



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Cavidade Oral e Alimentação

Estudo Experimental

Autor : Tiago José Santos Rodrigues

2008028279

Orientador: Mestre Dr. Rodrigo Farinha Marques
Co-orientador: Prof. Doutor Silvério Cabrita

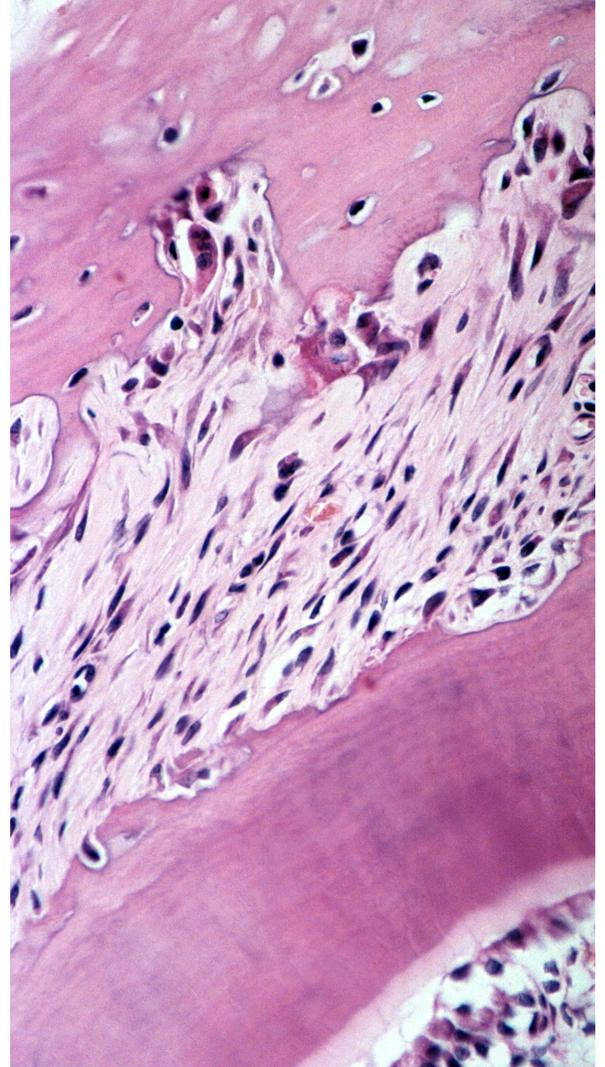
Junho de 2013

Índice

<i>Resumo</i>	5
<i>Abstract</i>	7
<i>Introdução</i>	9
<i>Material e Métodos</i>	15
<i>Resultados</i>	17
<i>Discussão Conclusões</i>	19
<i>Bibliografia</i>	21

Orientador: Mestre Dr. Rodrigo Farinha Marques
Co-orientador: Prof. Doutor Silvério Cabrita

Junho de 2013



Agradecimentos

Ao meu Orientador Mestre Dr. Rodrigo Farinha e ao meu Co-orientador Professor Doutor Silvério Cabrita pela ajuda na realização deste projeto, pela disponibilidade concedida e o empenho que demonstraram na minha tese. Foi um enorme prazer e privilégio, para mim, trabalhar convosco.

Ao Dr. Eduardo Costa pelo empenho, gratidão e disponibilidade concedida, traduzida em horas de auxílio passadas no laboratório e em casa.

Ao Mestre Eng. José Ricardo Cabeças pela pronta ajuda no tratamento estatístico de todos os resultados obtidos.

Aos meus pais, à minha irmã, aos meus avós e aos meus amigos pela ajuda, presença e compreensão deste trabalho.

Resumo

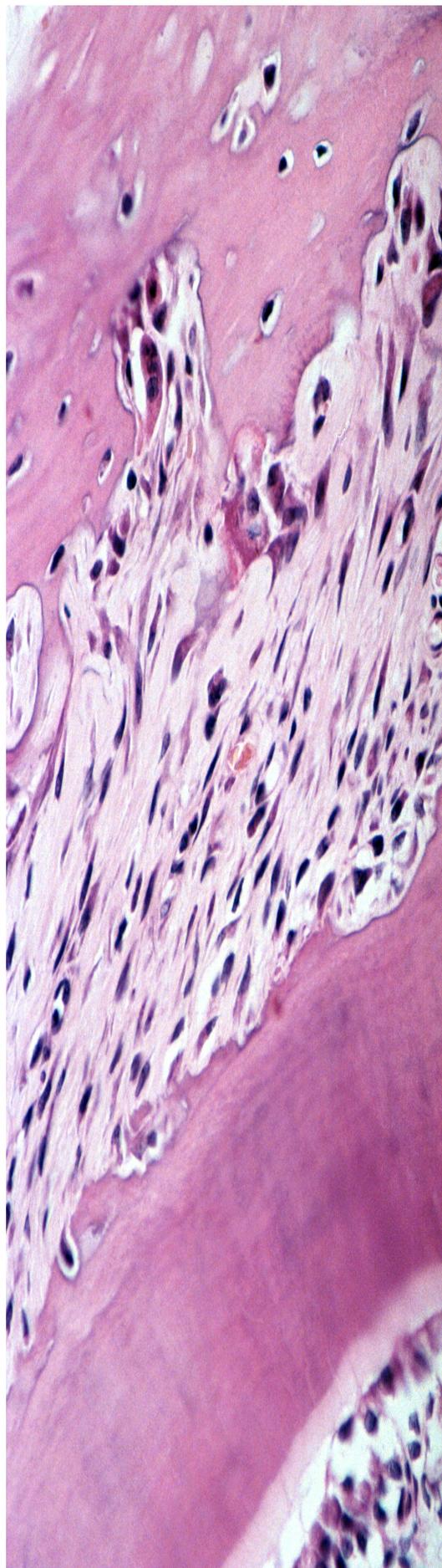
Os alimentos utilizados para a alimentação, bem como a forma de confecção e o modo como são misturados nas refeições, são elementos da maior importância para a saúde das populações. Com este estudo pretende-se avaliar a existência de alterações morfológicas no ligamento periodontal após administração de vinho tinto e de um extracto de *Genipa americana*.

Foram utilizados 30 ratos Wistar machos, com oito semanas no início do estudo, mantidos nas condições fisiológicas de manutenção e manipulação, de acordo com a legislação em vigor. Os ratos foram distribuído por três grupos com 10 animais cada um. O grupo I constitui o grupo controlo, mantido durante 8 semanas sem qualquer manipulação indutora de alterações. O grupo II foi submetido à administração de vinho tinto maduro cinco vezes por semana, durante 8 semanas, numa dose de 3,57 ml/Kg em cada toma. O grupo III foi submetido durante 8 semanas à administração de um extracto de *Genipa americana*. O extracto foi preparado por realização do sumo do fruto, retirada a casca e as sementes.

No final do período de administrações todos os animais foram sacrificados, fazendo-se de seguida a respectiva necrópsia.

No grupo I a relação entre as áreas de hialinização e a área total do ligamento (R1) foi de $0,017 \pm 0,015$ e a relação entre a área de dente-tecido duro e a área do ligamento periodontal (R2) foi de $0,896 \pm 0,497$. No grupo II, o valor de R1 foi de $0,03 \pm 0,01$ e o de R2 de $0,87 \pm 0,49$. No grupo III o valor de R1 foi de $0,03 \pm 0,03$, variando entre 0 e 0,129 e o de R2 de $0,83 \pm 0,3$, variando entre 0,39 e 1,63.

Podemos assim concluir que a administração de vinho interfere com a estrutura dentária repercutindo-se no ligamento periodontal e a administração de genipapapo não tem uma acção significativa sobre as estruturas dentárias estudadas.



Abstract

The foods used for feeding, as well as the way they're cooked and mixed in the meals, are elements of great importance to the health of populations.

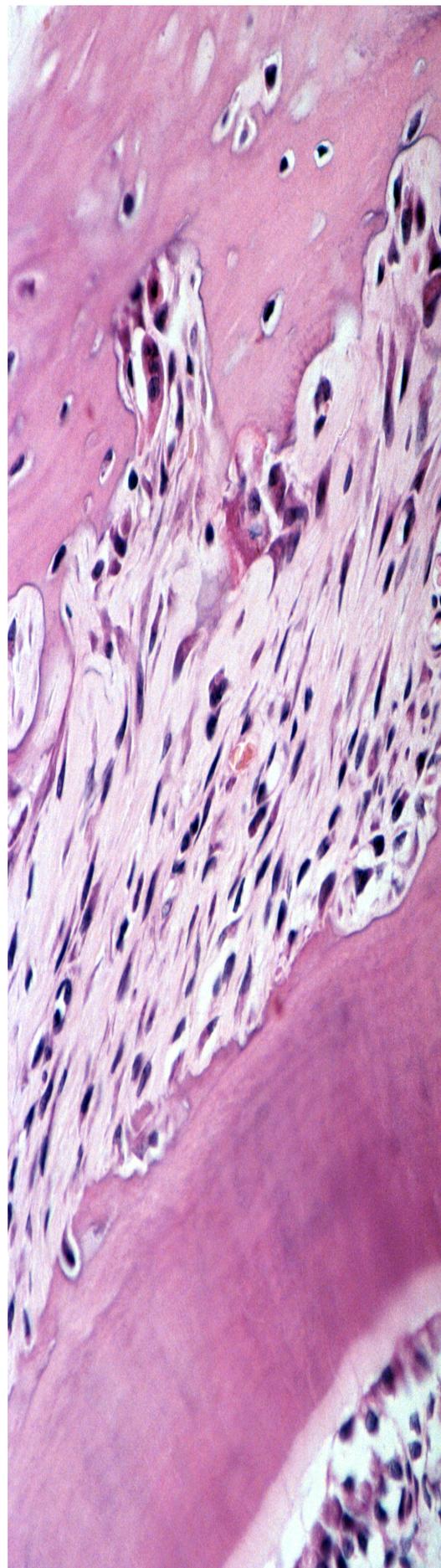
This study aims to assess the existence of morphological changes in the periodontal ligament after administration of red wine and an extract of *Genipa americana*.

30 Wistar male rats were used in this study, with eight weeks at baseline, kept under physiological conditions of maintenance and handling, in accordance with the legislation in force. The rats were distributed into three groups of 10. Group I was the control group continued for 8 weeks without any changes inducing manipulation. The Group II was submitted to the administration of mature red wine five times per week for 8 weeks at a dose of 3.57 ml / kg each takes. Group III was subjected to 8 weeks administration of an extract of *G. americana*. The extract was prepared by carrying out the juice of the fruit, the husk and seeds.

At the end of the administration, the animals were sacrificed and then the necropsy was made.

In group I, the ratio between the hyalinization areas and the total ligament area (R1) was 0.017 ± 0.015 and the ratio of the Tooth-hard tissue area and periodontal ligament area (R2) was 0.896 ± 0.497 . In group II, the value of R1 was 0.03 ± 0.01 and the R2 of 0.87 ± 0.49 . In group III, the value of R1 was 0.03 ± 0.03 varying from 0 to 0,129 and R 2 0.83 ± 0.3 , ranging from 0.39 and 1.63.

Thus we can conclude that the administration of wine interferes with the tooth structure reflecting in the periodontal ligament and administration of genipapapo doesn't have a significant action on the dental structures studied.



Introdução

Está hoje perfeitamente estabelecido que os alimentos utilizados para a alimentação, bem como a forma de confecção e o modo como são misturados nas refeições, são elementos da maior importância para a saúde das populações. A importância deste conhecimento justifica só por si a sua inclusão no conhecimento básico de cada um de nós, por ser um elemento fundamental da educação para a saúde.

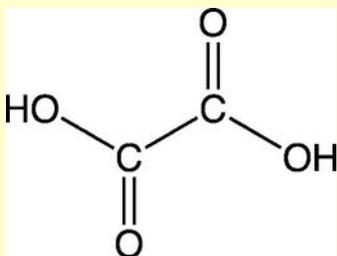
Parece-nos muito oportuno neste momento de crise social e de dificuldades financeiras aproveitar o melhor possível a alimentação como fonte de saúde e tanto quanto possível de complemento terapêutico, nomeadamente na forma de dietas. Este entendimento foi certamente o que a ADEE manifestou desde há muito, aconselhando a vertente da Nutrição e Dietética, como uma área relevante no *curriculum* da graduação em Medicina Dentária¹.

O conhecimento da utilização de alimentos como chave para a saúde parece ser algo que desde há muito foi praticado e continua ainda hoje profundamente integrado em algumas culturas. É o caso de territórios e cultura que ocupam o que hoje se designa por China. Para muitos Shennong impulsionou a transição da dieta com base em carne, moluscos e frutos selvagens para uma dieta baseada em grãos e vegetais e promoveu o desenvolvimento da medicina herbal. O conhecimento que produziu parece ter sido transmitido por tradição oral durante séculos, só muito mais tarde foi compilado em livro, sendo depois designado por Shennong Ben Cao Jing (Herbal clássico de Shennong) ou Shen nong Jing (clássico de Shen Nong). É precisamente na China que se desenvolve muito o uso da alimentação como uma vertente de terapêutica complementar^{2,3}.

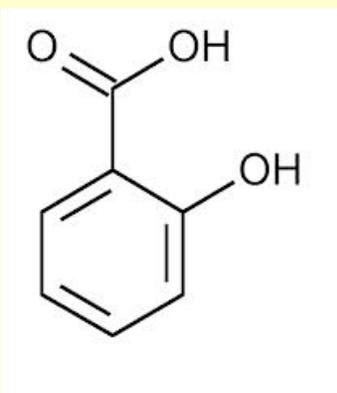
Os Chineses integraram a alimentação na sua medicina de então, a agora designada Medicina Tradicional Chinesa. Procuraram avaliar as potencialidades dos diversos alimentos a partir do sabor e de outras propriedades. Consideravam que



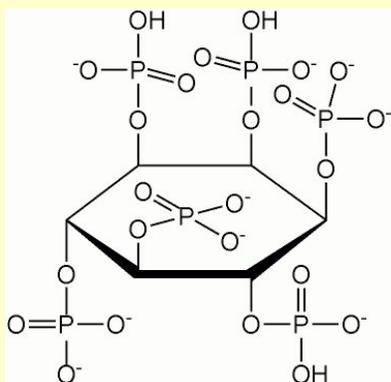
Shennong



ácido oxálico



ácido salicílico



ácido fítico

existiam os seguintes gostos: o doce, o gosto picante, o gosto salgado, o gosto ácido, o gosto amargo e o gosto neutro não identificável. Associaram a cada gosto propriedades que se exerciam sobre os órgãos e alguns agente etiológicos, permitindo assim indicar o seu uso em determinadas situações. Consideraram ainda a natureza térmica dos alimentos, considerando que podiam ser frios, frescos, morno, quentes ou neutros. Conjugando a natureza térmica dos alimentos com as situações patológicas, sugeriam os alimentos mais indicados por exemplo no casos de calor, febre, prescreviam alimentos frios. Também associaram a formar de cozinhar os alimentos com alteração de algumas das suas características em cru e da sua possível acção sobre a saúde^{4,5}.

Hoje ainda usamos alguns dos conhecimentos que os antigos nos legaram sobre os alimentos e a sua confecção, mas a este saber antigo junta-se agora um conhecimento mais profundo que o desenvolvimento da química veio tornar possível. Por exemplo, é hoje possível estabelecer o perfil químico dos diversos alimentos e identificar contaminações químicas dos alimentos. Com base no conhecimento da composição química dos alimentos é agora possível, de uma forma mais segura, organizar a nossa dieta, não fazendo misturas que são prejudiciais à saúde, recusando os alimentos contaminados ou a evitar dificuldade de absorção de alguns elementos nalgumas situações^{4,5,6}. Veja-se por exemplo o casos dos alimentos ricos em ácido oxálico (o ácido oxálico pode ser destruído durante o cozinhar) que por este motivo podem inibir a absorção de ferro e de cálcio. Entre os alimentos ricos em ácido oxálico citam-se: amaranto, cebolinhas, espinafres, mandioca e salsa⁷. Alguns alimento são ricos em ácido salicílico, que funciona como hormona vegetal nas plantas, que inibe as prostaglandinas que são mediadores de processos inflamatórios. Quanto à presença de ácido salicílico consideram-se alimentos com uma concentração muito elevada deste ácido: cogumelos, pimentão verde, azeitonas, tomate, rabanete, chicória, alperces, amoras,

mirtilos, tâmaras, passas, amêndoas, amendoins, canela, caril em pó, oregãos, páprica, cominhos, rosmaninho, tomilho, açafraão da Índia e mostarda^{8,9}. O ácido fítico encontra-se nas plantas como um composto que serve para armazenar fósforo, não sendo digerível pela espécie humana. Este ácido pode ter uma acção quelante importante sobre alguns elementos, como é o caso do ferro, e o zinco e em escala menor o cálcio e o magnésio. Para melhorar a absorção destes elementos devem evitar-se os alimentos mais ricos em ácido fítico, como por exemplo: amendoins, soja, amêndoas e coco¹⁰.

Sabemos que existem algumas interações entre alimentos e entre alimentos e fármacos. O agrião (*Nasturtium officinale*), por exemplo, possui um composto, o fenil-etil-isotiocianato que pode inibir a angiogénese. O agrião é também conhecido por inibir o citocromo P450 CYP2E1, podendo interferir com a metabolização de alguns fármacos, como é o caso do clorzoxazone. O aipo (*Apium graveolens*) pode aumentar a toxicidade de cardiotónicos e potenciar acção de hipotensores¹¹.

É muitas vezes referida a qualidade de determinados componentes nos alimentos e a sua importância para a saúde, por exemplo, a necessidade de incluir fibras na alimentação, contudo a informação sobre o teor em fibra dos alimentos é muitas vezes completamente ignorado ou assumido de forma errada.

Está hoje bem conhecida a riqueza em certos compostos que têm grande impacto na saúde, descrevendo-se o teor em colesterol dos alimentos e o índice glicémico, por exemplo.

Também temos agora identificados os alérgenos que existem em muitos alimentos e podemos combater melhor algumas alergias alimentares. Por exemplo, estão descritos casos de alergia ao abacate (*Persea americana*), de gravidade variável. No caso do aipo (*Apium graveolens*), encontram-se por vezes alergias graves, estando já bem identificados três alérgenos¹².

Por vezes, alguns interesses fazem-nos crer que existe uma grande falta de alimentos no nosso planeta, o que para muitos



Abacate



Aipo



Agrião

Produção anual per capita

abóbora	0,21 Kg
alface	3,37 Kg
batata	46,34 Kg
batata doce	14,67 Kg
beringela	5,97 Kg
bróculos	2,71 Kg
cebola	10,6 Kg
cenoura	4,79 Kg
cevada	21,69 Kg
couves	8,28 Kg
grão de bico	1,28 Kg
lentilhas	0,56 Kg
limão	1,86 Kg
maçã	9,94 Kg
milho	116,7 Kg
pepino	8,22 Kg
pêra	3,14 Kg
soja	35,6 Kg
tomate	20,82 Kg

alimentos não corresponde à verdade, talvez o que falte sejam alimentos saudáveis e uma distribuição que tenha em conta as necessidades das populações e não exclusivamente a capacidade financeira dos povos. A partir de dados disponíveis on line, podemos calcular a produção mundial de muitos alimentos e calcular que valor atinge se fosse distribuído por todas as pessoas vivas no planeta. Parece-nos que a indicação de alguns casos nos pode fazer reflectir melhor sobre a existência de alguns recursos alimentares no nosso planeta¹³.

O nosso tempo presente tem sido também povoado por um novo conceito, o de suplementos alimentares. Para muitos observa-se uma desvalorização dos alimentos e da própria dieta, por conta de suplementos alimentares. Para as pessoas com uma função digestiva normal e sem patologia, com uma alimentação com alimentos normais nas quantidades relativas adequadas, os suplementos são desnecessários e nalguns casos até podem ser prejudiciais. Os suplementos alimentares têm contudo uma aplicação em algumas situações de doença sendo bem vindos, desde que exista um rigoroso controlo de qualidade e uma informação verdadeira. Não podemos deixar de lamentar a forma como por vezes se faz reclames de alguns destes produtos ignorando por completo as provas científicas.

Está hoje bem estabelecida a caracterização química e fisiológica de algumas substâncias, por vezes usadas como suplementos alimentares ou fármacos, como é o caso do licopeno, da curcumina e da vitamina D.

O licopeno é um tetrapeno, um caroteno sem actividade de vitamina A, presente em muitos vegetais, de que se destacam a fruta "gac" (2-2,3mg/g), o tomate (8,8-42 μ g/g), a melancia (23-72 μ g/g) e a papaia (20-53 μ g/g), entre outros. Muitos estudos têm demonstrado a possibilidade do licopeno ser útil em diversas situações clínicas, incluindo o tumor epitelial da próstata^{14,15}.

A curcumina tem sido descrita, após diversos estudos, como uma molécula de origem natural com um potencial neoprotector muito interessante¹⁶.

A vitamina D é uma hormona sintetizada na pele quando exposta à radiação ultravioleta. Está intimamente ligada ao metabolismo do cálcio e do fosfato, sabendo-se que também participa em mecanismos envolvidos em processos inflamatórios e neoplásicos¹⁷.

Ainda enquadrado na alimentação /nutrição temos de incluir as bebidas. Habitualmente consideramos no grupo das bebidas, a água, os sumos naturais, as outras bebidas não alcoólicas e as bebidas alcoólicas, repartidas por dois grupos, as fermentadas e as destiladas.

O consumo de de vinho é muito comum na nossa sociedade, embora nos últimos anos exista uma tendência para a redução do consumo de vinho e um aumento do consumo de cerveja.

Tem sido muitas vezes considerado a possibilidade de haver alguns benefícios no consumo de vinho, o que nos parece paradoxal, já que o etanol é um composto muito prejudicial à saúde e muitos dos compostos a que se atribuem alguns benefícios, não isentos de toxicidade nem de possíveis efeitos colaterais indesejáveis.

Relativamente ao grupo das bebidas existem algumas questões importantes, que se referem sobretudo às quantidades usadas, à frequência da sua utilização e à presença de moléculas que possam interferir de forma importante com a saúde.

Entre as bebidas devemos ainda considerar um grupo particular, o daquelas que são preparadas para fins terapêuticos e que se incluem habitualmente na terapia herbal. Estão neste caso: as infusões, as decocções, os macerados, os filtrados e os destilados, entre muitos outros^{18,19}.

Neste estudo o foco da nossa atenção centrou-se no ligamento periodontal em casos de administração de bebidas, seleccionando-se para o estudo o vinho tinto e um extracto de *Genipa americana*.

Type to enter text

Infusão

A infusão prepara-se geralmente a partir de tecidos vegetais facilmente solúveis, em água quente ou em água fria. O tempo que demora a obter uma infusão varia habitualmente entre 15 minutos a duas horas.

Decocção

A decocção consiste habitualmente em submeter o material que possui os princípios que interessam em água a ferver até reduzir o volume desta a valor desejado. Depois de arrefecer o procedimento comum é decantar.

Macerados

Este preparados obtêm-se por maceração dos tecidos à temperatura ambiente, evitando fenómenos de fermentação ou deterioração dos produtos. Em alguns casos é um processo demorado.

Filtrados (percolare)

Os infiltrados obtêm-se por extracção dos tecidos por maceração e filtração durante um longo período, com o recurso de uma coluna.



20. Maedal, Tim; Ochil, K. "The rufini ending as the primary mechanoreceptor in the periodontal ligament: its morphology, cytochemical features, regeneration and development". *Crit Rev Oral Biol Med* 10(3):307-327 (1999).

21. Julie Teresa Marchesan, Christina Springstead Scanlon, Stephen Soehren, Masato Matsuo, and Yvonne L. Kapila. "Implications of cultured periodontal ligament cells for the clinical and experimental setting: a review". *Arch Oral Biol.* 2011 October ; 56(10): 933–943.

22. Rateitschak KH, Wolf HF. "Color Atlas of dental Medicine. Periodontology". Thieme 3ª ed (2005);7-20.

23. Eley BM, Manson JD. "The periodontal tissues". *Periodontics. Wright* 5ªed (2004);1-20.

Procurou-se avaliar a existência de alterações morfológicas, facilmente detectáveis pela histologia e análise morfométrica, que nos possibilitem relacioná-las com alguns aspectos da alimentação.

O ligamento periodontal é uma estrutura de tecido conjuntivo que estabelece a ligação entre o dente e o osso. O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo fibroso, mas rico em células. O ligamento periodontal é muito importante para a distribuição das forças geradas durante a mastigação sejam absorvidas pelo processo alveolar e para conferir alguma mobilidade ao dente^{20,21}.

As células que se encontram nesta estrutura são: osteoblastos, fibroblastos, cementoblastos, osteoclastos, cementoclastos, células precursoras e ainda algumas células epiteliais^{20,21}.

A matriz extracelular é rica em fibras, proteoglicanos e diversas glicoproteínas. As fibras são sobretudo fibras de colagénio que dispõem em cinco arranjos distintos: grupo da crista alveolar, grupo horizontal, grupo oblíquo, grupo apical e grupo inter-radicular. O grupo da crista alveolar são fibras de disposição radiada que se dirigem da crista alveolar para o cimento. O grupo horizontal caracteriza-se por se dirigir ao longo do eixo do dente, horizontalmente, do cimento para o osso. O grupo oblíquo são fibras de direcção oblíqua entre o cimento e o osso. O grupo apical dirige-se de forma radiária, da região apical da raiz do dente para o osso e, no grupo interradicular as fibras dispõem-se entre as raízes dos dentes com raízes múltiplas^{20,21,22,23}.

Material e Métodos

Neste estudo foram utilizados 30 ratos Wistar machos, com oito semanas no início do estudo, mantidos nas condições fisiológicas de manutenção e manipulação, de acordo com a legislação em vigor. Foram mantidas todas as condições ambientais que permitem assegurar condições fisiológicas dos animais em ensaio, nomeadamente, temperatura, humidade, ciclos de luz-escuro e condições do chão das gaiolas. A alimentação e o fornecimento de água foi feito tendo em conta os parâmetros anatomofisiológicos da espécie e a manutenção respeitou as condições de higiene e *stress* mínimo dos animais.

Os ratos foram distribuído por três grupos com 10 animais cada um. O grupo I constitui o grupo controlo, mantido durante 8 semanas sem qualquer manipulação indutora de alterações. O grupo II foi submetido à administração de vinho tinto maduro cinco vezes por semana, durante 8 semanas, numa dose de 3,57 ml/Kg em cada toma. O grupo III foi submetido durante 8 semanas à administração de um extracto de *Genipa americana*. O extracto foi preparado por realização do sumo do fruto, retirada a casca e as sementes.

No final do período de administrações todos os animais foram sacrificados por excesso anestésico, administrado por via intramuscular, fazendo-se de seguida a respectiva necrópsia.

A necrópsia permitiu excluir a presença de patologia não induzida. De cada animal foi colhida a mandíbula e feito o estudo dos dentes pré-molares, a partir de lâminas de HE. Foi feita avaliação histopatológica e a análise morfométrica do ligamento periodontal.

A análise morfométrica foi feita em fotografias de dentes, coradas pela Hematoxilina-Eosina, com um aumento de 50 X. Para esta análise foi usado o programa informático ImageJ .

Foi determinada a área do ligamento periodontal, as áreas de hialinização e área dos tecidos duros do respectivo dente



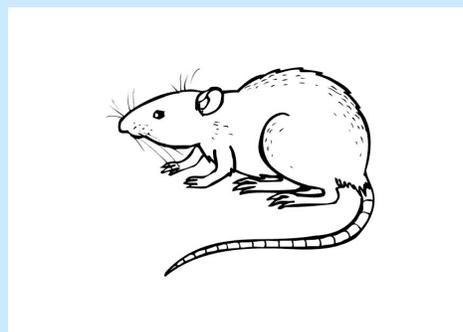
Genipa americana



Genipa americana



Vinho tinto



Rato norvegicus

envolvido pelo ligamento. Com estes elementos foi calculado para cada caso:

- relação áreas de hialinização (AH) e área total do ligamento (ALP)

$$R1 = (AH / ALP)$$

- relação área de dente-tecido duro (ADTD) e área do ligamento periodontal (ALP)

$$R2 = ADTD / ALP$$

Para cada relação foi calculado o perfil determinado pelos valores c de R1 ou R2 e os respectivos desvios padrões.

Para cada uma destas relações foram consideradas as seguintes possibilidades:

$$Rn \text{ médio,} \quad Rn \in [Rn-\delta; Rn+\delta]$$

$$Rn \text{ pequeno} \quad Rn \in]Rn-\delta; Rn-2\delta]$$

$$Rn \text{ grande} \quad Rn \in]Rn+\delta; Rn+2\delta]$$

Consideraram-se ainda os muito pequenos quando inferior aos pequenos e os muito grandes quando superiores aos grandes.

Os dados obtidos foram submetidos ao tratamento estatístico para calcular a variação para um intervalo de confiança de 95%.

Resultados

No grupo I (controlo) a avaliação histológica do ligamento periodontal mostrou não existirem alterações morfológicas significativas. A polpa dentária mostrava-se sem sinais de inflamação ou necrose. Os tecidos duros apresentavam uma histologia normal e o ligamento periodontal não apresentava sinais de patologia inflamatória ou degenerativa. O osso alveolar apresentava uma histologia normal.

Neste grupo R1 foi de $0,017 \pm 0,015$ e R2 de $0,896 \pm 0,497$. A distribuição dos valores de R2 neste grupo foi o seguinte: pequeno 2,25%, médio 92,94%, grande 4,71% .

Neste grupo a correlação (Pearson) entre área do ligamento periodontal e área de dente (tecido duro) é de 0,769 e a correlação entre a área de hialinização e área do ligamento é de 0,021.

No grupo II (administração de vinho) a avaliação histológica do ligamento periodontal evidenciou em alguns casos pequenas áreas de hialinização. Histopatologicamente não se encontraram alterações significativas da polpa, ou dos tecidos duros do dente nem do osso alveolar.

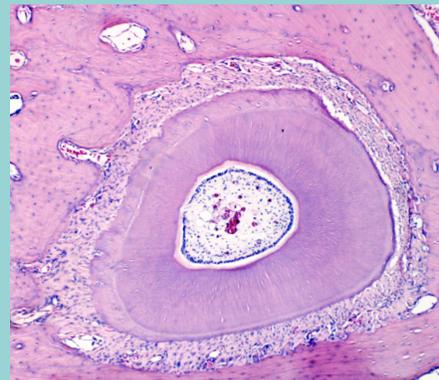
Neste grupo R1 foi de $0,03 \pm 0,01$ e R2 de $0,87 \pm 0,49$. A distribuição dos valores de R2 neste grupo foi o seguinte: pequeno 17,1%, médio 68,3%, grande 9,8.% e muito grande 4,9%.

Neste grupo a correlação (Pearson) entre área do ligamento periodontal e área de dente (tecido duro) é de 0,370 e a correlação entre a área de hialinização e área do ligamento é de 0,566.

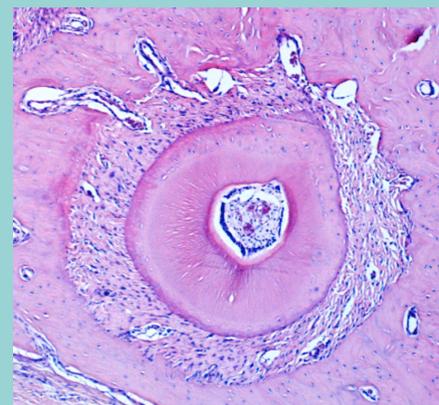
No grupo III (administração de um extracto de *Genipa*) a avaliação histológica do ligamento periodontal evidenciou em alguns casos pequenas áreas de hialinização.

Neste grupo R1 foi de $0,03 \pm 0,03$, variando entre 0 e 0,129 e

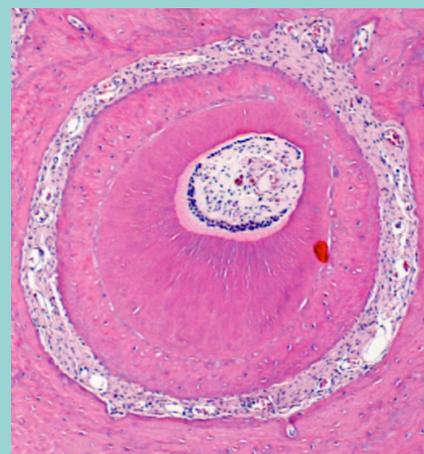
Microfotografias das estruturas dentárias



Grupo controlo, HE, 50X

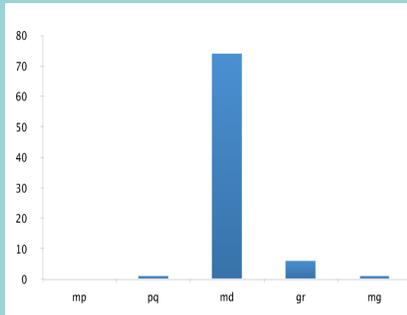


Grupo II (vinho), HE, 50X

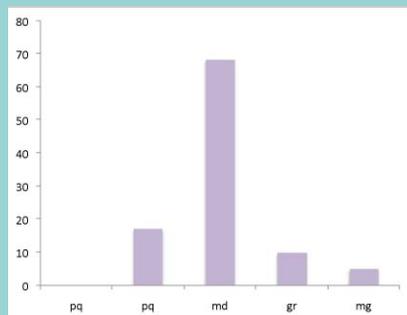


Grupo III (genipa), HE,

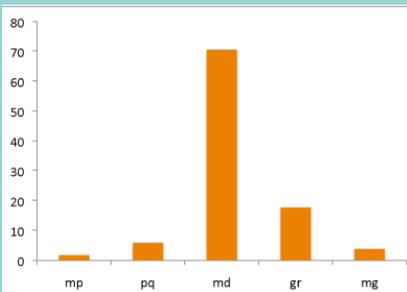
Gráficos da distribuição dos valores de R2 para os diferentes grupos



Valores de R2 para o grupo I



Valores de R2 para o grupo II



Valores de R2 para o grupo III

R2 de $0,83 \pm 0,3$, variando entre 0,39 e 1,63. A distribuição dos valores de R2 neste grupo foi o seguinte: muito pequena 1,96%, pequeno 3%, médio 70,59%, grande 17,65% e muito grande 3,92%. Neste grupo a correlação (Pearson) entre área do ligamento periodondal e área de dente (tecido duro) é de 0,869 e a correlação entre a área de hialinização e área do ligamento é de 0,052.

Tabela 1. - Descrição sucinta dos valores de Rn2 pelos grupos.

Rn2	G I	G II	G III
Muito pequenos	0	0	1,96
Pequenos	2,35	17,1	5,88
Médios	92,94	68,3	70,59
Grandes	4,71	9,8	17,65
Muito grandes	0	4,9	3,92

Discussão e Conclusões

A observação histológica mostra que não há grandes alterações morfológicas, induzidas pela administração de vinho ou de extracto de genipapo. A polpa dentária mostrava-se sem sinais de inflamação ou necrose. Os tecidos duros apresentavam uma histologia normal e o ligamento periodontal não apresentava sinais de patologia inflamatória ou degenerativa, apenas pequenas áreas de hialinização. O osso alveolar apresentava uma histologia normal. Estes dados mostram que não há alterações morfológicas importantes pelo consumo de vinho nem de extracto de genipapo, embora não seja de excluir a presença de alterações moleculares, incluindo a alteração da expressão de algumas enzimas relacionadas com o processo inflamatório.

A hialinização observada nos grupos teste têm um valor médio superior ao do grupo controlo, embora sem diferença significativa. A avaliação da área de hialinização no ligamento com a área do ligamento, apresenta contudo valores que sugerem mecanismos diferentes. No grupo controlo não existe nenhuma relação entre estas áreas (Pearson 0,021). No grupo submetido à administração de vinho quanto maior é o ligamento maior é a área de hialinização (Pearson 0,566). No grupo submetido à administração de genipapo volta a não haver relação entre a área de hialinização e a área do ligamento (Pearson 0,052). No grupo I e III as pequenas áreas de hialinização não aumentam quando aumenta a área do ligamento. No caso da administração de vinho observa-se uma tendência para o aumento das áreas hializadas quando aumenta a área do ligamento, com um aumento importante do coeficiente de Pearson, relativamente ao observados nos outros grupos. Este dado indica-nos que a acção do vinho sobre o ligamento deve ser muito diferente do que acontece com a administração de genipapo. Para completar este estudo seria interessante uma avaliação molecular do ligamento, com imunohistoquímica e com transcriptómica. Seria interessante estudar a expressão de alguns genes que por vezes

Ligamento/Tecidos duros do dente

Grupo I	C. Pearson = 0,769
Grupo II	C. Pearson = 0,370
Grupo III	C. Pearson = 0,869

Hialinização/Ligamento

Grupo I	C. Pearson = 0,021
Grupo II	C. Pearson = 0,566
Grupo III	C. Pearson = 0,052

Quadro mostrando as variações de Rn2 nos vários grupos

Rn2	G I	G II	III
Muito pequenos	0	0	↗
Pequenos	2,35	↗	↗
Médios	92,94	↘	↘
Grandes	4,71	↗	↗
Muito grandes	0	↗	↗

estão alterados em caso de apoptose (sobre-expressos: Angptl4, Anxa5, Btg2, Cd24, Cd44, Cdkn1a, Clu, Gadd45a, Gstp1, Hmox1, Nqo1, Rtn4, Socs3, Tnfrsf12a.; Subexpressos: Bmp4, Cat, Ghr, Igfbp3, Sod2) e em diversas alterações funcionais que precedem lesões moleculares.

É interessante que no grupo controlo existe uma boa relação entre a área do ligamento periodontal e a do tecido duro do dente (Pearson de 0,769). Esta relação perde-se em parte no grupo de administração de vinho, passando o coeficiente de 0,769 para 0,370. Este achado deve traduzir uma alteração dos tecidos duros, mais do que do tecido entre estes, o ligamento periodontal. Este resultado sugere que a administração de vinho pode interferir com a fisiologia dos tecidos duros e justifica um estudo mais aprofundado sobre a renovação do tecido ósseo alveolar e dos tecidos duros do dente.

No grupo em que foi feita a administração de genipapo não se observou a perda desta relação, o que interpretámos como um dado a favor de que este extracto não interfere com estes tecidos.

Podemos assim concluir que nas condições do ensaio efectuado:

A administração de vinho interfere com a estrutura dentária repercutindo-se no ligamento periodontal.

A administração de genipapao não tem uma acção significativa sobre as estruturas dentárias estudadas.

Para continuação deste estudo propõem-se a avaliação imunocitoquímica do ligamento periodontal, identificando as células em divisão e as células em apoptose e acrescentar um novo grupo com administração de vinho sem álcool para distinguir a acção dos componentes flavonóides sem a presença de alcoóis.



Bibliografia

1. <http://www.dentistryiq.com/content/dam/diq/onlinearticles/documents/2012/June/ADDE%20Survey.pdf>
2. Jin R, Lin Q, Zhang B, Liu X, Liu SM, Zhao Q, Liu XL, "A study of association rules in three-dimensional property-taste-effect data of Chinese herbal medicines based on Apriori algorithm". *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2011 Jul;9(7):794-803.
3. Jin R, Zhang B, Xue CM, Liu SM, Zhao Q, Li K. "Classification of 365 Chinese medicines in Shennong's Materia Medica Classic based on a semi-supervised incremental clustering method". *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2011 Jun;9(6):665-74.
4. Zhu FM, Du B, Li J. "Effect of ultrafine grinding on physicochemical and antioxidant properties of dietary fiber from wine grape pomace" *Food Sci Technol Int*. 2013 Jun 3.
5. Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT. "Dietary fibre in foods: a review". *J Food Sci Technol*. 2012 Jun;49(3):255-66.
6. Alvarez M, Olivares M, Blanch M, Canet W. "Mashed potatoes enriched with soy protein isolate and inulin: chemical, rheological and structural basis". *Food Sci Technol Int*. 2013 Jun 3.
7. Chakraborty N, Ghosh R, Ghosh S, Narula K, Tayal R, Datta A, Chakraborty S. "Reduction of oxalate levels in tomato fruit and consequent metabolic remodeling following overexpression of a fungal oxalate decarboxylase" *Plant Physiol*. 2013 May;162(1):364-78.
8. Cao J, Yan J, Zhao Y, Jiang W. "Effects of postharvest salicylic acid dipping on *Alternaria* rot and disease resistance of jujube fruit during storage". *J Sci Food Agric*. 2013 Apr 9.
9. Cho K, Han O, Tamogami S, Shibato J, Kubo A, Agrawal GK, Rakwal R. "Quantification of jasmonic and salicylic acids in rice

seedling leaves". *Methods Mol Biol.* 2013;956:185-200

10. Fardet A, Chardigny JM. "Plant-based foods as a source of lipotropes for human nutrition: a survey of in vivo studies". *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(6):535-90

11. Freitas E, Aires A, Rosa EA, Saavedra MJ. "Antibacterial activity and synergistic effect between watercress extracts, 2-Phenylethyl isothiocyanate and antibiotics against 11 isolates of *Escherichia coli* from clinical and animal source". *Lett Appl Microbiol.* 2013 May 18.

12. Fu N, Wang Q, Shen HL. "De novo assembly, gene annotation and marker development using Illumina paired-end transcriptome sequences in celery (*Apium graveolens* L.)". Fu N, Wang Q, Shen HL.

13. <http://www.grida.no/publications/rr/food-crisis/page/3565.aspx>

14. Nisheeth Saawarn, Shashikanth MC¹, Swati Saawarn², Vasanti Jirge³, Nallan CSK Chaitanya⁴, R Pinakapani "Lycopene in the management of oral lichen planus: A placebo-controlled study". *Indian Journal of Dental Research*, 22(5), 2011; 639-640.

15. Tapasya Vaibhav Karemore, Mukta Motwani. "Evaluation of the effect of newer antioxidant lycopene in the treatment of oral submucous fibrosis Indian" *Journal of Dental Research*, 23(4), 2012; 524-526.

16. K.Y. Yeon¹⁺, S.A. Kim¹⁺, Y.H. Kim¹, M.K. Lee², D.K. Ahn², H.J. Kim³, J.S. Kim¹, S.J. Jung^{4*}, and S.B. Oh^{1*}. "Curcumin Produces and Antihyperalgesic Effect via Antagonism of TRPV1". *J Dent Res* 89(2): 2010; 170-174.

17. Yusuke Amano, Kazuo Komiyama and Makoto Makishima. "Vitamin D and periodontal disease". *Journal of Oral Science*, Vol. 51, No. 1, 11-20, 2009.

18. Zeggwagh AA, Lahlou Y, Bousliman Y. "Survey of toxicological aspects of herbal medicine used by a herbalist in Fes, Morocco". *Pan Afr Med J.* 2013 Mar 30;14:125
19. Huet M. "Medicinal plants in cancer patients: current practices and evaluation data". *Bull Cancer.* 2013 May 1;100(5):485-495.
20. Maedal, Tim; Ochil, K. "The rufini ending as the primary mechanoreceptor in the periodontal ligament: its morphology, cytochemical features, regeneration and development". *Crit Rev Oral Biol Med* 10(3):307-327 (1999).
21. Julie Teresa Marchesan, Christina Springstead Scanlon, Stephen Soehren, Masato Matsuo, and Yvonne L. Kapila. "Implications of cultured periodontal ligament cells for the clinical and experimental setting: a review". *Arch Oral Biol.* 2011 October ; 56(10): 933–943.
22. Rateitschak KH, Wolf HF. "Color Atlas of dental Medicine. Periodontology". Thieme 3^a ed (2005);7-20.
23. Eley BM, Manson JD. "The periodontal tissues". *Periodontics.* Wright 5^aed (2004);1-20.