. Guanabara Coogan, 2002.
24. Herring ME, Shah SK. Periodontal disease and control of diabetes mellitus. *J Am Osteopath Assoc.* 2006; 106(7):416-21.

25. Hildebolt CF, Fletcher G, Yokoyama-Crothers N, Conover GL, Vannier MW. A comparison of the response of storage phosphor and film radiography to small variations in X-ray exposure. *Dentomaxillo fac Radiol.* 1997;26:147-51.
26. Holland R, Otoboni Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PF, Dezan E Jr. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. *J Endod.* 2003; 29(2):121-4.
27. Holzhausen M, Rossa Júnior C, Marcantonio Júnior E, Nassar PO, Spolidório DM, Spolidório LC. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 2002; 73(9):1030-6.
28. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. *Ann Periodontol* 2001; 6(1):125-37.
29. Kashima I. Computed radiography with photostimulable phosphor in oral and maxillofacial radiology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;80:577-98.
30. Katebzadeh N, Sigurdsson A, Trope M. Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root canals: an in vivo study. *IntEndod J* 2000; 33(1):60-6.
31. King DE, Mainous AG 3rd, Buchanan TA, Pearson WS. C-reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(5):1535-9.
32. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21:1414-1431.
33. Kohsaka T, Kumazawa M, Yamasaki M, Nakamura H. Periapical lesions in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Endod.* 1996 Aug;22(8):418-21.
34. Lalla E, Lamster IB, Stern DM, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities. *Ann Periodontol* 2001; 6(1):113-8.
35. Leite MF, Ganzerla E, Marques MM, Nicolau J. Diabetes induces metabolic alterations in dental pulp. *J Endod* 2008; 34(10):1211-4.

36. Marmary Y, Koter T, Heling I. The effect of periapical rarefying osteitis on cortical and cancellous bone. A study comparing conventional radiographs with computed tomography. *Dentomaxillofac Radiol.* 1999;28:267-71.
37. Mealey BL, Oates TW. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol* 2006; 77(8):1289-1303.
38. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent.* 2008; 29(7):402-8, 410, 412-3.
39. Moore PA, Guggenheimer J, Etzel KR, Weyant RJ, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92:281-91.
40. Nakamura H. Success rate of endodontic treatment of teeth with vital and non vital pulps. A meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(1):95-9.
41. Odesjo B, Hellden L, Salonen L, Langeland K. Prevalence of previous endodontic treatment, technical standard and occurrence of periapical lesions in a randomly selected adult, general population. *Endod Dent Traumatol* 1990; 6:265-72.
42. Offenbacher S. Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996; 1(1):821-78.
43. Oliveira ML, Ambrosano GM, Almeida SM, Haiter-Neto F, Tosoni GM. Efficacy of several digital radiographic imaging systems for laboratory determination of endodontic file length. *Int Endod J.* 2011 May;44(5):469-73.
44. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000 1997; 14:216-48.
45. Palmqvist S. Oral health patterns in a Swedish county population aged 65 and above. *Swed Dent J Suppl* 1986; 32:1-87.
46. Rubira-Bullenl RF, Escarpinati MC, Schiabel H, Vieira MAC, Rubira CMF, Lauris JRP. Evaluating noise in digitized radiographic images by means of histogram. *J Appl Oral Sci.* 2006;14:410-4.
47. Saunders WP, Saunders EM. Prevalence of periradicular periodontitis associated with crowned teeth in an adult Scottish subpopulation. *Br Dent J* 1998; 185:137-40.

48. Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R, Brett JG, Lamster IB. Advanced glycation end products (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. *J Periodontol Res.* 1996; 31(7):508-15.
49. Schmitd LB, Lima TC, Chinellato LEM, Bramante CM, Garcia RB, Moraes IG, et al. Comparison of radiographic measurements obtained with conventional and indirect digital imaging during endodontic treatment. *J Appl Oral Sci.* 2008;16:167-70
50. Seppala B, Ainamo J. A site-by-site follow-up study on the effect of controlled versus poorly controlled insulindependent diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1994; 21:161-5.
51. Siudikiene J, Machiulskiene V, Nyvad B, Tenovuo J, Nedzelskiene I. Dental caries increments and related factors in children with type 1 diabetes mellitus. *Caries Res* 2008; 42(5):354-62.
52. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol* 2001; 6(1):91-8.
53. Streja D, Cressey P, Rabkin SW. Associations between inflammatory markers, traditional risk factors, and complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2003; 17(3):120-7.
54. Tan KC, Chow WS, Tam S, Bucala R, Betteridge J. Association between acute-phase reactants and advanced glycation end products in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27(1):223-8.
55. Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1996; 67(10 Suppl):1085-93.
56. Taylor GW. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal diseases: an epidemiologic perspective. *Ann Periodontol* 2001; 6(1):99-112.
57. Teixeira RC, Rubira CMF, Assis GF, Lauris JRP, Cestari TM, Rubira-Bullen IRF. Radiological and histopathological evaluation of experimentally-induced periapical lesion in rats. *J Appl Oral Sci.* 2011 Oct;19(5):500-4.
58. Thorstensson J, Falk H, Hugoson A, Olsson J. Some salivary factors in insulin-dependent diabetics. *Acta Odont Scand* 1989; 47:175-83

59. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science*. 1988; 240(4858):1546-8.
60. Yamasaki M, Kumazawa M, Kohsaka T, Nakamura H, Kameyama Y. Pulpal and periapical tissue reactions after experimental pulpal exposure in rats. *J Endod*. 1994 Jan;20(1):13-7.