

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA

IMPACTO DA ASSOCIAÇÃO DE CAFÉINA E NICOTINA
SOBRE O REPARO ÓSSEO PERI-IMPLANTAR EM RATOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

MOUNIR COLARES MUSSI

SÃO PAULO
2023

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM ODONTOLOGIA

IMPACTO DA ASSOCIAÇÃO DE CAFEÍNA E NICOTINA
SOBRE O REPARO ÓSSEO PERI-IMPLANTAR EM RATOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia, sob orientação da Prof.^a Dra. Mônica Grazieli Corrêa.

MOUNIR COLARES MUSSI

SÃO PAULO
2023

Mussi, Mounir Colares.

Impacto da associação de cafeína e nicotina sobre o reparo ósseo peri-implantar em ratos / Mounir Colares Mussi. - 2023.

14 f. : il. color.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2023.

Área de concentração: Implantodontia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Mônica Grazieli Corrêa.

1. Cafeína. 2. Nicotina. 3. Implante dental. 4. Osseointegração.
I. Corrêa, Mônica Grazieli (orientadora). II. Título.

MOUNIR COLARES MUSSI

**IMPACTO DA ASSOCIAÇÃO DE CAFEÍNA E NICOTINA
SOBRE O REPARO ÓSSEO PERI-IMPLANTAR EM RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Raissa Machado – UNIP

Prof. Dr. Márcio Márcio Zaffalon Casati – UNIP

Prof. Dr. Guilherme Almeida Borges – UNICAMP

Prof.^a Dra. Mabelle Monteiro – UNICAMP

Prof.^a Dra. Orientador(a) Mônica Grazieli Corrêa - UNIP

AGRADECIMENTOS

Agradeço à CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas que possibilitaram que esta pesquisa e a minha formação fossem realizadas durante esse período de 36 meses.

Agradeço imensamente toda equipe de periodontia da Universidade Paulista, em especial a minha orientadora, a Professora Mônica Grazieli Corrêa, por ter dado todo o suporte para que eu conseguisse finalizar este trabalho.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da cafeína e da nicotina, bem como a sua associação na biomecânica e na osseointegração de implantes inseridos em tíbias de ratos. Para tanto, foram utilizados 40 ratos Wistar machos, divididos em 4 grupos: 1- Grupo placebo (N=10): água destilada; 2- Grupo nicotina (N=10): aplicação de nicotina 1,67 mg/kg; 3- Grupo cafeína (N=10): cafeína na dose de 30 mg/kg; 4- Grupo cafeína + nicotina (N=10): cafeína na dose de 30 mg/kg e aplicação de nicotina 1,67 mg/kg. A água destilada e cafeína foram administradas via gavagem, diariamente, por duas semanas previamente às cirurgias para instalação dos implantes e permaneceram até o final do experimento. A nicotina foi administrada por meio de injeção intraperitoneal durante o mesmo período. Os animais foram submetidos à instalação de implantes de titânio (um em cada uma das tíbias - Dia 0). A eutanásia ocorreu no 30º dia após a instalação dos mesmos. Após a eutanásia, em uma das tíbias foi realizada a análise de torque reverso e a outra foi coletada para a análise histomorfométrica do preenchimento ósseo dentro da área das roscas dos implantes (BAFO) e do contato direto osso-implante (BIC). Observou-se menores valores de torque reverso para o grupo NIC+CAF, comparado aos grupos NIC e CAF isolados ($p<0.05$). Em relação ao BAFO, observou-se que NIC+CAF apresentou as menores porcentagens ($p<0.05$). Quanto ao BIC, verificou-se que o grupo CAF e CAF+NIC apresentaram menores porcentagens, quando comparado a NIC ($p<0.05$). Pode-se concluir que a associação de cafeína e nicotina influencia negativamente a biomecânica e a osseointegração de implantes, reduzindo a resistência ao torque de remoção, bem como o preenchimento da área das roscas e o contato direto osso-implante. Além disso, a cafeína isoladamente influenciou negativamente no contato direto osso-implante, de forma semelhante à associação das duas substâncias.

Palavras chave: Cafeína. Nicotina. Implante dental. Osseointegração.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of caffeine and nicotine, as well as their association, on biomechanical and osseointegration of implants insert in rat tibias. For this, 40 male Wistar rats were used, divided into 4 groups: 1- Placebo group (N=10): distilled water; 2- Nicotine group (N=10): application of nicotine 1.67 mg/kg; 3- Caffeine group (N=10): caffeine at a dose of 30 mg/kg; 4- Caffeine + nicotine group (N=10): caffeine at a dose of 30 mg/kg and application of nicotine 1.67 mg/kg. Distilled water and caffeine were administered via gavage daily for two weeks prior to the surgeries to install the implants and remained until the end of the experiment. Nicotine was administered via intraperitoneal injection during the same period. The animals underwent the installation of titanium implants (one in each of the tibias - Day 0). Euthanasia occurred on the 30th day after their installation. After euthanasia, one of the tibias was collected for removal torque analysis and the other for histomorphometric analysis of bone fraction occupancy inside the thread area (BAFO%) and percentage of bone-to-implant contact (BIC%). Lower removal torque values were observed for the NIC+CAF group, compared to the NIC and CAF groups alone ($p<0.05$). Concerning BAFO, it was observed that NIC+CAF presented the lowest percentages ($p<0.05$). For BIC, it was found that the CAF and CAF+NIC groups had lower percentages when compared to the NIC ($p<0.05$). It can be concluded that the association of caffeine and nicotine negatively influences the biomechanical and osseointegration of implants, reducing resistance to removal torque, bone fraction occupancy inside the thread area, and bone-to-implant contact. Furthermore, caffeine alone negatively influenced bone-to-implant contact, similar to the combination of the two substances.

Key-words: Caffeine. Nicotine. Dental implant. Osseointegration.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 CONCLUSÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	11

1 INTRODUÇÃO

A cafeína, 1,3,7-trimetilxantina, é um dos compostos psicoativos mais frequentemente ingeridos no mundo, estando presente em bebidas, alimentos e medicamentos (Heckman; Weil; Gonzales de Mejia, 2010), sendo que 80% da população mundial consome um produto contendo cafeína, pelo menos 1 vez ao dia. Estudos prévios evidenciaram o efeito negativo de altas doses de cafeína sobre o reparo ósseo inicial de defeitos críticos (Duarte et al., 2009) e alvéolos pós exodontia (Macedo; Brentegani; Lacerda, 2015), e no metabolismo ósseo (viabilidade das células ósseas, histomorfometria, e índice mineral ósseo) (Chen; Whitford, 1999; Cooper et al., 1992; Huang et al., 2002; Rapuri et al., 2001; Rapuri; Gallagher; Nawaz, 2007; Tsuang et al., 2006). Somente um estudo *in vivo* verificou o efeito da cafeína sobre a osseointegração/reparo peri-implantar, observando efeito positivo com aumento de 87% no torque de remoção e uma modulação positiva na expressão gênica de marcadores de formação e remodelação óssea e angiogênese. Entretanto, o estudo administrou a cafeína (300 mg/L), na água dos animais, *ad libitum*. Sendo assim, não se pode afirmar o quanto cada animal ingeriu de cafeína e a dose utilizada (3 mg/kg) é considerada uma dose baixa (Omar et al., 2021). O tabagismo tem sido associado à redução no reparo ósseo e a maiores falhas de implantes dentais (Cavalcanti et al., 2011; Chen et al., 2013; de Souza et al., 2013; Shibli et al., 2010). Adicionalmente, fumantes têm aumentada taxa de RANKL/OPG na saliva e no soro, principalmente devido aos reduzidos níveis de OPG (Lappin et al., 2007; Ozçaka et al., 2010). O tabagismo também provoca efeitos negativos durante processos de reparo ósseo. Em modelos animais, a exposição à nicotina inibiu a expressão de genes relacionados à atividade osteogênica como proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), COL-I, COL-II TGF- β , fosfatase alcalina (ALP), RANKL e OPG, especialmente em doses elevadas (Giorgetti et al., 2010; Ma et al., 2011; Theiss et al., 2000). A expressão de COL no tecido ósseo de ratos foi reduzida após a exposição passiva à fumaça de cigarro. Yamano et al. (2011) mostraram que os níveis de mRNA de osteopontina (OPN), COL-II, BMP-2, sialoproteína óssea (BSP) e Cbfa-1, quatro semanas após a colocação de implantes dentais, foram reduzidos em ratos expostos à nicotina, quando comparado com os controles. Chassanidis et al. (2012) enfatizaram o efeito do fumo na expressão de importantes marcadores ósseos em amostras do periósteo de humanos, apontando que os níveis de mRNA de BMP-2, BMP-4 e BMP-

6 é menor em fumantes que em não-fumantes, mecanismo pelo qual a nicotina poderia comprometer a neoformação óssea.

O consumo de cafeína é fortemente associado ao tabagismo, tanto em estudos epidemiológicos (Brice; Smith, 2002; Gurpegui et al., 2004; Istvan; Matarazzo, 1984; Swanson et al., 1997), como em estudos clínicos populacionais (Emurian et al., 1982; Reich et al., 2008). Uma análise Mendeliana de 2017, mostra que o tabagismo pesado aumenta causalmente o consumo de café. Isto é consistente com um metabolismo mais rápido da cafeína pelos tabagistas, mas também poderia refletir um efeito comportamental do fumo no consumo de café (Bjørngaard et al., 2017). Os tabagistas tendem a beber cafeína e os consumidores de cafeína tendem a fumar, estes comportamentos ocorrem frequentemente ao mesmo tempo (Emurian et al., 1982; Lane, 1996; Shiffman et al., 2002). Shiffman et al. (2002) observaram que as probabilidades de fumar aumentaram 55%, em média, durante os períodos de consumo de cafeína. Uma justificativa é que fumar aumenta o metabolismo da cafeína, exigindo que os tabagistas consumam mais cafeína para alcançar os efeitos desejados (Brown et al., 1988; Swanson et al., 1997). Além disso, os tabagistas também relatam que a palatabilidade dos cigarros é aumentada pelo consumo de cafeína, sugerindo que alguns aspectos da motivação para fumar são influenciados pelo consumo de cafeína (McClernon et al., 2007). Diversos mecanismos comportamentais e farmacológicos foram sugeridos para explicar a associação entre o consumo de cafeína e o tabagismo. Uma explicação aceitável é que a cafeína e o tabaco podem ser utilizados de forma intermutável, devido aos seus efeitos estimulantes semelhantes. Embora por diferentes vias, tanto a cafeína como a nicotina aumentam a atividade dopaminérgica (Tanda; Goldberg, 2000) e a sua popularidade deve-se, em parte, à propensão para aumentar a energia, concentração, alerta e disposição. Os indivíduos que apreciam e procuram estes efeitos podem utilizar qualquer uma das substâncias para tais resultados. Os protocolos experimentais duplo-cego em humanos também demonstraram que a cafeína e a nicotina produzem efeitos psicoativos dose-dependente, positivos e subjetivos semelhantes quando administrados individualmente (Garrett; Griffiths, 2001; Jones; Griffiths, 2003). Além disso, animais e humanos treinados para discriminar a nicotina do placebo são mais susceptíveis a identificar um placebo contendo nicotina se este seguir da administração aguda de cafeína, sugerindo que os sinais interoceptivos de nicotina e cafeína são semelhantes (Duka et al., 1998; Gasior et al., 2002). Há muitas evidências

quanto ao papel do café, quando ingerido moderadamente, e seus compostos bioativos (principalmente cafeína, fenólicos ácidos e diterpenóides, como cafestol e kahweol) na saúde, e suas implicações positivas no sistema e doenças neurológicas, e no metabolismo de lipídios e carboidratos (Cano-Marquina; Tarín; Cano, 2013; Colombo; Papetti, 2020; Gökçen; Şanlier, 2019; Hu et al., 2019; Islam et al., 2018; Lima et al., 2016).

Desta forma, considerando-se o efeito negativo exercido tanto pelo alto consumo de cafeína, como pelo tabagismo e a ausência de estudos que investiguem o efeito combinado dessas substâncias sobre o reparo ósseo, este estudo teve o objetivo de avaliar o papel da combinação da cafeína e da nicotina sobre o reparo de defeitos ósseos em ratos.

2 CONCLUSÃO GERAL

Dentro das limitações deste, a análise biomecânica e histométrica demonstram que a associação de cafeína e nicotina influencia negativamente a biomecânica e a osseointegração dos implantes, reduzindo a resistência ao torque de remoção, bem como o preenchimento da área das roscas e o contato direto osso-implante. Além disso, a cafeína isoladamente influenciou negativamente no contato direto osso/implante, de forma semelhante à associação das duas substâncias.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- Bjørngaard JH, Nordestgaard AT, Taylor AE, Treur JL, Gabrielsen ME, Munafò MR, et al. Heavier smoking increases coffee consumption: findings from a Mendelian randomization analysis. *Int J Epidemiol*. 2017 Dec 1;46(6):1958-67.
- Brice CF, Smith AP. Factors associated with caffeine consumption. *Int J Food Sci Nutr*. 2002 Jan;53(1):55-64.
- Brown CR, Jacob P, Wilson M, Benowitz NL. Changes in rate and pattern of caffeine metabolism after cigarette abstinence. *Clin Pharmacol Ther*. 1988 May;43(5):488-91.
- Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. The impact of coffee on health. *Maturitas*. 2013 May;75(1):7-21.
- Cavalcanti R, Oreglia F, Manfredonia MF, Gianserra R, Esposito M. The influence of smoking on the survival of dental implants: a 5-year pragmatic multicentre retrospective cohort study of 1727 patients. *Eur J Oral Implantol*. 2011; 4(1):39-45.
- Chassanidis CG, Malizos KN, Varitimidis S, Samara S, Koromila T, Kollia P, et al. Smoking affects mRNA expression of bone morphogenetic proteins in human periosteum. *J Bone Joint Surg Br*. 2012 Oct;94(10):1427-32.
- Chen H, Liu N, Xu X, Qu X, Lu E. Smoking, radiotherapy, diabetes and osteoporosis as risk factors for dental implant failure: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013 Aug 5;8(8):e71955.
- Chen X, Whitford GM. Effects of caffeine on fluoride, calcium and phosphorus metabolism and calcified tissues in the rat. *Arch Oral Biol*. 1999 Jan;44(1):33-9.
- Colombo R, Papetti A. An outlook on the role of decaffeinated coffee in neurodegenerative diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(5):760-79.
- Cooper C, Atkinson EJ, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL, Judd HL, et al. Is caffeine consumption a risk factor for osteoporosis? *J Bone Miner Res*. 1992 Apr;7(4):465-71.
- de Souza JG, Neto AR, Filho GS, Dalago HR, de Souza Júnior JM, Bianchini MA. Impact of local and systemic factors on additional peri-implant bone loss. *Quintessence Int*. 2013 May;44(5):415-24.
- Duarte PM, Marques MR, Bezerra JP, Bastos MF. The effects of caffeine administration on the early stage of bone healing and bone density A histometric study in rats. *Arch Oral Biol*. 2009 Aug;54(8):717-22.

Duka T, Tasker R, Russell K, Stephens DN. Discriminative stimulus properties of nicotine at low doses: the effects of caffeine preload. *Behav Pharmacol*. 1998 May;9(3):219-29.

Emurian HH, Nellis MJ, Brady JV, Ray RL. Event time-series relationship between cigarette smoking and coffee drinking. *Addict Behav*. 1982;7(4):441-4.

Garrett BE, Griffiths RR. Intravenous nicotine and caffeine: subjective and physiological effects in cocaine abusers. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001 Feb;296(2):486-94.

Gasior M, Jaszyna M, Munzar P, Witkin JM, Goldberg SR. Caffeine potentiates the discriminative-stimulus effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002 Aug;162(4):385-95.

Giorgetti AP, César Neto JB, Ruiz KG, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Cigarette smoke inhalation modulates gene expression in sites of bone healing: a study in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010 Oct;110(4):447-52.

Gökçen BB, Şanlıer N. Coffee consumption and disease correlations. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(2):336-48.

Gurpegui M, Aguilar MC, Martínez-Ortega JM, Diaz FJ, de Leon J. Caffeine intake in outpatients with schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2004;30(4):935-45.

Heckman MA, Weil J, Gonzalez de Mejia E. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *J Food Sci*. 2010 Apr;75(3):R77-87.

Hu GL, Wang X, Zhang L, Qiu MH. The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee. *Food Funct*. 2019 Jun 19;10(6):3113-26.

Huang TH, Yang RS, Hsieh SS, Liu SH. Effects of caffeine and exercise on the development of bone: a densitometric and histomorphometric study in young Wistar rats. *Bone*. 2002 Jan;30(1):293-9.

Islam MT, Tabrez S, Jabir NR, Ali M, Kamal MA, da Silva Araujo L, et al. An Insight into the Therapeutic Potential of Major Coffee Components. *Curr Drug Metab*. 2018;19(6):544-56.

Istvan J, Matarazzo JD. Tobacco, alcohol, and caffeine use: a review of their interrelationships. *Psychol Bull*. 1984 Mar;95(2):301-26.

Jones HE, Griffiths RR. Oral caffeine maintenance potentiates the reinforcing and stimulant subjective effects of intravenous nicotine in cigarette smokers. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003 Jan;165(3):280-90.

Lane JD. Association of coffee drinking with cigarette smoking in the natural environment. *Exp Clin Psychopharmacol*. 1996;4:409-12.

Lappin DF, Sherrabeh S, Jenkins WM, Macpherson LM. Effect of smoking on serum RANKL and OPG in sex, age and clinically matched supportive-therapy periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2007 Apr;34(4):271-7.

Lima VN, Oliveira-Tintino CD, Santos ES, Morais LP, Tintino SR, Freitas TS, et al. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microb Pathog*. 2016 Oct;99:56-61.

Ma L, Zwahlen RA, Zheng LW, Sham MH. Influence of nicotine on the biological activity of rabbit osteoblasts. *Clin Oral Implants Res*. 2011 Mar;22(3):338-42.

Macedo RM, Brentegani LG, Lacerda SA. Effects of coffee intake and intraperitoneal caffeine on bone repair process--a histologic and histometric study. *Braz Dent J*. 2015 Mar-Apr;26(2):175-80.

McClernon FJ, Westman EC, Rose JE, Lutz AM. The effects of foods, beverages, and other factors on cigarette palatability. *Nicotine Tob Res*. 2007 Apr;9(4):505-10.

Omar O, Abuhashish HM, Alkhamis T, Al-Qarni F. Habitual caffeine intake affects implant osseointegration: An in vivo study. *J Periodontal Res*. 2021 Dec;56(6):1070-8.

Ozçaka O, Nalbantsoy A, Köse T, Buduneli N. Plasma osteoprotegerin levels are decreased in smoker chronic periodontitis patients. *Aust Dent J*. 2010 Dec;55(4):405-10.

Rapuri PB, Gallagher JC, Kinyamu HK, Ryschon KL. Caffeine intake increases the rate of bone loss in elderly women and interacts with vitamin D receptor genotypes. *Am J Clin Nutr*. 2001 Nov;74(5):694-700.

Rapuri PB, Gallagher JC, Nawaz Z. Caffeine decreases vitamin D receptor protein expression and 1,25(OH)₂D₃ stimulated alkaline phosphatase activity in human osteoblast cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2007 Mar;103(3-5):368-71.

Reich MS, Dietrich MS, Finlayson AJ, Fischer EF, Martin PR. Coffee and cigarette consumption and perceived effects in recovering alcoholics participating in Alcoholics Anonymous in Nashville, Tennessee, USA. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008 Oct;32(10):1799-806.

Shibli JA, Piattelli A, Iezzi G, Cardoso LA, Onuma T, de Carvalho PS, et al. Effect of smoking on early bone healing around oxidized surfaces: a prospective, controlled study in human jaws. *J Periodontol*. 2010 Apr;81(4):575-83.

Shiffman S, Gwaltney CJ, Balabanis MH, Liu KS, Paty JA, Kassel JD, et al. Immediate antecedents of cigarette smoking: an analysis from ecological momentary assessment. *J Abnorm Psychol*. 2002 Nov;111(4):531-45.

Swanson JA, Lee JW, Hopp JW, Berk LS. The impact of caffeine use on tobacco cessation and withdrawal. *Addict Behav*. 1997 Jan-Feb;22(1):55-68.

Tanda G, Goldberg SR. Alteration of the behavioral effects of nicotine by chronic caffeine exposure. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000 May;66(1):47-64.

Theiss SM, Boden SD, Hair G, Titus L, Morone MA, Ugbo J. The effect of nicotine on gene expression during spine fusion. *Spine*. 2000 Oct 15;25(20):2588-94.

Tsuang YH, Sun JS, Chen LT, Sun SC, Chen SC. Direct effects of caffeine on osteoblastic cells metabolism: the possible causal effect of caffeine on the formation of osteoporosis. *J Orthop Surg Res*. 2006 Oct 7;1:7.

Yamano S, Ma AK, Shanti RM, Kim SW, Wada K, Sukotjo C. The influence of different implant materials on human gingival fibroblast morphology, proliferation, and gene expression. *Int J Oral Maxillofac implants*. 2011 Nov-Dec; 26(6):1247-55.