

**Thamiris Tieni Pereira**

**Efeito da infecção pulpar e periodontal na glicemia  
de ratos Wistar.**

**Araçatuba - SP**

**2012**

**Thamiris Tieni Pereira**

**Efeito da infecção pulpar e periodontal na glicemia de ratos Wistar.**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Cirurgião Dentista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra

Coorientador: Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho

**Araçatuba - SP**

**2012**

## **Dedicatória**

A memória do meu pai José Roberto Pereira que não terá a oportunidade de viver este momento. À minha mãe, Tânia, que em nenhum momento mediu esforços para realização dos meus sonhos, por todo apoio ao longo desses seis anos, pela compreensão, por me ensinar a fazer as melhores escolhas e principalmente a ter determinação e vontade de lutar pelo que almejo. A ela devo a pessoa que me tornei.

## **Agradecimentos**

À minha mãe Tânia pelos inumeros sacrifícios que fez, mesmo sozinha, em razão da minha educação e dos meus irmãos. Serei eternamente grata.

Aos meus irmãos queridos, Thiago e Thales, pelo carinho e compreensão.

À minha avó Diva, minha segunda mãe, que durante estes anos de faculdade se preocupou muito comigo, com o meu bem estar físico e mental, além de demonstrar seu carinho e amor em todos os instantes.

Aos meus amigos de longe, Naiara, Lucian e Jaqueline pelo amor , cumplicidade, ajuda e amizade. À Na também por todas as horas de nossas conversas pelo msn dividindo tristezas, alegrias e realizações, saiba que foram muito importantes para mim.

À minha amiga de infancia e eterna “irmã” Annelise por ser uma verdadeira amiga e companheira em todas as horas.

Aos amigos que fiz nessa maravilhosa fase da vida, Simoni, Jéssica, Bruna, Larissa, Simone, Natália, Juliano, Eduardo, Davi por toda partilha e amizade, propiciando muitos momentos de alegrias.

À meu namorado Rames por sempre ter estado ao meu lado com muito carinho, apoio e compreensão.

A todos da moradia, ressaltando as meninas que tive o prazer de dividir casa.

Ao querido professor e orientador Luciano Tavares Ângelo Cintra por toda dedicação e atenção depositadas neste trabalho, pelos ensinamentos, por todo conteúdo científico e prático que foram de fundamental importância para elaboração e conclusão deste.

Ao querido professor e amigo Mauro Juvenal Nery, pelo carinho, atenção e principalmente por fazer todos os momentos se tornarem agradáveis, até aqueles mais estressantes de

trabalho, além de ser esse exemplo de ser humano. O espaço é pequeno para todos os agradecimentos a ti.

A todos os integrantes do Grupo PET, em especial ao Tutor Eloi Dezan por seus ensinamentos.

A todos os professores e técnicos da Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

Quero agradecer também a todos os colegas de turma, especialmente aos meus amigos e duplas Laís, Claudiel, Danilo, Thiago, Simone e Valéria. Foi bom conviver com vocês!

A todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para esta formação que se torna mais uma vitória em minha vida.

Muito obrigada!

## **Epígrafe**

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.*

Fernando Sabino.

PEREIRA, TT. **Efeito da infecção pulpar e periodontal na glicemia de ratos Wistar.** 2012. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a inter-relação entre as doenças pulpar e/ou periodontal e a doença sistêmica diabetes, por meio do monitoramento glicêmico. Foram utilizados 80 ratos da linhagem Wistar divididos aleatoriamente em 8 grupos de 10 animais: G1 – ratos saudáveis; G2 – ratos com doença pulpar; G3 – ratos com doença periodontal; G4 – ratos com doença pulpar e periodontal; G5 – ratos diabéticos; G6 – ratos diabéticos com doença pulpar; G7 – ratos diabéticos com doença periodontal; G8 – ratos diabéticos com doença pulpar e periodontal. A diabetes foi induzida pela aplicação de estreptozotocina, a infecção pulpar pela exposição da polpa dentária ao meio oral e a doença periodontal pela confecção de amarras junto ao colo dentário. Os animais foram monitorados por avaliação glicêmica durante todo o período experimental e sacrificados após 30 dias. Pôde-se observar que em todos os grupos de ratos não diabéticos as curvas glicêmicas foram semelhantes. Entretanto, qualquer associação da doença local foi suficiente para elevar ainda mais o nível glicêmico dos animais diabéticos. Pôde-se concluir que a doença pulpar isolada não influencia de forma significativa na glicemia de ratos diabéticos, porém a doença periodontal isolada ou associada com a doença pulpar influencia os níveis glicêmicos de ratos diabéticos.

**Palavras-Chave:** Diabetes. Doença pulpar. Doença periodontal.

PEREIRA, TT. **Effect of pulp and periodontal infection in glucose in Wistar mice.** 2012. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

### **Abstract**

The objective of this work was to evaluate the interrelationship between pulp and/or periodontal diseases and diabetes systemic disease by glycemetic monitoring. 80 mice of the Wistar family were used and divided into 8 groups of 10 animals: G1 – healthy mice; G2 – Pulp disease affected mice; G3 – periodontal disease affected mice; G4 – pulp and periodontal diseases affected mice; G5 – diabetic mice; G6 – diabetes and pulp disease affected mice; G7 – diabetes and pulp disease affected mice; G8 – diabetes, pulp and periodontal diseases affected mice. The diabetes was induced by applying streptozotocin, the pulp infection by the dental pulp exposure to oral environment and the periodontal disease by the manufacturing of obstruction of the dental cervix. The animals were assessed via glycemetic monitoring throughout the experimental period and sacrificed after 30 dias. Was possible notice that in all groups of mice nondiabetic glucose curves were similar. However, any local diseases association was enough to raise the glucose levels of diabetic animals even higher. It was concluded that pulp disease alone not influences on blood glucose in diabetic mice, but periodontal disease alone or disease associated with the pulp influences glucose levels in diabetic mice.

Keywords: Diabetes. Pulp disease. Periodontal disease.

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Distribuição dos grupos experimentais de acordo com os procedimentos locais e condições sistêmicas dos animais	18
Tabela 2	Médias dos níveis de glicemia ( <i>mg/dl</i> ) de acordo com o grupo experimental e o período de observação (dias)	23
Tabela 3	Valores de <i>p</i> para os cruzamentos entre os grupos experimentais em função e o período de observação (dias)	25
Tabela 4	Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias	26
Tabela 5	Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 9 dias	26
Tabela 6	Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 12, 13, 14 dias	27
Tabela 7	Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 25 e 30 dias	27
Tabela 8	Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 15, 20, 30 dias	28
Tabela 9	Comparação pelo teste de Tukey entre os 4 grupos de ratos diabéticos no período de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 e 30 dias	28

## **Lista de Figuras**

Figura 1	Injeção da droga na veia peniana do rato	19
Figura 2	Exposição do segundo molar direito com broca Ln	20
Figura 3	Confecção de amarra no colo dentário do segundo molar superior esquerdo	20
Figura 4	Punção da extremidade caudal e mensuração do nível glicêmico	22

## Gráficos

Gráfico 1	Níveis de glicemia em <i>mg/dl</i> de acordo com o grupo experimental e em função do período de observação (dias)	21
Gráfico 2	Níveis de glicemia ( <i>mg/dl</i> ) de acordo com o grupo experimental e em função dos períodos de observação (dias)	24

## Sumário

Introdução -----	12
Objetivo -----	16
Materiais e Métodos -----	17
Resultados -----	23
Discussão -----	30
Conclusão -----	33
Referências -----	34

## 1 Introdução

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 normalmente liberado constantemente em pequenas quantidades, mas quando do 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 ( American Diabetes Association, 2004, 2006; Mealey & Oates, 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 a glicemia, 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 (Fouad, 2003; Iacopino, 2001; Lalla et al., 2001; Offenbacher, 1996; Soskolne & Klinger, 2001; Taylor, 2001).

Sabe-se que a Diabetes mellitus é uma doença crônica e que possui conseqüências graves para a saúde geral assim como da 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 no paladar e a chamada “boca seca” (xerostomia).

As alterações gustativas têm sido atribuídas à alteração nos receptores de glicose ou às manifestações neuropáticas do diabetes (Bender & Bender 2003). A xerostomia é decorrente do aumento das glândulas parótidas e da diminuição do 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 (Herring & Shah, 2006; Mealey & Rose, 2008; Moore et al., 2001; 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 Endproducts). 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 endproducts) ativando a síntese de TNF- $\alpha$  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 conseqüências 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 á 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 microorganismos 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 proteínas e 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 (Tan 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 á insulina em pacientes diabéticos tipo 2 (King et al, 2003; Streja et al., 2003; Tan et al, 2004).

A influencia da diabetes nas infecções endodônticas também já foram relatadas (Armada et al., 2006; Catanzaro et. al., 2006; Iwava et al., 2006; Leite et.al., 2008), no entanto, sua progressão e associação com outras condições não têm sido devidamente estudada, fato que motivou a realização deste estudo.

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 portanto o elemento decisivo para o restabelecimento da normalidade dos tecidos apicais e periapicais (Holland et al., 2003; Katebzadeh et al., 2000; Kerekes & Tronstad, 1979; Nakamura, 2004).

A infecção endodôntica que também é muito prevalente na população em geral (Ainamo et al., 1994; Bergstrom et al., 1987; Eriksen & Bjertness, 1991; Odesjo et al., 1990; Palmqvist, 1986; Saunders & Saunders, 1998; Seppala & Ainamo, 1994) e causada por fatores microbianos muito semelhantes aqueles observados como etiológicos das doenças

periodontais (Fouad, 2003) 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; Catanzaro et. al. 2006; Iwava 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. Por meio de análise radiográfica foi revelado que os ratos diabéticos apresentaram lesões periradiculares significativamente maiores quando comparado a ratos normais. Estes autores sugerem que os achados estão possivelmente ligados à diminuição da capacidade de defesa contra patógenos microbianos. Em estudo semelhante, Iwava et al. (2006) também demonstraram que o grau de severidade das lesões eram bem maiores em ratos diabéticos do que os de controle. O trabalho sugere que as circunstâncias metabólicas produzidas pelo tipo diabetes 2 realça desenvolvimento de lesões periradicular nos ratos. Percebe-se que há uma influencia direta da diabetes no desenvolvimento e manutenção da infecção endodôntica, entretanto, também de forma escassa, poucos trabalhos se preocuparam em apontar as possíveis alterações sistêmicas decorrentes desta infecção local que possam ocorrer durante a vida de um paciente diabético. 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.

Desta forma, procuramos desenvolver um estudo que preencha parte das lacunas existentes na literatura atual buscando investigar as alterações glicêmicas decorrentes da indução e progressão da doença pulpar e periodontal em ratos diabéticos.

## **2 Objetivo**

O objetivo do presente estudo foi:

- Monitorar a glicemia de ratos saudáveis e diabéticos, associados ou não às doenças pulpares e periodontais isoladas ou em conjunto;
- Comparar a condição glicêmica dos animais saudáveis e diabéticos portadores de doenças pulpares e periodontais isoladas ou associadas.

## **3 Materiais e Métodos**

### **3.1 Material**

#### **3.1.1 Animais**

Foram utilizados 80 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 250g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com no máximo quatro ratos por gaiola e alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água *ad libitum*, exceto nas 12 horas antes e nas 6 horas após as intervenções. As gaiolas foram mantidas em gabinete biotério STD-5 (Vidy - Taboão da Serra – SP – Brasil) com temperatura oscilando entre 22 e 24°C e com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro). Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram submetidos ao comitê de conduta ética em experimentação animal e foram aprovados (Parecer 035/2010 - CEAE / UEM).

#### **3.1.2 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 empregado via veia peniana a estreptozotocina (Sigma- Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA – 60mg/kg).

Foram considerados diabéticos os animais que obtiveram valores glicêmicos acima de 250mg/dl.

### **3.2 Métodos**

#### **3.2.1 Divisão em Grupos**

Os 80 animais foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos experimentais de 10 animais cada e foram submetidos aos procedimentos de indução da diabetes, indução da doença pulpar e indução da doença periodontal de acordo com o grupo experimental (Tabela 1).

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

		Condição local			
		Saudável	Doença pulpar	Doença periodontal	Doença pulpar e periodontal
Condição sistêmica	Saudável	<i>Grupo 1</i>	<i>Grupo 2</i>	<i>Grupo 3</i>	<i>Grupo 4</i>
	Diabético	<i>Grupo 5</i>	<i>Grupo 6</i>	<i>Grupo 7</i>	<i>Grupo 8</i>

Desta forma, os grupos foram formados e podem ser assim descritos:

- Grupo 1: ratos saudáveis;
- Grupo 2: ratos portadores de doença pulpar induzida;
- Grupo 3: ratos portadores de doença periodontal induzida;
- Grupo 4: ratos portadores de doença pulpar e periodontal induzidas;
- Grupo 5: ratos diabéticos;
- Grupo 6: ratos diabéticos e portadores de doença pulpar induzida;
- Grupo 7: ratos diabéticos e portadores de doença periodontal induzida;
- Grupo 8: ratos diabéticos e portadores de doença pulpar e periodontal induzidas;

### 3.2.2 Indução da diabetes

Todos os animais foram anestesiados via intramuscular com uma associação do relaxante muscular, analgésico e sedativo Dopaser<sup>®</sup>, à base de xilazina, na dosagem de 10mg/kg e do anestésico Vetanarcol<sup>®</sup>, à base de cloridrato de ketamina a 5% na dosagem de 25mg/kg.

Após anestesia, os animais dos grupos 5 a 8 receberam uma dose de 60mg/kg de estreptozotocina dissolvida em tampão citrato 0.01M, pH 4.5, via endovenosa (veia peniana) para indução da diabetes (Figura 1).



**Figura 1 – Injeção da droga na veia peniana do rato**

Os demais animais (grupos 1 a 4) receberam solução salina (0.9%) pela mesma via, com o intuito de promover nestes animais uma indução fictícia.

Após as induções os animais foram monitorados durante todo o experimento por meio da aferição do nível glicêmico nos períodos de observação previamente definidos. O dia da indução da diabetes foi considerado o dia 0 (zero) do estudo.

### **3.2.3 Indução da doença pulpar e da doença periodontal**

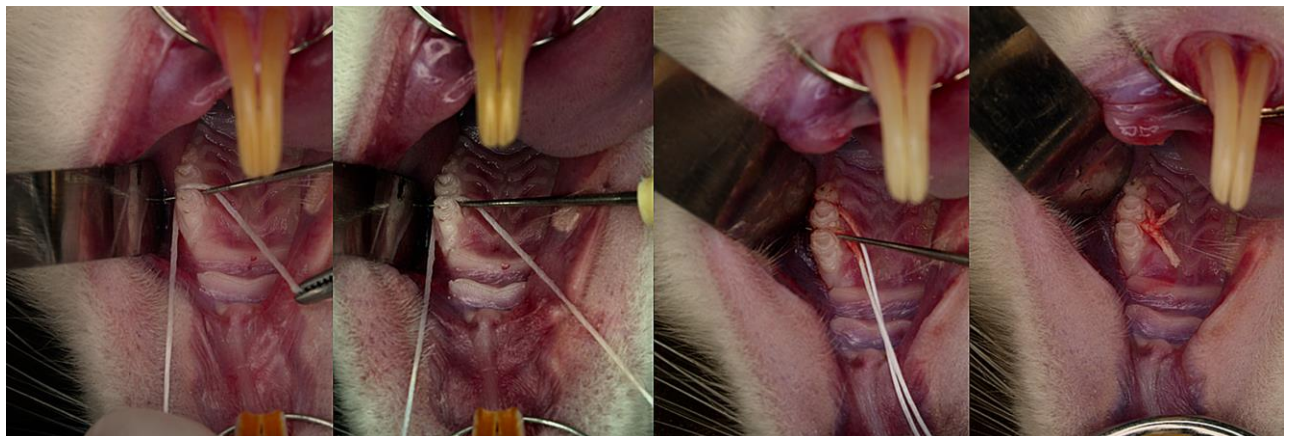
Após 4 dias da indução da diabetes (dia 4), todos os animais foram novamente anestesiados com o mesmo protocolo descrito anteriormente para a realização das induções das doenças bucais.

Nos animais dos grupos 2, 4, 6 e 8 foi realizada a indução da doença pulpar. Para isso, foram expostas as polpas dos segundos molares superiores direitos de cada animal, empregando-se uma broca em aço carbono esférica (Ln Long Neck - Dentsply Maillefer, Tulsa, OK) de 0,1mm de diâmetro. Assim, todas as exposições pulpares foram padronizadas com o mesmo diâmetro (Figura 2).



**Figura 2 – Exposição do segundo molar superior direito com broca Ln**

Nos animais dos grupos 3, 4, 7 e 8 foi realizada a indução da doença periodontal. Para isso, foi selecionado o segundo molar superior esquerdo e realizada a indução por ligadura (Holzhausen *et al.*, 2002). Foi realizada uma amarração com uma linha de algodão número 24 (Coats Corrente Ltda. São Paulo, SP, Brasil) ao redor do segundo molar superior esquerdo, cujo posicionamento correto foi feito com o auxílio de uma espátula simples 24F (S.S.White / Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) modificada e de um espaçador endodôntico (Dentsply Maillefer, Tulsa, OK). O espaçador foi utilizado para o afastamento dos dentes, facilitando a passagem do fio, enquanto a espátula foi empregada para conduzir o fio ao espaço interdentário (Figura 3). As ligaduras não foram removidas e permaneceram por todo o período pós-operatório.



**Figura 3 – Confeção de amarração em torno do colo dentário do segundo molar superior esquerdo**

### 3.2.4 Monitoramento glicêmico

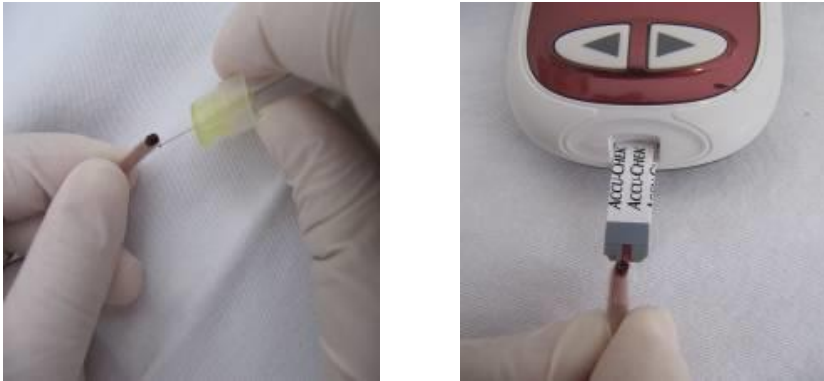
A avaliação glicêmica constou do monitoramento dos níveis glicêmicos de cada animal. Para a definição dos períodos de avaliação glicêmica foi considerado o dia da indução da diabetes como o marco zero do período de tempo. Esta primeira avaliação glicêmica (dia 0) foi realizada em jejum e imediatamente antes da indução da diabetes. Após quatro dias (dia 4), foi realizada a indução das doenças pulpar e periodontal.

Os níveis de glicemia foram aferidos nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 e 30, dia do sacrifício. Desta forma, foi construído um modelo de gráfico para representação do comportamento do nível glicêmico médio de cada grupo experimental em função dos períodos de observação (Gráfico 1).

GLICEMIA / GRUPOS																		
TEMPO (dias)																		
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	20	25	30

**Gráfico 1 – Níveis de glicemia em *mg/dl* de acordo com o grupo experimental e em função do período de observação (dias)**

Nos períodos definidos e sempre às 9 horas da manhã, os níveis de glicose sanguínea foram determinados. Utilizando-se agulha 29Gx1/2” (Nipro Corporation, Honjo-Nishi, Kitaku, Osaka, Japan) realizou-se uma punção na extremidade da cauda do animal, seguida de pequena compressão para a obtenção de uma gota de sangue. Na sequência, utilizando aparelho para glicemia e às fitas glicotestes (Accu-Check Performa - Roche-Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA) os valores foram obtidos e anotados em uma planilha para descrição dos resultados. Antes e após a punção a extremidade caudal foi limpa e desinfetada com PVPI (Povidini tópico- Johnson & Johnson Ind. Com. Ltda. São Paulo, SP, Brasil).



**Figura 4 – Punção da extremidade caudal e mensuração do nível glicêmico**

### **3.2.5 Sacrifício e processamento laboratorial**

Decorrido o período de 30 dias da indução da diabetes, os animais foram sacrificados com uma superdose de cloridrato de ketamina (anestésico) injetada no coração.

### **3.2.6 Forma de análise dos resultados**

Os valores dos 8 grupos experimentais foram aferidos, tabulados e submetidos à análise estatística por meio da análise de variância (ANOVA). Em seguida, foi utilizado o teste de Tukey, com significância de 5% ( $p < 0,05$ ), para cruzamento entre os grupos. Por se tratar de avaliação métrica os dados foram expostos por meio das médias dos valores observados em cada grupo, em função dos períodos de observação.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Análise Glicêmica

A análise glicêmica foi realizada por meio do monitoramento dos níveis glicêmicos durante os períodos de observação previamente definidos. Desta forma, as médias dos níveis glicêmicos foram registrados e apresentam-se dispostos na Tabela 2. Por se tratar de avaliação métrica os dados foram expostos por meio das médias dos valores observados em cada grupo, expresso em *mg/dl* e em função dos períodos de observação (dias).

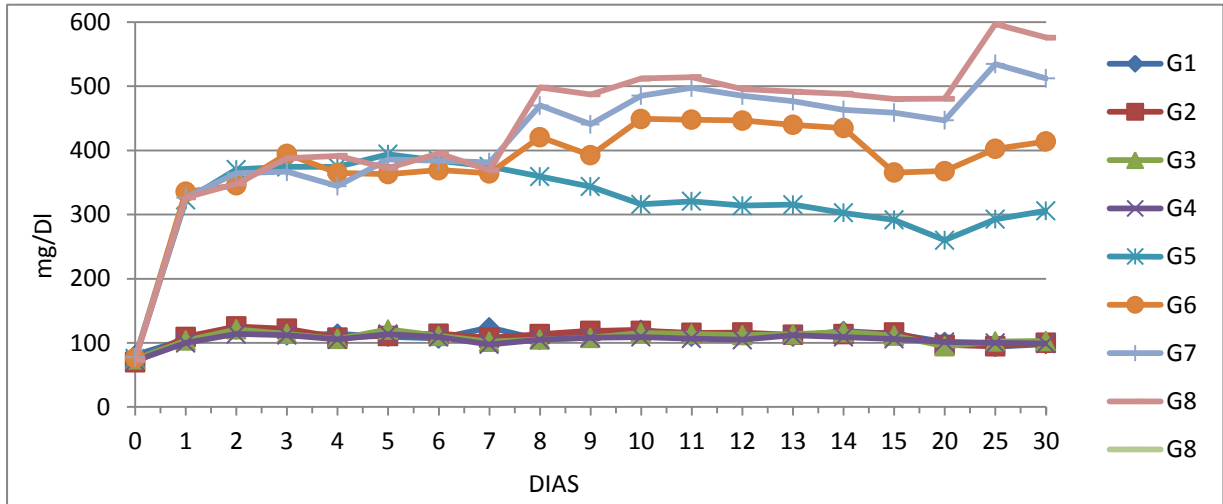
**Tabela 2 – Médias dos níveis de glicemia (*mg/dl*) de acordo com o grupo experimental e o período de observação (dias)**

		GRUPOS EXPERIMENTAIS							
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
DIAS	0	80,9	70,0	74,4	71,9	75,6	76,4	77,6	73,4
	1	105,6	109,4	103,6	99,8	322,7	335,7	326,4	326,6
	2	120,6	125,5	121,0	113,9	370,4	345,6	364,2	348,1
	3	111,9	122,0	114,1	112,1	374,3	394,6	366,7	387,9
	4	114,1	108,4	106,1	105,3	374,6	365,0	344,4	391,4
	5	109,6	110,9	120,9	113,6	394,0	363,1	385,8	372,6
	6	106,8	114,3	110,9	109,1	383,9	369,3	384,0	395,5
	7	124,0	108,0	101,8	97,5	375,1	364,3	381,6	368,8
	8	104,8	113,6	105,0	105,1	359,3	420,8	470,0	498,1
	9	117,8	118,8	107,9	108,0	343,6	392,6	440,7	487,2
	10	120,4	118,8	115,6	109,1	315,9	449,2	485,3	512,1
	11	109,6	115,5	113,9	106,6	320,7	448,0	497,8	514,2
	12	112,1	116,0	112,0	104,9	314,0	446,6	485,4	495,5
	13	109,9	112,5	113,3	111,9	315,3	440,0	476,9	491,5
	14	118,3	113,5	116,7	109,1	302,6	435,0	463,1	488,3
	15	114,0	116,1	111,2	106,0	291,7	365,6	458,9	480,2
20	101,3	96,9	94,6	101,4	259,9	367,8	447,0	480,6	
25	93,8	94,5	102,1	99,9	292,8	402,4	534,7	596,9	
30	98,0	100,4	102,8	98,8	305,9	414,0	512,4	575,9	

Observou-se que todos os animais que foram induzidos à diabetes apresentaram glicemia acima de *250mg/dl* no dia seguinte à indução (dia 1).

Para melhor visualização dos dados foi confeccionado um gráfico com os valores médios de cada grupo, de acordo com cada período de observação (Gráfico 2).

**Gráfico 2 – Níveis de glicemia (mg/dl) de acordo com o grupo experimental e em função dos períodos de observação (dias)**



Diante dos valores obtidos e com base na distribuição gráfica pôde-se dizer que todos os grupos de ratos não diabéticos (grupos 1 a 4) apresentaram curvas glicêmicas semelhantes. Desta forma, pôde-se dizer que a infecção pulpar e/ou periodontal não influenciou os níveis glicêmicos em ratos não diabéticos. Por outro lado, nos grupos de ratos diabéticos (grupos 5 a 8) qualquer associação de infecção local foi suficiente para elevar ainda mais o nível glicêmico (Gráfico 2).

Após exposição, os dados foram submetidos à análise estatística por meio da análise da variância (ANOVA). Para os casos que a diferença foi observada aplicou-se o teste de Tukey, com significância de 5% ( $p < 0,05$ ), para comparação entre as médias.

Foram realizadas as seguintes comparações entre grupos:

- 1 – Todos: Comparação entre os 8 grupos experimentais (G1 x G2 x G3 x G4 x G5 x G6 x G7 x G8);
- 2 – Ns x Ds; Comparação entre todos os ratos não diabéticos contra todos os ratos diabéticos, independente da doença local (G1 + G2 + G3 + G4 x G5 + G6 + G7 + G8);
- 3 – Ns: Comparação entre os 4 grupos de ratos normais (G1 x G2 x G3 x G4);
- 4 – Ds: Comparação entre os 4 grupos de ratos diabéticos (G5 x G6 x G7 x G8);
- 5 – G1 x G5: Comparação entre os ratos saudáveis contra os ratos diabéticos;
- 6 – G2 x G6: Comparação entre os ratos com doença pulpar com e sem diabetes;
- 7 – G3 x G7: Comparação entre os ratos com doença periodontal com e sem diabetes;

8 – G4 x G8: Comparação entre os ratos com doença pulpar e periodontal com e sem diabetes; Considerando as 8 possibilidades de comparação entre os grupos, foi realizada a análise da variância (ANOVA) para todos os períodos de observação e os valores de  $p$  obtidos estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3 – Valores de  $p$  para os cruzamentos entre os grupos experimentais em função do período de observação (dias) -significante para  $p < 0,05$**

		COMPARAÇÕES ENTRE GRUPOS							
		Todos	Ns X Ds	Ns	Ds	G1 X G5	G2 X G6	G3 X G7	G4 X G8
DIAS	0	0,71707	0,62934	0,23864	0,91224	0,34629	0,26920	0,68634	0,69467
	1	0,00000	0,00000	0,54393	0,99779	0,00713	0,00030	0,00003	0,00001
	2	0,00000	0,00000	0,18653	0,97173	0,00219	0,00000	0,00001	0,00001
	3	0,00000	0,00000	0,07956	0,96290	0,00036	0,00000	0,00000	0,00000
	4	0,00000	0,00000	0,35996	0,88039	0,00054	0,00000	0,00000	0,00000
	5	0,00000	0,00000	0,17792	0,94484	0,00017	0,00000	0,00000	0,00000
	6	0,00000	0,00000	0,75936	0,95451	0,00001	0,00000	0,00000	0,00000
	7	0,00000	0,00000	0,05242	0,99832	0,00031	0,00030	0,00003	0,00000
	8	0,00000	0,00000	0,45580	0,12130	0,00094	0,00000	0,00000	0,00000
	9	0,00000	0,00000	0,11002	0,08388	0,00199	0,00000	0,00000	0,00000
	10	0,00000	0,00000	0,11960	0,01385	0,01090	0,00000	0,00000	0,00000
	11	0,00000	0,00000	0,06132	0,00574	0,00401	0,00000	0,00000	0,00000
	12	0,00000	0,00000	0,11784	0,00466	0,00316	0,00000	0,00000	0,00000
	13	0,00000	0,00000	0,86799	0,00627	0,00073	0,00000	0,00000	0,00000
	14	0,00000	0,00000	0,25634	0,00517	0,00301	0,00000	0,00000	0,00000
	15	0,00000	0,00000	0,16458	0,00209	0,00296	0,00000	0,00000	0,00000
20	0,00000	0,00000	0,42273	0,00535	0,03289	0,00000	0,00000	0,00000	
25	0,00000	0,00000	0,29249	0,00147	0,02654	0,00063	0,00000	0,00000	
30	0,00000	0,00000	0,81587	0,00152	0,01100	0,00008	0,00000	0,00000	

De acordo com os valores de  $p$  encontrados podemos afirmar que:

1 – Quanto à comparação entre todos os grupos, observou-se diferenças do ponto de vista estatístico a partir do dia 1 (Tabela 3).

Até o oitavo dia de observação as diferenças foram entre os grupos normais contra os diabéticos, denotando apenas a influência da doença sistêmica diabetes (Tabela 4).

**Tabela 4 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias.**

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
G1					X	X	X	X
G2					X	X	X	X
G3					X	X	X	X
G4					X	X	X	X
G5								
G6								
G7								
G8								

No dia 9, além das diferenças já relatadas, observou-se que o grupo 5 (ratos com diabetes) foi diferente do grupo 8 (ratos com diabetes e ambas doenças locais). Este aspecto denota a influência da associação das doenças pulpar e periodontal no aumento da glicemia dos animais diabéticos (Tabela 5).

**Tabela 5 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 9 dias.**

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
G1					X	X	X	X
G2					X	X	X	X
G3					X	X	X	X
G4					X	X	X	X
G5								X
G6								
G7								
G8								

Com o passar do tempo as diferenças anteriores permaneceram e diferenças entre o grupo 5 (ratos com diabetes) contra o grupo 6 (ratos com diabetes e doença pulpar) e grupo 7 (ratos com diabetes e doença periodontal) puderam ser notadas (Tabela 6). Este aspecto indica a influência das doenças pulpar e periodontal isoladas no aumento da glicemia de ratos diabéticos.

**Tabela 6 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 12, 13, 14 dias.**

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
G1					X	X	X	X
G2					X	X	X	X
G3					X	X	X	X
G4					X	X	X	X
G5						X	X	X
G6								
G7								
G8								

A partir de 15 dias de observação não foi mais constatada a diferença entre o grupo 5 e 6, entretanto as demais diferenças permaneceram (Tabela 7 e 8).

No período de 25 e 30 dias houve diferenças significantes entre o grupo 6 (ratos diabéticos com doença pulpar) e o grupo 8 (ratos diabéticos com doença pulpar e periodontal) (Tabela 7).

**Tabela 7 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 25 e 30 dias.**

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
G1					X	X	X	X
G2					X	X	X	X
G3					X	X	X	X
G4					X	X	X	X
G5							X	X
G6								X
G7								
G8								

De forma semelhante, nos períodos de 15, 20 e 30 dias de observação não foi mais constatada a diferença significativa entre os grupos 6 e 8 (Tabela 8). Chama-se a atenção a permanência da diferença entre o grupo 5 e os grupos 7 e 8, ou seja, grupos de ratos diabéticos onde a presença da doença periodontal isolada ou associada a doença pulpar, elevou o nível glicêmico de forma significativa (Tabela 8)

**Tabela 8 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 8 grupos experimentais no período de 15, 20, 30 dias.**

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
G1					X	X	X	X
G2					X	X	X	X
G3					X	X	X	X
G4					X	X	X	X
G5							X	X
G6								
G7								
G8								

2 - Quanto à comparação entre todos os ratos normais contra todos os ratos diabéticos (Ns x Ds), independente da doença local, pôde-se observar que, no primeiro dia após a indução da diabetes (dia 1) os grupos se tornaram diferentes. Isto se deve ao fato do forte aumento dos valores glicêmicos nos grupos que 5 a 8, indicando o sucesso da indução da diabetes a partir do dia 1 e sua manutenção até o final do experimento (dia 30) (Tabela 3).

3 - Quanto à comparação entre os 4 grupos de ratos normais (Ns), pôde-se observar que os níveis glicêmicos foram semelhantes e não apresentaram diferenças estatísticas. Este aspecto revela que a infecção pulpar e/ou periodontal não foi capaz de alterar o nível de glicemia dos animais saudáveis sistemicamente, ou seja, não diabéticos (Tabela 3).

4 - Quanto à comparação entre os 4 grupos de ratos diabéticos (Ds), pôde-se observar que os níveis glicêmicos foram diferentes do ponto de vista estatístico a partir do nono dia após a indução (dia 10). Após realização do teste de Tukey para todos os períodos de tempo, pôde-se verificar que as diferenças foram sempre entre o grupo 5 (ratos diabéticos) comparado ao grupo 7 (ratos diabéticos com doença periodontal) e grupo 8 (ratos diabéticos com doença pulpar e periodontal) (Tabela 9).

**Tabela 9 – Comparação pelo teste de Tukey entre os 4 grupos de ratos diabéticos no período de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25 e 30 dias.**

	G5	G6	G7	G8
G5			X	X
G6				
G7				
G8				

Desta forma, entende-se que a presença da doença pulpar isoladamente não é capaz de influenciar de forma significativa na glicemia de ratos diabéticos. Por outro lado, a doença periodontal isolada ou associada à doença pulpar eleva ainda mais e de forma significativa o nível glicêmico de animais diabéticos.

5 - Quanto à comparação entre os ratos normais sem doença bucal contra os ratos diabéticos sem doença bucal (G1 x G5) pôde-se observar que, a partir do primeiro dia após a indução da diabetes (dia 1) os grupos se tornaram diferentes. Isto se deve ao forte aumento do valor glicêmico do grupo 5.

6 - Quanto à comparação entre os ratos com doença pulpar com e sem diabetes (G2 x G6) pôde-se observar que, a partir do primeiro dia após a indução da diabetes (dia 1) os grupos se tornaram diferentes. Isto se deve ao forte aumento do valor glicêmico do grupo 6.

7 - Quanto à comparação entre os ratos com doença periodontal com e sem diabetes (G3 x G7) pôde-se observar que, a partir do primeiro dia após a indução da diabetes (dia 1) os grupos se tornaram diferentes. Isto se deve ao forte aumento do valor glicêmico do grupo 7.

8 - Quanto à comparação entre os ratos com doença pulpar e periodontal com e sem diabetes (G4 x G8) pôde-se observar que, a partir do primeiro dia após a indução da diabetes (dia 1) os grupos se tornaram diferentes. Isto se deve ao forte aumento do valor glicêmico do grupo 8.

As comparações realizadas nos itens 5, 6, 7 e 8 denotam que a presença da diabetes, por si só, já diferencia os grupos. Como o aumento da glicemia foi a partir do primeiro dia após a indução da diabetes todas estas comparações evidenciam a diferença a partir deste dia.

## 5 Discussão

Dentre as manifestações orais da diabetes, pode-se destacar a ocorrência e aumento da severidade da doença periodontal crônica, abscessos periodontais e aumento da predisposição a infecções (Løe, 1993; Nishimura, 1998; Lalla *et al.*, 2000), assim como o aumento à predisposição a cárie e alterações pulpares (Leite *et al.*, 2008). Esta pesquisa investigou as alterações glicêmicas decorrentes da indução e progressão da doença pulpar e periodontal em ratos diabéticos.

Quanto ao método de indução da diabetes deve-se considerar o tipo de droga, a dosagem e a via de administração. Com relação ao tipo da droga foi empregado a estreptozotocina, pois é uma droga segura e tem sido utilizada em diversas experimentações com alto índice de sucesso 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 o seu mecanismo de ação tóxica sobre as células do pâncreas são alvos de discussão. 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). Três anos mais tarde, Rakieten *et al.*, estabeleceram que 50mg/kg de estreptozotocina via endovenosa produzia diabetes mellitus em ratos e cães (Rakieten *et al.*, 1963).

Um importante detalhe é a via de administração, pois influencia na quantidade da droga necessária para produzir as alterações endócrinas e desenvolver o quadro da diabetes (Delfino *et al.*, 2002). Via intraperitoneal, a dosagem recomendada é de 70mg/kg (Garber *et al.*, 2009), já via endovenosa é de 60mg/kg (Catanzaro *et al.*, 2006; Leite *et al.*, 2008). No presente experimento foi realizada a injeção via veia peniana, possibilitando uma menor quantidade da droga minimizando os efeitos colaterais. Desta forma, pode-se afirmar que o emprego da estreptozotocina na dosagem de 60mg/kg via endovenosa em ratos Wistar, produziu 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, observou-se que o método empregado produziu alterações semelhantes entre os espécimes de um mesmo grupo. Este aspecto denota que a indução foi realizada com sucesso e pode ser empregada em pesquisas que envolvem os tecidos do endodonto, assim como demonstrado em outros estudos (Iwama *et al.*, 2003, 2006; Armada-Dias *et al.*, 2006).

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

Quanto aos resultados obtidos com a análise glicêmica podemos considerar que os grupos de ratos normoglicêmicos (grupos 1 a 4) apresentaram curvas glicêmicas semelhantes, demonstrando que a infecção pulpar e/ou periodontal não influenciou nos níveis glicêmicos de ratos não diabéticos.

Poucos estudos se preocuparam em avaliar ou monitorar o nível de glicemia em animais portadores de lesões endodônticas ou periodontais. Armada-Dias e colaboradores (Armada-Dias *et al.*, 2006) mensuraram o nível glicêmico de ratos portadores de infecção pulpar associado ou não a diabetes, entretanto não foi incluído um grupo sem infecção pulpar. Desta forma, pelo estudo de Armada-Dias e colaboradores não há como dizer que a infecção pulpar não afetou a glicemia em ratos normogênicos, como observado no presente estudo.

Neste sentido, de Almeida e colaboradores (de Almeida *et al.*, 2008), também mensuraram a glicemia, porém em ratos com doença periodontal, associada ou não à diabetes. De forma semelhante ao observado em nosso estudo, os ratos diabéticos tiveram a o nível glicêmico aumentado com o passar do tempo.

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). Por outro lado, parece que a infecção pulpar e periodontal isoladas ou associadas não interferem no estado glicêmico de organismos normogênicos (Armada-Dias *et al.*, 2006; de Almeida *et al.*, 2008).

Assim, conforme discutido, nos grupos de ratos diabéticos (grupos 5 a 8), observou-se que qualquer associação de infecção local, sendo de origem endodôntica ou periodontal foi suficiente para elevar ainda mais o nível glicêmico (Gráfico 2). Entretanto as diferenças do ponto de vista estatístico ficaram apenas entre os grupos da doença periodontal isolada ou associada à pulpar. Acredita-se que a doença periodontal produza uma condição infecciosa de maior magnitude quando comparada a doença pulpar, e, este fato, pode influenciar de forma mais significativa à condição glicêmica do indivíduo.

Desta forma, entende-se que a presença da doença pulpar isoladamente não é capaz de influenciar na glicemia de ratos diabéticos. Por outro lado, a doença periodontal isolada ou

associada à doença pulpar eleva ainda mais e de forma significativa o nível glicêmico de animais diabéticos.

## **6 Conclusão**

Diante da metodologia adotada pôde-se concluir que:

- a) a infecção local, seja ela endodôntica ou periodontal, isolada ou associada, não influenciam o nível glicêmico de ratos saudáveis sistemicamente (não diabéticos);
- b) A doença pulpar isolada não influencia de forma significativa a glicemia de ratos diabéticos;
- c) a doença periodontal isolada ou associada com a doença pulpar influencia no aumento do nível glicêmico de ratos diabéticos a partir do 10 dia de sua instalação.

## Referências

1. AINAMO, A. et. Al. J. Dental radiographic findings in the elderly in Helsinki, Finland. **Acta Odontol. Scand.**, v. 52, n. 4, p. 243-249, 1994.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 27 Suppl 1:S5-S10, 2004.
3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care** 29 Suppl 1:S4-S36, 2006.
4. ARMADA-DIAS, L. et. al. Development of periradicular lesions in normal and diabetic rats. **J. Appl. Oral Sci.**,v. 14, n. 5, p. 371-375, 2006.
5. BENDER, I. B.; BENDER, A. B. Diabetes mellitus and the dental pulp. **J. Endod.**, v. 29, n. 6, p. 383- 389, 2003.
6. BERGSTROM, J.; ELIASSON, S.; AHLBERG K. F. Periapical status in subjects with regular dental care habits. **Community Dent. Oral Epidemiol.**, v. 15, p. 236-239, 1987.
7. BEZERRA, J. P. et. al. Administration of high doses of caffeine increases alveolar bone loss in ligature-induced periodontitis in rats. **J. Periodontol**, v. 79, n. 12,p. 2356-2360, 2008.
8. BROWNLEE, M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. **Diabetes Care**, v. 15, n. 12, p. 1835-1843, 1992.
9. CATANZARO, O. et. al. Diabetes and its effects on dental pulp. **J. Oral Sci.**, v. 48, n. 4, p. 195-199, 2006.
10. DE ALMEIDA J. M. Treatment of experimental periodontal disease by photodynamic therapy in rats with diabetes. **J. Periodontol**, v. 79, n. 11, p. 2156-2165, 2008.

11. DELFINO, V. D. A. Streptozotocin-induced diabetes mellitus: long-term comparison of two drug administration routes. **J. Bras. Nefrol.**, v. 24, n. 1, p. 31-36, 2002.
12. Dunn, O.J. Estimation of the means of dependent variables. **Ann. Math. Statist.**, v. 29, n. 4, p. 1095-1111, 1958.
13. EMRICH, L. J.; SHLOSSMAN M.; GENCO R. J. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Periodontol**, v. 62, n. 2, p. 123-131,1991.
14. ERIKSEN, H. M., BJERTNESS E. Prevalence of apical periodontitis and results of endodontic treatment in middle-aged adults in Norway. **Endod. Dent. Traumatol.**, v. 7, p.1-4,1991.
15. 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**, v. 20, n. 7, p.1183-1197, 1997.
16. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 26, :p. 3160-3170, 2003.
17. FICARA, A. J.; et. al. A comparison of the glucose and protein content of gingival fluid from diabetics and nondiabetics. **J. Periodontal Res.**, v. 10, p. 171-175, 1975.
18. FOUAD, A.; et. al. Periapical lesion progression with controlled microbial inoculation in a type I diabetic mouse model. **J. Endod.**, v. 28, n. 1, p. 8-16, 2002.
19. FOUAD, A. F. Diabetes mellitus as a modulating factor of endodontic infections. **J. Dent. Educ.**, v. 67, n. 4, p. 459-467, 2003.
20. GARBER, S. E.; et. al. The effect of hyperglycemia on pulpal healing in rats. **J. Endod.**, v. 35, n. 1, p. 60-2, 2009.

21. GOMES, D. A.; et. al. Effect of induced diabetes mellitus on alveolar bone loss after 30 days of ligature-induced periodontal disease. **J. Int. Acad. Periodontol**, v. 11, n. 2, p.188-192, 2009.
22. GROSSI, S. G.; GENCO, R. J. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. **Ann. Periodontol**, v. 3, n. 1, p. 51-61, 1998.
23. GUYTON, A. C. **Fisiologia médica**. 10<sup>a</sup> ed. Guanabara Coogan, 2002.
24. HERR, R. R.; JAHNKE, A. D.; ARGOUEDELIS, A. D. The structure of streptozotocin, a new antibacterial antibiotic. **Antibiot. Ann.**; v. 7, p. 230-235, 1959/1960.
25. HERRING, M. E.; SHAH, S. K. Periodontal disease and control of diabetes mellitus. **J. Am. Osteopath Assoc.**, v. 106, n. 7, p. 416-421, 2006.
26. HOLLAND, R; et. al.. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. **J. Endod.**, v. 33, n. 6, p. 693-697, 2007.
27. HOLLAND, R.. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. **J. Endod.**, v. 29, n. 2, p.121-124, 2003.
28. HOLZHAUSEN, M. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J. Periodontol**, v. 73, n. 9, p. 1030-1036, 2002.
29. IACOPINO, A. M. Periodontitis and diabetes interrelationships: role of inflammation. **Ann. Periodontol**, v. 6, n. 1, p.125-137, 2001.
30. IWAMA, A.; et. al. Increased number of anaerobic bacteria in the infected root canal in type 2 diabetic rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol. Endod.**, v. 101, n. 5, p.681-686, 2006.

31. IWAMA, A. The effect of high sugar intake on the development of periradicular lesions in rats with type 2 diabetes. **J. Dent. Res.**, v. 82, n. 4, p. 322-325, 2003.
32. KADOR, P.F.;et. al. Efficacy of structurally diverse aldose reductase inhibitors on experimental periodontitis in rats. **J. Periodontol**, v. 82, n. 6, p. 926-933, 2011.
33. KATEBZADEH, N.; SIGURDSSON, A.; TROPE, M. Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root canals: an in vivo study. **Int. Endod.**, v. 33, n. 1, p. 60-66, 2000.
34. KEREKES, K.; TRONSTAD L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. **J. Endod.**, v. 5, n. 3, p. 83-90, 1979.
35. KING, D. E.; et. al. C-reactive protein and glycemic control in adults with diabetes. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1535-1539, 2003.
36. KING, H.; AUBERT, R. E.; HERMAN, W. H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes Care**, v. 21, p. 1414-1431, 1998.
37. LALLA, E.; et. al. Hyperglycemia, glycooxidation and receptor for advanced glycation endproducts: potential mechanisms underlying diabetic complications, including diabetes-associated periodontitis. **Periodontol**, v.23, p. 50-62, 2000.
38. LALLA, E.; et. al. Receptor for advanced glycation end products, inflammation, and accelerated periodontal disease in diabetes: mechanisms and insights into therapeutic modalities. **Ann. Periodontol**, v. 6. N. 1, p. 113-118, 2001.
39. LEITE, M. F.;et. al. Diabetes induces metabolic alterations in dental pulp. **J. Endod.**, v. 34, n. 10, p.1211-1214, 2008.
40. LILLIE, R. D. **Histopathologic technique and practical histochemistry**. New York, Blakinston, 2a ed., 501p, 1954.

41. LIU, R.; et. al. Diabetes enhances periodontal bone loss through enhanced resorption and diminished bone formation. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 6, p. 510-514, 2006.
42. LÖE, H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 16, p. 329-334, 1993.
43. MEALEY, B. L.; OATES, T. W. Diabetes mellitus and periodontal diseases. **J. Periodontol**, v. 77, n.8, p. 1289-1303, 2006.
44. MEALEY, B. L.; ROSE, L. F. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 29, n. 7, p.402-408, 410, 412-413, 2008.
45. MOORE, P. A.; et. al. Type 1 diabetes mellitus, xerostomia, and salivary flow rates. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 92, p. 281-291, 2001.
46. NAKAMURA, H. Success rate of endodontic treatment of teeth with vital and nonvital pulps. A meta-analysis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 97, n. 1, p. 95-99, 2004.
47. NISHIMURA, F.; et. al. Periodontal disease as a complication of diabetes mellitus. **Ann. Periodontol**, v. 3, n. 1, p. 20-29, 1998.
48. ODESJO, B.; et. al. Prevalence of previous endodontic treatment, technical standard and occurrence of periapical lesions in a randomly selected adult, general population. **Endod. Dent. Traumatol.**, v. 6, p. 265-272, 1990.
49. OFFENBACHER, S. Periodontal diseases: pathogenesis. **Ann. Periodontol**, v.1, n. 1, p. 821-878, 1996.
50. PAGE, R. C.; et. al. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. **Periodontol 2000**, v. 14, p. 216-248, 1997.

51. PALMQVIST, S. Oral health patterns in a Swedish county population aged 65 and above. **Swed. Dent. J. Suppl.**, v. 32, p. 1-87, 1986.
52. SAUNDERS, W. P.; SAUNDERS, E. M. Prevalence of periradicular periodontitis associated with crowned teeth in an adult Scottish subpopulation. **Br. Dent. J.**, v. 185, p. 137-140, 1998.
53. SCHMIDT, A. M.; et al. Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes. **J. Periodontal Res.**, v. 31, n. 7, p. 508-515, 1996.
54. 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**, v. 21, p. 161-165, 1994.
55. SIEGEL, S. Non-parametric statistic for the behavioral sciences. **McGraw-Hill Book Co.**, New York, p. 184-94, 1956.
56. SIUDIKIENE, J.; et. al. Dental caries increments and related factors in children with type 1 diabetes mellitus. **Caries Res.**, v. 42, n. 5, p.354-362, 2008.
57. SOSKOLNE, W. A.; KLINGER, A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. **Ann. Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 91-98, 2001.
58. STREJA, D.; CRESSEY, P.; RABKIN, S. W. Associations between inflammatory markers, traditional risk factors, and complications in patients with type 2 diabetes mellitus. **J. Diabetes Complications**, v. 17, n. 3, p. 120-127, 2003.
59. TAN, K. C.; et. al. Association between acute-phase reactants and advanced glycation end products in type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, n. 1, p. 223-228, 2004.
60. TAYLOR, G. W. Bidirectional interrelationships between diabetes and periodontal

diseases: an epidemiologic perspective. **Ann. Periodontol**, v. 6, n. 1, p. 99-112, 2001.

61. THORSTENSSON, J.; et. al. Some salivary factors in insulin-dependent diabetics. **Acta Odont. Scand.**, v. 47, p. 175-183, 1989.
62. VLASSARA, H.; et. al. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. **Science**, v. 240, n. 4858, p. 1546-1548, 1988.