



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

EMILI DE LIMA MINOWA

**EFEITOS SISTÊMICOS DO CONSUMO DE VINHO
DESALCOOLIZADO NO REPARO DE ALVÉOLOS APÓS
EXTRAÇÃO DE DENTES COM PERIODONTITE APICAL
INDUZIDA EM RATOS**

Araçatuba - SP
2024

EMILI DE LIMA MINOWA

**EFEITOS SISTÊMICOS DO CONSUMO DE VINHO
DESALCOOLIZADO NO REPARO DE ALVÉOLOS APÓS
EXTRAÇÃO DE DENTES COM PERIODONTITE APICAL
INDUZIDA EM RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Tit. João Eduardo Gomes
Filho

Araçatuba - SP
2024

*Dedico este trabalho a meus familiares,
em especial aos meus pais, Patricia
Minowa e Tamaki Minowa, minha avó,
Maria de Fátima Lima e meu namorado,
João Pedro Marques. Trilhar pelos
caminhos da FOA - Unesp só foi
possível graças ao apoio de cada um,
que com o esforço e carinho me
trouxeram esperança e determinação
para ser capaz de realizar a conclusão
dessa etapa.*

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo amparo em toda suplica que tive nessa jornada. Acredito que a força que nos rege tem os motivos para estarmos onde estamos, eu não poderia ter escolhido uma realidade melhor do que a que me foi dada, cercada de pessoas que terei eternamente em meu coração.

AOS MEUS PAIS, Patricia Minowa e Tamaki Minowa, por reivindicarem o próprio bem-estar para me fornecer o que pudessem de melhor. Por tornarem meus sonhos passíveis de realização, mesmo que parecessem besteiras ou fora da nossa realidade, por me ensinarem princípios e dar a melhor educação, além do que a escola/faculdade ensina. À minha mãe por não me deixar abaixar a cabeça, mesmo que ela precisasse abaixar por mim, por mostrar que força de vontade é o que nos leva a realizar nossos desejos. Ao meu pai por fazer o que fosse necessário para trazer conforto e me ensinar que nunca se é tarde para tentar o que for. Obrigada por me amarem de todas as formas puramente por existir.

AO MEU NAMORADO, João Pedro Marques, pelo companheirismo, por ser alguém que sempre acreditou no meu potencial, mesmo que eu não enxergasse. Ele me trouxe carinho, ensinamentos e milhares de momentos únicos. E eu sei que a qualquer momento que eu precisar, ele estará lá para me ouvir e ajudar. Uma das minhas maiores sortes foi achar o meu melhor amigo como meu amor.

À MINHA FAMÍLIA, por me acolherem e estarem dispostos ao que for preciso, reunião com eles é risada garantida. Eu não tive três avós, mas minha avó Maria fez questão de fazer o papel dela e mais dos três, é minha segunda mãe e tudo que eu sentir necessidade ela faz questão de me fornecer, sempre guardarei em minha memória que meu primeiro jaleco branco foi ela quem me deu.

AOS MEUS PETS, ou doguinhos, Kitty Minowa, Pingu Minowa e Floquinho Minowa, também aos anjinhos Biju, Pildas, Smi e Fani. Tenho um carinho imenso por esses seres tão inocentes, que me forneceram apenas amor. Me acompanharam por toda jornada de estudos e foram minhas grandes companhias, me aliviaram de boa parte do estresse.

AOS MEUS AMIGOS, sempre fui alguém de poucos colegas, mas aqueles que estão ao meu lado tem meu coração por inteiro, obrigada por tornarem momentos de apuros em boas piadas, pelos conselhos que só quem passa pela vida acadêmica sabe. Eu não teria conseguido essa proeza sozinha e sinceramente não sei como será a rotina sem vocês. Em especial à minha “panelinha”, Doany Cevada ou Anão, Aninha Carreto e Tabatinha Patrícia, por trazerem meu sorriso mais sincero todo dia e por me aceitarem do jeitinho que sou, um pouco estranha, mas que minhas formas de amar tenham feito seus dias mais leves, assim como vocês fizeram os meus.

À MINHA AMIGA, Izabella Pereira, por ser uma pessoa presente independente do momento, e pensar que a sua destreza em derrubar material no chão do cursinho traria uma amizade tão linda, nos desesperamos juntas pré-vestibular e cá estamos terminando a faculdade, eu só desejo sucesso para sua vida, e obrigada por ser uma das companhias mais agradáveis que eu tenho.

ÀS MINHAS DUPLAS, de clínica, Francieli, Bianca e Anaju. Não é fácil lidar com as intercorrências nos atendimentos, e com vocês foi mais tranquilo o dia a dia, agradeço pela boa conversa e por acrescentarem conhecimento na minha profissão.

AO MEU ORIENTADOR PROF. TÍT. JOÃO EDUARDO GOMES FILHO, uma das minhas metas ao adentrar na universidade pública era realizar uma iniciação científica, e por ter confiado um projeto de tal magnitude e me dado a oportunidade de conhecer e imergir na IC eu o agradeço imensamente. Com

o professor eu pude aprender que para ter sucesso basta ser feliz e persistir tentando.

AO MEU GRUPO DE PESQUISA, Nathalia Machado, Bharbara de Moura, Rafaela Ricci, Julissa Arguello, Romulo Sales Jr. e Maria Antônia Leonardo, que são os motores de todo projeto, tudo acontece por conta de vocês, me impressiono que com pouca idade abraçaram tanta responsabilidade, eu admiro e me inspiro em cada um. Agradeço pela sorte de um grupo tão especial, em que eu me senti confortável e feliz de estar junto em cada etapa do projeto. Obrigada pela paciência e empenho de me ensinar como é a pesquisa. Em especial a Bharbara, ou “Mãe Bha”, por toda orientação durante esses quase três anos, não teria pessoa melhor para estar no seu lugar, é quem comanda tudo, sabe o que fazer e sempre nos acalma, eu só tenho a agradecer por trilhar e me guiar na pesquisa, além de compartilhar experiências e me ensinar muitas coisas além, obrigada por ser humana comigo e entender minhas limitações, poucas pessoas são capazes disso, sempre estará no meu coração como alguém exemplar e querida. Bem como agradeço aos outros IC's por todo auxílio e cumplicidade, estávamos no mesmo barco, cada um se ajudando como era possível.

ÀS AGÊNCIAS DE FOMENTO, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ/PIBIC) pelo fornecimento da minha bolsa (121372/2023-5) bem como o auxílio fornecido ao Professor Titular João Eduardo Gomes Filho pela Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo -FAPESP (2022/05023 8) o qual foi imprescindível para que o projeto existisse.

AOS PROFESSORES DA GRADUAÇÃO, por vocês eu tenho um apreço imensurável, obrigada por estarem dispostos a transmitir tanto conhecimento, pude evoluir tanto como profissional, quanto como pessoa. Especialmente ao Professor **Leonardo Perez Faverani**, nós sabemos o quanto é raro um professor ter tempo, e mesmo assim ele sempre foi uma pessoa solícita e bondosa, disposto a ajudar em qualquer situação, inclusive sendo parte

essencial para a continuação do projeto e aceitando ser parte da minha banca, é uma honra e um prazer ter conhecido um profissional como ele.

À UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”-UNESP, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do vice-diretor Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra. Terei eterno orgulho de carregar comigo o título de Unespiana, era a universidade que sempre almejei e poder vivenciar meus estudos nesse lugar é a realização de um sonho. Gostaria de mencionar também o quão grata sou por todos os funcionários que fazem a FOA acontecer.

*“Mas é claro que o sol
Vai voltar amanhã
Mais uma vez, eu sei
Escuridão já vi pior
De endoidecer gente sã
Espera que o sol já vem*

*Nunca deixe que lhe digam que não vale a
pena*

*Acreditar no sonho que se tem
Ou que seus planos nunca vão dar certo
Ou que você nunca vai ser alguém*

*Tem gente que machuca os outros
Tem gente que não sabe amar
Mas eu sei que um dia a gente aprende
Se você quiser alguém em quem confiar
Confie em si mesmo
Quem acredita sempre alcança”*

- Renato Russo

RESUMO

MINOWA, E. L. **Efeitos sistêmicos do consumo de vinho desalcoholizado no reparo de alvéolos após extração de dentes com periodontite apical induzida em ratos.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024

O objetivo do estudo consistiu em analisar os efeitos sistêmicos decorrentes da ingestão do vinho tinto desalcoholizado (VTD) no processo de reparo alveolar pós-exodontia de dentes com periodontite apical (PA) induzida em ratos. Utilizou-se uma amostra de 24 ratos machos Wistar, os quais foram distribuídos em 3 grupos distintos conforme a suplementação recebida: controle (C) - água, VTD, vinho tinto (VT). O protocolo experimental iniciou-se com a administração diária das respectivas dietas ao longo de 75 dias, sendo a dose de 4,28 mL/kg. No 15º dia de administração das dietas, ocorreu a indução da PA nos quatro primeiros molares dos animais. Após 30 dias do estabelecimento da lesão periapical, foi realizada a extração dos primeiros molares, mantendo a administração das dietas por mais 30 dias. Ao término dos 75 dias, os animais foram submetidos à eutanásia, foi coletado o sangue para análise sanguínea e as mandíbulas para posterior análise histológica. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística, considerando um nível de significância de 5%, utilizando os testes de Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls. Observou-se que o grupo VTD apresentou uma menor intensidade da resposta inflamatória local e um melhor padrão celular e estrutural do tecido ósseo quando comparado aos grupos VT e C ($p < 0,05$). Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas quanto ao padrão celular e à estrutura do tecido epitelial, bem como em relação às extensões inflamatórias entre os grupos ($p > 0,05$). Identificou-se que os grupos VTD e C permaneceram dentro dos parâmetros sanguíneos de referência, porém VT destacou-se na discrepância de valores em hemoglobina, hematócrito, VCM, plaquetas e PDW ($p < 0,05$). Conclui-se que a suplementação diária com VTD reduziu o infiltrado inflamatório e contribuiu para reparo ósseo alveolar em ratos com PA após a exodontia dentária, diferentemente de VT que aumentou a resposta inflamatória local e causou oscilação de padrões sanguíneos.

Palavras-chave: periodontite periapical; extração dentária; vinho; polifenóis; alcoolismo; remodelação óssea.

ABSTRACT

MINOWA, E. L. **Efeitos sistêmicos do consumo de vinho desalcoholizado no reparo de alvéolos após extração de dentes com periodontite apical induzida em ratos.** 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024

The aim of the study was to analyze the systemic effects resulting from the ingestion of dealcoholized red wine (DRW) on the alveolar repair process following tooth extraction of teeth with induced apical periodontitis (AP) in rats. A sample of 24 male Wistar rats was used, which were divided into 3 distinct groups based on the supplementation received: control (C) - water, DRW, red wine (RW). The experimental protocol began with daily administration of the respective diets over 75 days, at a dose of 4.28 mL/kg. On the 15th day of diet administration, AP was induced in the first molars of the animals. After 30 days from the establishment of the periapical lesion, extraction of the first molars was performed, with continued administration of the diets for another 30 days. At the end of 75 days, the animals were euthanized, blood was collected for blood analysis, and the mandibles were collected for subsequent histological analysis. The data obtained were subjected to statistical analysis, considering a significance level of 5%, using the Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis, and Student-Newman-Keuls tests. It was observed that the DRW group showed lower intensity of local inflammatory response and better cellular and structural patterns of bone tissue compared to the RW and C groups ($p < 0.05$). There were no statistically significant differences in cellular pattern and epithelial tissue structure, as well as inflammatory extents between the groups ($p > 0.05$). It was identified that the DRW and C groups remained within reference blood parameters, but RW stood out in discrepancies in values of hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), platelets, and platelet distribution width (PDW) ($p < 0.05$). It is concluded that daily supplementation with DRW reduced inflammatory infiltrate and contributed to alveolar bone repair in rats with AP after dental extraction, unlike RW which increased local inflammatory response and caused fluctuations in blood patterns.

Keywords: periapical periodontitis; tooth extraction; wine; polyphenols; alcoholism; bone remodeling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cronograma experimental.	18
Figura 2 – Procedimento de exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (A). Alvéolo logo após a extração (B).	19
Figura 3 – Análise histológica do osso alveolar após exodontia e do epitélio de revestimento de ratos com periodontite apical induzida após consumo de VTD, VT ou controle.	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Escores e Mediana atribuídos ao infiltrado inflamatório e o padrão do reparo do tecido ósseo.	23
Tabela 2 – Análise histométrica.	24
Tabela 3 – Escores e Mediana atribuídos ao infiltrado inflamatório e o padrão do reparo do tecido ósseo.	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALC	Álcool
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comitê de ética e uso em animais
CHMC	Concentração de hemoglobina corpuscular média
FAPESP	Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo
H&E	Hematoxilina e eosina
HTC	Hematócrito
PA	Periodontite apical
PDW	Largura de distribuição de plaquetas
RBC	Eritrócitos
RDW-CV	Largura da distribuição das células vermelhas
VCM	Volume corpuscular médio
VPM	Volume plaquetário médio
VT	Vinho Tinto
VTD	Vinho tinto desalcoholizado
Unesp	Universidade estadual paulista

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	1616
3 MATERIAL E MÉTODOS	17
4 RESULTADOS	22
5 DISCUSSÃO	26
6 CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXOS	43

1 INTRODUÇÃO

A periodontite apical (PA) é uma doença inflamatória decorrente de uma infecção bacteriana que afeta a polpa dentária, suas causas variam desde cáries, restaurações defeituosas, trauma ou até a falha de tratamentos endodônticos realizados anteriormente (Park, Ok-Jin, et al., 2020). A PA uma doença altamente prevalente, onde 52% da população adulta mundial tem pelo menos um dente com PA em desenvolvimento e progressão ou em processo de cicatrização, além disso, e 63% das pessoas com alguma condição sistêmica tinham pelo menos um foco de PA (Tibúrcio-Machado et al., 2021).

Em resposta à infecção causada pelos microrganismos, o sistema imunológico do hospedeiro leva à formação de um processo inflamatório e conseqüentemente à reabsorção óssea na região apical (Nair 2004; Subramanian & Mickel, 2009; Cintra et al., 2018). A presença de inflamação afeta o equilíbrio da homeostase óssea, aumentando a reabsorção e diminuindo a formação óssea. A gravidade do processo inflamatório e o volume de perda óssea são influenciados por fatores locais e sistêmicos, como citocinas e hormônios, que regulam esses processos (Holland 2017; Nair 2004; Kajiya et al., 2010).

Com o estabelecimento da periodontite apical, procedimentos endodônticos e/ou cirúrgicos como a extração dentária, são escolhidos como tratamento para neutralizar os antígenos presentes (Kasra Karamifar et al., 2020). Porém, nem sempre o tratamento endodôntico é eficaz, já que as bactérias podem persistir devido à complexidade do sistema de canais radiculares. A resolução da inflamação por meio da extração dentária é um processo ativo que envolve uma cascata de mediadores anti-inflamatórios, que são acionados para remover as células inflamatórias do local. Esse processo não se trata simplesmente de desativar as vias pró-inflamatórias (Georgiou et al., 2020). Após o controle da infecção endodôntica, ocorre a modulação do processo inflamatório, osteoclastogênese e osteogênese, e o processo de reabsorção óssea é interrompido, dando-se início ao estágio de reparo e ao processo cicatricial para resgatar a homeostase (Ricucci et al., 2014; Paula-Silva et al., 2021).

A existência focos de PA pode elevar os níveis sistêmicos de mediadores pró-inflamatórios (Cintra et al., 2016), aumentar o número de leucócitos totais, incluindo linfócitos, monócitos e eosinófilos, assim como, os sinais de inflamação crônica pela predominância de células mononucleares e menores níveis de neutrófilos (Azuma et

al., 2021). Estudos indicam que a PA pode levar a um aumento das células inflamatórias e dos mediadores inflamatórios (Cintra et al. 2014; Cintra et al., 2014 b). Os mediadores produzidos localmente atraem células inflamatórias de outras partes do corpo e se difundem para a corrente sanguínea. A inflamação é crucial na vigilância imunológica e na defesa do hospedeiro, porém, um estado inflamatório crônico de baixo grau caracteriza diversas condições patológicas, como síndrome metabólica, doença hepática gordurosa não alcoólica, diabetes mellitus tipo 2 e doença cardiovascular (Minihane et al., 2015).

O vinho tinto (VT) está entre as bebidas alcoólicas mais consumidas no mundo, e está relacionada com diversos benefícios à saúde como na prevenção e tratamento de doenças crônicas, cardiovasculares, síndrome metabólica e câncer (Pavlidou et al., 2018). O VT possui em sua composição água, etanol, glicerol, polissacarídeos, diversos ácidos e polifenóis (Snopek et al., 2018). Acredita-se que os benefícios fornecidos pelo VT são provenientes dos compostos fenólicos presentes (Haseeb et al. 2017), uma vez que pesquisas apontam que os polifenóis têm como propriedade aumentar a capacidade antioxidante do plasma humano, eliminar diversos radicais livres e a ciclooxigenase, modula leucócitos e mediadores inflamatórios (Majkić et al., 2019). A produção do VT a base de uvas Merlot abrange mais de 41 compostos, inclusos antocianinas e taninos condensados ou proantocianidinas, sendo capazes de efeitos biológicos como sequestrar ou inibir espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, transferir elétrons para radicais livres, ativar enzimas antioxidantes, melhora o estresse oxidativo e a inflamação se presente (de Araújo et al., 2021).

No geral, esses compostos podem ser divididos em flavonoides e não flavonoides. Dentre os flavonoides, que correspondem a mais de 85% dos compostos fenólicos, está a quercetina, flavonas e antocianidinas (Stockley, Teissedre, Boban, Di Lorenzo, & Restani, 2012). Essas substâncias podem ser encontradas em frutas e vegetais, compoendo cor e sabor, sintetizando enzimas e minimiza efeito de peroxidação lipídica (de Araújo et al., 2021). A quercetina, é responsável por diversas propriedades biológicas como antialérgicos, anti-inflamatórios, gastroprotetores, imunomoduladores, antitumorais, protetor cardiovascular e pode até mesmo atuar na inibição da RANKL, diminuindo atividade de osteoclastogênese, além de potencializar a capacidade da fosfatase alcalina em osteoblastos de linhagem MG-63 (Stockley, Teissedre, Boban, Di Lorenzo, & Restani, 2012; Singh et al., 2021; Wattel et al., 2004

Entretanto, em quantidades excessivas trazem danos à saúde, por isso acredita-se que as vantagens ocorram a partir do consumo moderado a baixo do VT, sendo recomendada a ingestão de aproximadamente 150 ml/dia para mulheres e 300 ml/dia para os homens (Rotondo, Di Castelnuovo, & de Gaetano, 2001; Walzem, 2008). A ingestão excessiva de bebidas alcoólicas tende a potencializar possíveis inflamações presentes no organismo, além de causar imunossupressão (Szabo & Saha, 2015). Ratos sob uma dieta alcoólica (20%) crônica submetidos à PA apresentaram maior nível de fósforo e menor valor de densidade radiográfica do que o grupo que não recebeu dieta alcóolica, a atividade da fosfatase alcalina também foi maior em ratos alcóolatrás crônicos (Dal-Fabbro et al., 2019a).

Pensando em uma alternativa que possa suprimir as características negativas do álcool presente no vinho, o processo de desalcoholização foi criado. Esse método pode não interferir no teor das concentrações dos compostos fenólicos ou pode aumentá-las no produto (Belisário-Sánchez et al., 2009, Corona, et al., 2019, Pham et al., 2019). Uma das técnicas para a desalcoholização do VT é a destilação osmótica, utiliza-se uma membrana de destilação isotérmica em que duas soluções aquosas, uma contendo os compostos voláteis, no caso o vinho, e outra sendo água. Os benefícios fornecidos por esse processo é o baixo consumo energético e sem danos térmicos aos compostos presentes na solução principal, ou seja, conservando os polifenóis do VT (Sam, Faisal Eudes, et al., 2021).

Embora o metabolismo dos polifenóis isolados tenha comprovadamente efeitos benéficos ao organismo, estudos que avaliem o conjunto de compostos fenólicos e sem interferência do ALC ainda são ausentes. Com isso, há a possibilidade do vinho tinto desalcoholizado (VTD) como um composto com produção idêntica ao VT convencional, ou seja, com maceração, fermentação e engarrafamento, apenas tendo diferenciação na desalcoholização, ter uma relevância terapêutica, principalmente se relacionado a endodontia e, mais especificamente, com os seus possíveis efeitos positivos no reparo das lesões periapicais após a extração do dente envolvido.

2 OBJETIVO

Analisar e comparar os efeitos sistêmicos do reparo dos alvéolos após a extração de dentes com periodontite apical induzida em ratos Wistar com dieta suplementada com VTD e água, via gavagem, por meio da análise histológica e hemograma completo.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar e comparar o perfil inflamatório da região de reparo periapical após a extração dentária em ratos Wistar, por meio da análise histológica em H&E;
- Analisar e comparar o ganho de peso dos animais durante o período experimental;
- Analisar o perfil hematológico por meio da contagem de leucócitos, plaquetas, eritrócitos (RBC), hemoglobina, hematócrito (HTC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHMC), volume plaquetário médio (VPM) largura da distribuição das células vermelhas (RDW-CV) e largura de distribuição de plaquetas (PDW), por meio da análise sanguínea em analisador automático;

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais in vivo propostos neste estudo foram submetidos e aprovados pelo comitê de conduta e ética no uso de animais (CEUA – FOA/Unesp) (0221-2022) da Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.

Foram utilizados ao todo 24 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando aproximadamente 250g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba- UNESP. Os animais foram mantidos em mini-isoladores (Alesco- Monte Mor, São Paulo, Brasil) com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro), foram alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 24 horas após intervenção.

3.1 Anestesia

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos dos animais foi utilizado anestesia via intra-muscular, um sedativo a base de xilazina a 2% (Dopasere, Calier S.A - Barcelona, Espanha - 10mg/kg) e um anestésico à base de cloridrato de quetamina a 10% (Vetanarcol, Konig S.A.- Avellaneda, Argentina- 50-70mg/kg).

Após a indução da lesão periapical e extração dentária foi administrado o analgésico Dipirona (Medley® Farmacêutica Ltda – Campinas, Brasil - 150mg/kg) via intravenosa, de 12 em 12 horas por um período de 3 dias.

Para eutanásia foi utilizado o Tiopental Sódico (Thiopentax® Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Itapira, SP, Brasil- 150mg/kg) e o anestésico Cloridrato de Lidocaína 20mg/ml (Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda – Anápolis, GO, Brasil - 10mg/Kg), ambos pela via intraperitoneal.

3.2 Cálculo amostral e divisão dos grupos

A amostra foi calculada com base em estudos anteriores com metodologia semelhante, com erro alfa de 5% e poder de 95%, valores satisfatórios para apresentar diferença, que foi obtida conforme exigido com mínimo de sete animais por grupo (Cintra et al., 2014; Cosme-Silva et al., 2021). Porém, considerando a longa duração do experimento e ciente da suscetibilidade a complicações, foi adicionado um animal a cada grupo, num total de oito animais por grupo.

Os animais foram alocados em 3 grupos: controle (C): ratos submetidos à extração dentária de dentes com PA; vinho tinto desalcoholizado (VTD): ratos suplementados com VTD submetidos à extração dentária de dentes com PA; e vinho tinto (VT): ratos suplementados com VT submetidos à extração dentária de dentes com PA.

3.3 Administração das dietas de suplementação

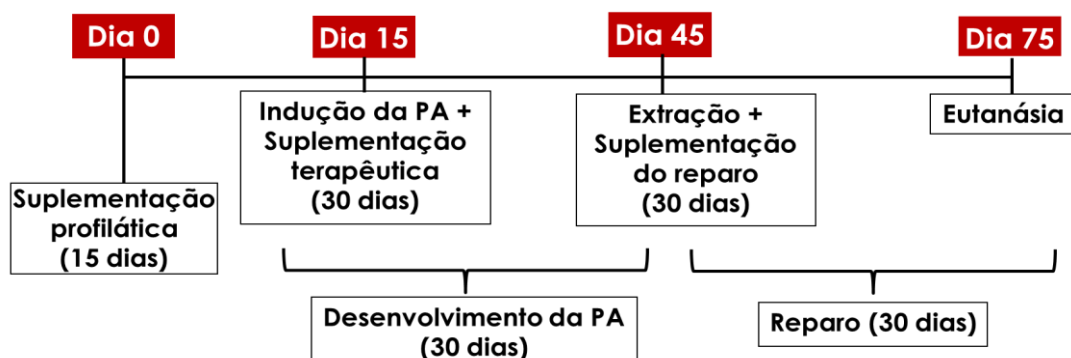
As soluções foram administradas por gavagem de forma terapêutica, tendo início antes da indução da lesão periapical por 15 dias e prolongada de por mais 30 dias durante seu desenvolvimento, e mais 30 dias após a extração dentária, totalizando 75 dias.

O VTD e o VT (Vinhoh, Bento Gonçalves, RS, Brasil) utilizados são elaborados com uvas merlot. As uvas merlot e cabernet sauvignon são as que apresentam maiores concentrações de polifenóis (Pervaiz & Holme, 2009).

A administração foi realizada diariamente pela manhã, num volume igual a 4,28 mL/kg de peso corporal dos animais para todos os grupos, conforme estudos anteriores (Schmatz et al., 2013; Dal Fabbro et al., 2021). Esta dose é equivalente a uma pessoa de 70 kg consumindo diariamente 300 mL (duas taças) de VTD.

Para o grupo C, água potável esterilizada, no mesmo volume ao VTD, foi administrada via gavagem para simular o estresse sofrido pelos outros animais. Para todos os grupos, água e ração sólida (Labina Purina®, Paulínia, Brasil) ficaram livremente disponíveis ao longo do experimento.

Figura 1 – Cronograma experimental



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.4 Avaliação da alteração de peso dos animais

Os animais foram pesados no início e ao final do experimento (75 dias). A alteração de peso foi obtida em porcentagem calculando a diferença entre o peso final e o peso inicial.

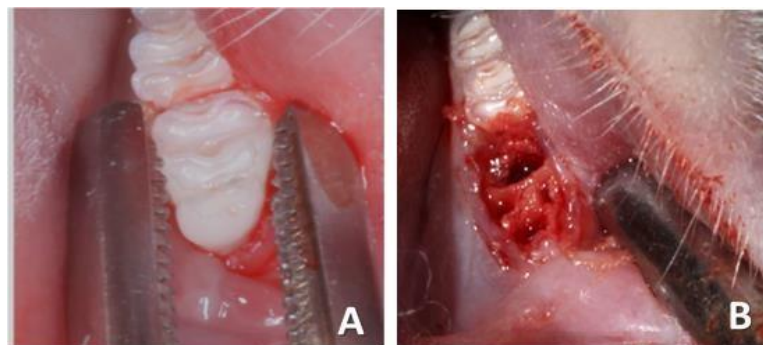
3.5 Indução da lesão periapical

A indução da lesão periapical foi realizada sob efeito de anestesia, como já citado anteriormente, foi realizada a abertura coronária dos primeiros molares superior e inferior do lado direito e esquerdo dos grupos C, VT e VTD (4 dentes) (Cintra et al., 2016) com auxílio de broca em aço carbono (Broca Ln Long Neck - Maillefer, Dentsply) com 0,05mm de diâmetro, desta forma, todas as exposições pulpares serão padronizadas com 0,05mm de diâmetro.

3.6 Exodontia

A exodontia foi realizada em todos os animais de todos os grupos sob sedação como descrito anteriormente, após 30 dias da indução da lesão periapical, os animais foram posicionados na mesa de operação; foi feita a antisepsia bucal com PVPI 10% (PVPI 10%, Riodene Degermante, Rioquímica, São José do Rio Preto), foi realizada a sindesmotomia dos tecidos adjacentes ao dente, luxação e, por fim, extração dos primeiros molares superior e inferior direito e esquerdo, utilizando materiais cirúrgicos odontológicos adaptados aos animais (Figura 2)(Okamoto & Russo, 1973).

Figura 2 – Procedimento de exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (A). Alvéolo logo após a extração (B).



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.6 Análise sanguínea

Ao final do período experimental, ou seja, no dia da eutanásia, os animais foram novamente anestesiados com o mesmo protocolo já descrito anteriormente, e uma punção cardíaca foi realizada para coletar 5 mL de sangue. As amostras foram colocadas em EDTA 10% e homogeneizado para processamento. Os seguintes parâmetros do hemograma foram analisados por meio de um analisador automático (ABX Micros ABC et; Horiba ABX Diagnostics, Montpellier, França): leucócitos, plaquetas, RBC, hemoglobina, HTC, VCM, HCM, CHCM, RDW-CV e PDW (Azuma et al., 2021).

3.6 Coleta das amostras e processamento laboratorial

Decorrido o período total de experimento (75 dias), os animais foram anestesiados, conforme protocolo descrito anteriormente, e eutanasiados com 150mg/Kg de Tiopental, e a mandíbula do lado esquerdo de cada animal foi coletada (Cintra et al. 2016).

A mandíbula esquerda foi fixada em solução de formol a 4%, tamponado com pH neutro, durante 24 horas e depois lavadas em água corrente por 12 horas. Após a fixação, as mandíbulas foram desmineralizadas em solução de EDTA 10%, lavadas em água corrente, desidratadas em álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Após inclusão, foram obtidos cortes semi-seriados com 5 µm de espessura, realizados em micrótomo (Leica - RM 2045). Para a técnica de coloração, os cortes foram desparafinizados em xilol, reidratados em série crescente de etanol e lavados em água corrente. Em seguida, para a coloração de HE, corados em solução de Hematoxilina de Harris, lavados em água corrente, imersos em solução de Eosina e novamente lavados em água corrente. Os cortes foram desidratados em série crescente de etanol, diafanizados em xilol e as lâminas montadas em Permount.

3.7 Análise histológica

Foi realizada análise descritiva e qualitativa. As lâminas contendo os cortes representativos de cada espécime foram avaliadas sob a microscopia óptica de ambas.

A análise descritiva consistiu na descrição dos fenômenos histopatológicos, procurando caracterizá-los globalmente em função das variáveis experimentais (Gomes-Filho et al., 2015).

A análise qualitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando as magnitudes dos fenômenos histopatológicos de forma dissociada por meio da análise histológica das mandíbulas, que serve para caracterização do perfil inflamatório dos alvéolos em processo de reparo (Gomes-Filho et al., 2015; Ervolino et al., 2019). O alvéolo do primeiro molar inferior esquerdo foi escolhido para ser a região de interesse (ROI) para esta análise. A análise histológica foi baseada em Statkiewicz et al., (2018). Os seguintes parâmetros foram avaliados na ROI (I): 1) intensidade da resposta inflamatória local; 2) extensão do processo inflamatório; 3) padrão celular e estrutural do tecido epitelial; 4) padrão celular e estrutural do tecido conjuntivo; 5) padrão celular e estrutural de ossos e tecidos.

Análise histométrica também foi utilizada para a análise qualitativa, a quantidade total de tecido ósseo foi calculada utilizando software de análise de imagens do próprio microscópio (Leica QWin Plus - Leica Microsystems, Nussloch – Germany) examinados em aumento de 2.5X. A seguir, a porcentagem da área do tecido ósseo recém-formado e a área inflamada foram calculadas e comparadas utilizando o mesmo software (Martelli et al., 2017).

3.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por meio do programa SigmaPlot 14.0™ (Chicago, IL, EUA) e foi utilizado nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para todas as análises estatísticas. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para distribuição normal, e para as análises que não seguirem uma distribuição normal foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Para os valores para cada um dos parâmetros hematológicos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey, para dados não paramétricos foi utilizado o teste de Dunn.

Para as análises histológicas foram atribuídos escores, e quando observada alguma diferença significativa, foi realizado o cruzamento entre os grupos, pelo teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls.

4 RESULTADOS

4.1 Condição de saúde geral e controle da alteração de peso dos animais

Durante o experimento o estado de saúde geral dos animais se manteve adequada. Na fase precoce com a suplementação profilática todos os grupos tiveram o aumento esperado de peso. Porém, após a indução da PA no 15º dia e exodontia no 45º dia os ratos tiveram um leve decréscimo de peso, que ao decorrer de seus desenvolvimentos se normalizaram. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa em relação a diferença entre o peso final e o peso inicial na comparação entre grupos ($P < 0,05$).

4.2 Análise Histológica

Os resultados da análise histológica podem ser encontrados na tabela 2 e as imagens representativas de cada grupo podem ser observados na figura 2. A presença de células inflamatórias foi estatisticamente maior nos grupos controle e VT, ambos com uma mediana de 3.5 ($P < 0,05$). No grupo VTD, a maioria dos animais apresentou ausência de infiltrado inflamatório, com uma mediana de 2 ($P < 0,05$). Estatisticamente, os grupos C e VTD mantiveram-se semelhantes em relação à cobertura de área de tecido conjuntivo e ósseo, ambos com uma mediana de 4 ($P < 0,05$). O grupo VTD teve uma mediana de 3.5, indicando uma extensão inflamatória ligeiramente menor ($P < 0,05$). O preenchimento ósseo foi estatisticamente diferente no grupo VTD, com uma mediana de 1, indicando melhor preenchimento ósseo ($P < 0,05$). Os grupos C e VT mantiveram-se sem diferenças significativas, ambos com uma mediana de 2.5. A presença de tecido epitelial para a recuperação do local da extração foi estatisticamente similar entre os grupos C, VT e VTD, todos com uma mediana de 1, indicando ausência de diferenças significativas entre os grupos ($P < 0,05$).

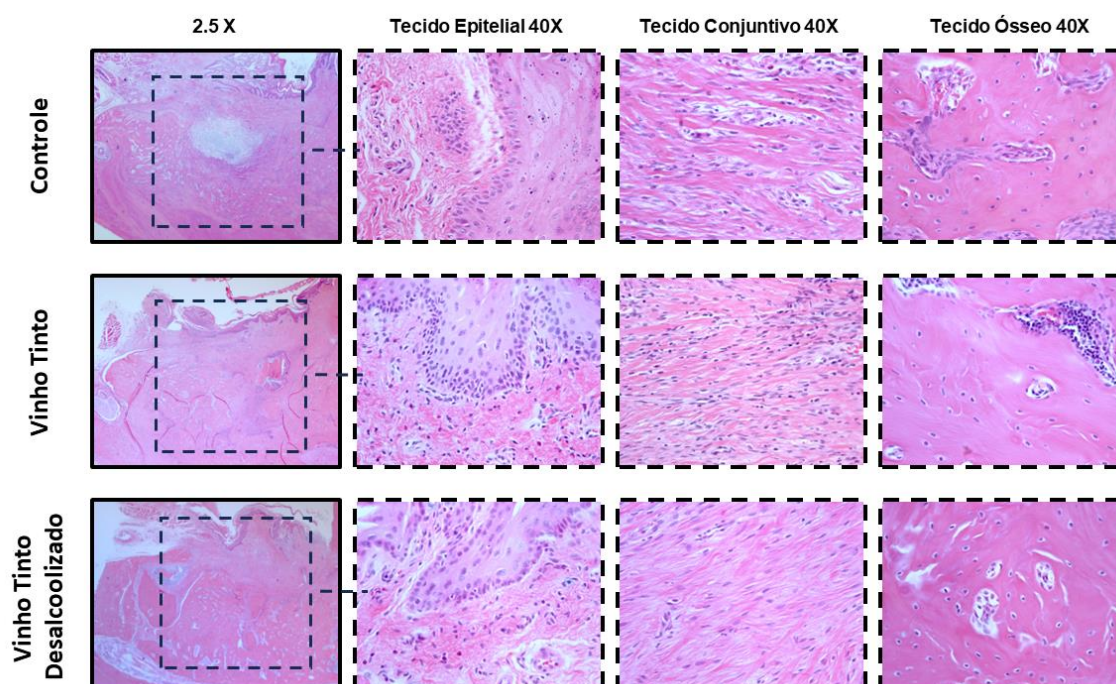
Tabela 1 - Escores e Mediana atribuídos ao infiltrado inflamatório e o padrão do reparo do tecido ósseo.

Parâmetros e escores		Grupos			
		C (n=8)	VT(n=8)	VTD(n=8)	
Intensidade da resposta inflamatória local	1 - Ausência de inflamação;	0	3	6	P<0,05
	2 - Quantidade leve de células inflamatórias;	1	0	1	
	3 - Quantidade moderada de células inflamatória	3	1	1	
	4 - Quantidade grave de células inflamatórias.	4	4	0	
Mediana		3,5 ^a	3,5 ^a	2 ^b	
Extensões inflamatórias	1 - Ausência de inflamação;	1	1	2	P>0,05
	2 - Extensão parcial do tecido conjuntivo;	1	1	1	
	3 - Extensão completa do tecido conjuntivo, sem atingir o tecido ósseo;	1	2	0	
	4 - Extensão total do tecido conjuntivo e do tecido ósseo;	5	4	5	
Mediana		4 ^a	4 ^a	3,5 ^a	
Padrão celular e estrutura do tecido epitelial	1 - Tecido epitelial com espessura moderada recuperando completamente o local da extração;	8	5	7	P>0,05
	2 - Tecido epitelial com espessura fina recuperando completamente o local da extração;	0	1	1	
	3 - Camada fina de tecido epitelial apenas nas bordas da ferida cirúrgica aberta;	0	1	0	
	4 - Ausência de tecido epitelial na ferida cirúrgica aberta;	0	1	0	
Mediana		1 ^a	1 ^a	1 ^a	
Padrão celular e estrutura do tecido ósseo	1 - Ausência de osso não vital nas imediações do local de extração e preenchimento ósseo trabecular em mais da metade do alvéolo dentário;	1	3	8	P<0,05
	2 - Ausência de osso não vital nas imediações do local de extração e preenchimento ósseo trabecular em menos da metade do alvéolo dentário;	3	1	0	
	3 - Presença de ossos não vitais em áreas adjacentes ao local de extração e preenchimento ósseo trabecular em menos de um terço do alvéolo dentário;	3	3	0	
	4 - Presença de muitas áreas com osso não vital em áreas adjacentes ao local de extração e preenchimento ósseo trabecular em menos de um terço do alvéolo dentário;	1	1	0	
Mediana		2,5 ^a	2,5 ^a	1 ^b	

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

*Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística, considerando um nível de significância de 5%, utilizando os testes de Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls. As diferentes letras minúsculas na mesma linha mostram as diferenças estatísticas.

Figura 3 – Análise Histológica



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Aspectos histológicos do local da extração dentária e área adjacente. Fotomicrografias mostrando características histológicas do tecido conjuntivo e tecidos ósseos no local da extração e área adjacente aos 28 dias pós-operatórios. Coloração: HE. Ampliação original: 400x.

4.3 Análise Histométrica

As áreas de lesão foram maiores no grupo VT quando comparados com o VTD ($P < 0,05$) durante todo o período experimental. O tamanho das lesões dos grupos C e VT foram semelhantes ($P < 0,05$). As áreas de tecido ósseo do grupo VTD apresentaram maior área quando comparado com os grupos C e VT (Tabela 2).

Tabela 2 – Análise histométrica.

Grupos	Área da Lesão (mm ²)	Área do Tecido ósseo (mm ²)	Valor de P
C	7,348 ±1,570 ^a	5,070 ±1,671 ^a	P<0,05
VT	7,923 ±1,742 ^a	4,940±0,973 ^a	
VTD	5,798 ±0,675 ^b	6,514±0,719 ^b	

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

*Média ± desvio padrão obtida no teste ANOVA e as diferentes letras minúsculas na mesma coluna mostram as diferenças estatísticas encontradas no teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os grupos.

4.4 Análise do Sanguínea

O resultado dos parâmetros sanguíneos dos glóbulos vermelhos (plaquetas, RBC, hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, RDW-CV, VPM, PDW) podem ser observados na Tabela 3, em relação aos glóbulos brancos, não houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre grupos e todos os valores estão dentro dos valores de referência ($P < 0,05$).

Tabela 3 – Média e desvio padrão desvio padrão dos parâmetros celulares dos glóbulos vermelhos do sangue.

Parâmetros Hematológicos	Valores de Referência	Grupos (média±DP)		
		C	VT	VTSA
RBC 10 ¹² /L	7,21–9,12	8,682±0,515 ^a	9,625±1,573 ^a	9,056±1,520 ^a
Hemoglobina (g/dL)	12,80–15,80	15,800±1,277 ^a	17,850±2,209 ^b	15,113±0,455 ^a
Hematócrito (%)	40,50–49,81	46,444±3,617 ^a	52,500±7,616 ^b	42,759±1,389 ^a
VCM (f)	49,20–60,61	53,233±1,972 ^a	54,025±1,545 ^b	51,462±0,883 ^a
CHCM (g/dL)	29,56–34,80	34,656±1,015 ^a	34,925±0,512 ^a	35,250±0,607 ^a
RDW-CV (%)	13 – 18,4	14,156±0,617 ^a	14,338±0,870 ^a	13,663±0,630 ^a
Plaquetas (103/μL)	412,25–849,25	811,111±89,505 ^a	756,250±91,486 ^b	695,000±80,000 ^b
VPM (fL)	6,9 – 8,0	7,033±0,656 ^a	7,138±0,354 ^a	7,088±0,309 ^a
PDW (fL)	6,75–8,85	15,944±0,456 ^a	16,587±0,528 ^b	15,913±0,405 ^a

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

*Média ± desvio padrão obtida no teste ANOVA e as diferentes letras minúsculas na mesma linha mostram as diferenças estatísticas encontradas no teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os grupos. Os valores de referência vêm do artigo de Patel et al. (2024), He et al. (2017) e Lima et al. (2014).

O grupo C apresentou o menor índice de RBC dentro dos valores de referência, seguido pelo grupo VTD, que também estava dentro do padrão. Em contraste, o grupo VT obteve uma média de RBC acima do valor de referência. Para Hemoglobina, Hematócrito e VCM, os grupos C e VTD permaneceram dentro da faixa de referência, apresentando quantidades similares, enquanto o grupo VT foi o único a apresentar um desvio significativo dos parâmetros estabelecidos, com valores mais altos.

O grupo VTD apresentou o maior valor de CHCM, enquanto os grupos C e VT permaneceram dentro dos valores de referência. No caso do RDW-CV, todos os grupos mantiveram padrões similares, com o grupo VTD mais próximo do valor mínimo, mas ainda dentro da referência estabelecida.

A contagem de plaquetas no grupo C foi significativamente maior em comparação com os grupos VT e VTD. Embora todos estivessem dentro dos valores de referência, a discrepância foi notória, com o grupo VTD apresentando o menor valor. Para VPM, todos os grupos mantiveram-se dentro da faixa de referência, sem desvios significativos entre eles. Em relação ao PDW, todos os grupos apresentaram valores abaixo da faixa de referência, com o grupo VT destacando-se por ter o maior valor entre os grupos.

4 DISCUSSÃO

Este estudo representa uma abordagem inovadora ao analisar, em ratos, o efeito da suplementação diária de VTD no reparo dos alvéolos dentários afetados pela PA. A análise, conduzida de maneira local e sistêmica, considerou parâmetros hematológicos e histológicos das áreas de extração. Assim, hipótese nula foi rejeitada no presente estudo, uma vez que a suplementação diária de VTD demonstrou reduzir a resposta inflamatória e melhorar a qualidade do tecido ósseo alveolar em dentes afetados pela PA, os polifenóis presentes na composição podem ter efeitos sinérgicos na modulação da resposta inflamatória e na promoção da regeneração óssea.

O volume das bebidas que foram utilizadas foi baseado em estudos que recomendam o consumo de 300 ml/dia de vinho tinto para um humano de 70 kg, por isso, a dose utilizada para a suplementação foi calculada com base no peso diário dos animais (Pavlidou et al., 2018). O VTD oferece diversos benefícios à saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças crônicas, cardiovasculares, síndrome metabólica e câncer (Pavlidou et al., 2018). Sua principal propriedade protetora está na capacidade de combater o estresse oxidativo e atenuar a inflamação causada pelas espécies reativas de oxigênio (EROs), conforme evidenciado por Wagner et al. (2019) e Movahed et al. (2012).

O modelo animal foi escolhido para a realização deste estudo pela ampla aceitação em pesquisas com bebidas alcoólicas. Os ratos apresentam características fisiológicas e neurobiológicas semelhantes às dos humanos, além de oferecerem conveniência experimental graças à facilidade de manuseio, ao baixo custo e diversas informações científicas disponíveis (Malherbe & Messaoudi, 2022; Ponnappa & Rubin, 2000).

Para simular a remoção da infecção e inflamação associadas à PA, como comumente realizados nos tratamentos endodônticos humanos, utilizamos a extração dentária. Esse procedimento permitiu observar a resolução direta do processo inflamatório e o subsequente reparo ósseo alveolar. O desenho experimental foi delineado conforme estudos anteriores de Gomes-Filho et al. (2015) e Tobias Duarte et al. (2014), que corroboram que 30 dias são suficientes para o desenvolvimento e comprometimento do tecido ósseo periapical, que garante o tempo adequado para a exodontia. Hassumi et al. (2018) afirma que 28 dias são suficientes para observar a consolidação óssea e o reparo ósseo. Assim definimos o período experimental de 75

dias e a avaliação do tecido ósseo, foi realizada através da análise histológica avaliando inflamação, tecido epitelial, conjuntivo e ósseo (Ervolino et al., 2019).

O reparo ósseo em locais de extração comprometidos pode ser significativamente retardado em comparação com o processo de reparo observado após a extração de dentes de sítios saudáveis (Ahn & Shin, 2008). Em sítios doentes, a formação fibrosa do tecido cicatricial, em vez de osso, pode ser um resultado inevitável, mesmo que seja utilizado um protocolo rigoroso que envolva desbridamento cuidadoso e intervalos de cicatrização que se estendam além de 12 semanas (Kim et al., 2014). Os resultados do grupo C, mostram animais que passaram pela indução da PA e da exodontia com a suplementação de água obtiveram uma intensidade da resposta inflamatória que variou de moderada a grave, com células inflamatórias envolvendo todo o tecido conjuntivo e ósseo. Observou-se tecido ósseo de espessura moderada, recuperando completamente o local da extração. E o padrão celular e estrutural do tecido ósseo revelou que o preenchimento ósseo trabecular ocorreu em menos da metade do alvéolo, com ou sem a presença de osso não vital nas redondezas do local de extração.

Corroborando com Kim et al. (2017) que também avaliou padrões de reparo ósseo em locais de extração com histórico de periodontite e PA em um modelo canino, mostrando que a PA influencia significativamente o reparo dos alvéolos após a extração, retardando e comprometendo a formação e maturação óssea (Kim et al., 2017; Pietrokovski & Massler, 1967). Um histórico de patologia periodontal e endodôntica resulta na presença de tecido de granulação inflamatório, formação tardia da medula óssea e alteração na orientação das fibras do ligamento periodontal, que afetam o processo de reparo (Amler, 1969).

Neste estudo, o grupo suplementado com VT apresentou uma resposta inflamatória moderada, com tendência para maior gravidade e extensão inflamatória envolvendo todos os tecidos conjuntivo e ósseo. Apesar disso, o tecido epitelial mostrou boa recuperação, e o tecido ósseo apresentou regeneração moderada, embora algumas áreas ainda contivessem osso não vital. Esses resultados corroboram a literatura, que destaca a atividade anti-inflamatória do vinho tinto (Dal-Fabbro et al., 2021; Wagner et al., 2019).

A suplementação com VT demonstrou um efeito positivo na redução da inflamação e na qualidade do tecido ósseo alveolar neste estudo. Dal-Fabbro et al.

(2021) relataram que a suplementação profilática de VT reduziu a intensidade inflamatória em ratos com periodontite apical induzida.

No estudo conduzido por Dal-Fabbro et al., que avaliou a suplementação com VT no desenvolvimento da PA, também foi realizada a suplementação com dois polifenóis isolados, Resveratrol e Quercetina, combinados e sem a presença do componente alcoólico. Os animais que receberam essa suplementação com Resveratrol+Quercetina apresentaram resultados estatisticamente superiores em comparação com o grupo controle, que recebeu suplementação de água. Esses resultados mostram uma resposta inflamatória diminuída e um tamanho menor da lesão, conforme detectado pela microtomografia, além de uma expressão aumentada de osteoprotegerina. Isso indica que tanto o VT quanto os compostos presentes no vinho, como os polifenóis, possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias significativas (Dal-Fabbro et al., 2021).

Entretanto, a resposta inflamatória no grupo VT foi moderada, com uma tendência para maior gravidade, possivelmente é devido à presença do componente alcoólico em sua composição. Esse achado é corroborado por um estudo in vivo realizado com ratos com periodontite apical, que demonstrou que a ingestão de álcool (ALC) resultou em redução da área óssea cortical, das taxas de formação óssea e das taxas de deposição mineral, especialmente a partir de 8,1% v/v de ALC (Hogan et al., 1997). Além disso, o efeito é agravado pelo aumento da resposta inflamatória local e reabsorção óssea (Almeida et al., 2020). Em outro estudo avaliando a PA em ratos submetidos ao consumo de ALC nas concentrações de 14%, 25% e 36% tiveram agravamento com aumento da resposta inflamatória local e reabsorção óssea (Almeida et al., 2020). Em concentrações de 20%, a dieta alcoólica com teve um efeito significativo na gravidade da periodontite apical em ratos. (Dal-Fabbro et al., 2019c). Todavia, mesmo que em concentrações baixas (5% e 10%), não se obteve um efeito positivo na defesa em comparação aos ratos do grupo controle (Dal-Fabbro et al., 2019a).

Essas diferenças podem ser observadas nos resultados do grupo VTD evidenciam a diferença entre a ausência e a presença de álcool no vinho. Os animais suplementados com VTD apresentaram ausência de inflamação, e nenhum deles desenvolveu inflamação grave. Quando houve inflamação, ela se estendeu para os tecidos conjuntivo e ósseo. A espessura do tecido epitelial foi moderada, com recuperação completa do local da extração, e todos os animais mostraram ausência

de osso não vital e preenchimento trabecular em mais da metade do alvéolo. O que indica que a suplementação diária de VT e VTD, pode interferir no processo de reparo ósseo. Os resultados apontam melhor qualidade e estrutura do tecido ósseo nos animais que receberam a suplementação com VTD comparado ao grupo VT e C ($p < 0,05$).

A PA crônica também está associada a uma inflamação sistêmica de baixo grau com imunossupressão compensatória, impactando negativamente a formação e remodelação óssea após a extração (Cardaropoli, Araújo, Lindhe, 2003). A reparação da PA em dentes tratados endodonticamente depende de vários fatores terapêuticos, condições clínicas, fatores locais e sistêmicos podem afetar a o reparo de lesões periapicais, como nutrição, estresse, debilitação crônica, hormônios, vitaminas, desidratação, resposta imune comprometida, as alterações na renovação óssea, mudanças na vascularização, suprimento de oxigênio e idade (Holland et al., 2017; Segura-Egea et al., 2023). A resposta imune inata desempenha um papel crucial como a primeira linha de defesa contra patógenos, iniciando os processos de reparo tecidual. Qualquer condição sistêmica que afete a função das células imunes inatas, reduzindo a quimiotaxia ou a atividade fagocítica de neutrófilos e macrófagos, pode retardar a cicatrização de feridas e prejudicar a regeneração pulpar ou periapical (Lin & Rosenberg, 2011).

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a observar o perfil hematológico de ratos para examinar a influência do VT e VTD, na homeostase corporal em resposta ao reparo após a extração de dentes comprometidos com PA, sugerindo uma adaptação do sistema imunológico. A análise comparativa da homeostase das células sanguíneas foi realizada com base em um estudo que estabeleceu intervalos de referência específicos para parâmetros hematológicos e bioquímicos (Patel et al., 2024; He et al., 2017; Lima et al., 2014). Os resultados hematológicos indicam que a suplementação com VT e VTD afeta significativamente alguns parâmetros do sangue em comparação ao grupo C,

O grupo VT demonstrou aumentos significativos em hemoglobina, hematócrito, VCM e PDW, enquanto o grupo VTD não apresentou diferenças estatisticamente significativas em comparação ao grupo C para a maioria dos parâmetros analisados. Os glóbulos brancos neste estudo mantiveram padrões normais e sem diferenças estatisticamente significativas. Esses achados sugerem que o VT, tanto alcoólico quanto desalcoholizado, pode influenciar marcadores hematológicos. O grupo VT

mostrou efeitos mais pronunciados em relação à hemoglobina média e proteína transportada pelos eritrócitos. O grupo VT apresentou um aumento significativo de hemoglobina ($17,850 \pm 2,209$) em comparação com os grupos C ($15,800 \pm 1,277$) e VTD ($15,113 \pm 0,455$), ainda dentro dos valores de referência (12,80–15,80). Acredita-se que o aumento esteja relacionado com a presença do componente alcoólico (12,5%) no VT, possivelmente devido à influência do álcool nos níveis de ferritina, uma proteína de armazenamento de ferro que pode aumentar a absorção de ferro da dieta (Charlton et al., 1964; Milman & Pedersen, 2009). Este pode ser um efeito sistêmico do processo inflamatório da PA que afeta a disponibilidade de ferro por meio da ação bacteriana, prejudicando a eritropoiese (Ross, 2017).

Anormalidades relacionadas ao álcool na produção de glóbulos vermelhos manifestam-se não apenas na medula óssea, mas também pela presença de glóbulos vermelhos defeituosos no sangue (Ballard, 1997). Para o hematócrito, o grupo VT apresentou um valor significativamente mais alto em comparação com os outros grupos, embora todos estejam dentro dos valores de referência (40,50–49,81). O número aumentado de hemácias pode levar a uma condição chamada macrocitose, frequentemente associada ao abuso de álcool. A macrocitose resulta em hemólise devido a anormalidades estruturais, produzindo menos células sanguíneas maduras ou não funcionais, geralmente ligadas à anemia (Ballard, 1997).

Neste estudo, todos os grupos apresentaram o VMC dentro dos valores de referência (49,20–60,61), mas apenas o grupo VT apresentou um VCM médio significativamente maior que os grupos C e VTD, indicando que, apesar do aumento, não ocorreu anemia como relatado por Ballard, 1997. Assim como, um aumento do VCM não leva automaticamente ao diagnóstico de macrocitose. Células com um aumento do VCM podem ser encontradas em pacientes com deficiência de ácido fólico ou vitamina B12 (como na anemia megaloblástica), distúrbios hormonais ou doença hepática crônica (Ballard, 1997; Akhtar et al., 2020).

Houve também um aumento significativo nos parâmetros plaquetários. O grupo C apresentou contagem de plaquetas significativamente maior que os grupos VT e VTD. A média de PDW no grupo VT foi estatisticamente maior que o controle e VTD, todos dentro dos valores de referência. Essa alteração pode estar relacionada à influência do álcool no fator de ativação do plasminogênio tecidual, que permite a degradação parcial das plaquetas, fazendo com que continuem circulando com função alterada (Xanthopoulou et al., 2017). O consumo excessivo de álcool provoca um

aumento significativo nos níveis de leucócitos, plaquetas e volume corpuscular médio no sangue, indicando uma relação com reagentes de fase aguda da inflamação e liberação de calprotectina neutrofílica (Niemelä et al., 2022). Além disso, os polifenóis presentes na composição do VT e VTD podem inibir a ligação entre plaquetas e fibrinogênio, alterando seu papel normal na coagulação (Rabai et al., 2010). Isso pode explicar por que o grupo VT teve um aumento significativo, enquanto o grupo VTD não apresentou alteração se mantendo dentro dos padrões de referência.

A diferença nos efeitos hematológicos causados entre VT e VTD pode ser atribuída ao álcool, e a sua sinergia com outros componentes do VT, como os polifenóis que atuam na modulação dos parâmetros sanguíneos. As diferenças significativas da comparação dos parâmetros sanguíneos do grupo VTD com os grupos C e VT sugerem que a remoção do álcool do VT pode reduzir ou eliminar alguns dos efeitos fisiológicos observados. Este resultado é importante para entender que o álcool pode ser um componente ativo responsável por certas alterações hematológicas. E os polifenóis presentes no VT e VTD podem ter contribuído para a redução do estresse oxidativo e inflamação, promovendo um ambiente favorável para o reparo tecidual.

Mais estudos longitudinais são necessários para avaliar os efeitos contínuos da suplementação com VT e VTD nos parâmetros sanguíneos, na modulação inflamatória, regeneração óssea e cicatrização de tecidos. Além disso, é essencial comparar os resultados com outros estudos que investigam diferentes intervenções nutricionais ou farmacológicas para melhorar os parâmetros hematológicos e a cicatrização. Estudos clínicos também são fundamentais para validar os achados experimentais em humanos, garantindo a segurança e eficácia da suplementação com VT e VTD em contextos clínicos. Isso permitirá explorar como a suplementação com VTD pode ser integrada em estratégias de prevenção e tratamento de doenças periapicais e sua resolutividade.

A convergência desses resultados sugere que a combinação de estratégias nutricionais, como a suplementação de VTD pode oferecer benefícios adicionais no tratamento de condições periapicais, favorecendo as respostas regenerativas ósseas e modulando a inflamação.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a suplementação com VTD apresentou uma menor modulação da resposta inflamatória e maior área de reparação do tecido ósseo dos alvéolos dentários de dentes com PA. A suplementação com VT resultou em aumento significativo de hemoglobina, hematócrito, VCM, plaquetas e PDW, indicando uma influência negativa que pode estar ligado à presença do componente alcoólico.

REFERÊNCIAS

- Ahn, JJ., & Shin, HI. (2008). Bone tissue formation in extraction sockets from sites with advanced periodontal disease: a histomorphometric study in humans. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 23(6), 1133-1138. PMID: 19216285.
- Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, v. 27, n. 3, p. 309-318, mar. 1969. DOI: 10.1016/0030-4220(69)90357-0.
- Akhtar, M., Mehmood, R., Ullah, H., Irfan, M. Quality, quantity and hematological disorders in blood under Ethanol analyte: an in vitro study. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 33, n. 2, p. 561-566, mar. 2020. PMID: 32276898.
- Azuma MM, Cardoso CBM, Samuel RO, Pipa CB, Bomfim SRM, Narciso LG, Gomes-Filho JE, Cintra LTA. Omega-3 Fatty Acids Alter Systemic Inflammatory Mediators Caused by Apical Periodontitis. *J Endod*. 2021 Feb;47(2):272-277. doi: 10.1016/j.joen.2020.11.015. Epub 2020 Nov 24. PMID: 33245969.
- Ballard HS. The hematological complications of alcoholism. *Alcohol Health & Research World*, v. 21, n. 1, p. 42-52, 1997.
- Bau, M., Zacharias, P., Ribeiro, DA., Boaron, L., Steckert Filho, A., & Kotze, PG.
- Belisario-Sánchez YY, Taboada-Rodríguez A, Marín-Iniesta F, López-Gómez A. Dealcoholized wines by spinning cone column distillation: phenolic compounds and antioxidant activity measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *J Agric Food Chem*. 2009 Aug 12;57(15):6770-8. doi: 10.1021/jf900387g. PMID: 19588980.
- Cardaropoli, G., Araújo, M., & Lindhe, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 30, n. 9, p. 809-818, set. 2003. DOI: 10.1034/j.1600-051x.2003.00366.x.
- Charlton, R. W., Jacobs, P., Seftel, H., Bothwell, TH. Effect of alcohol on iron absorption. *British Medical Journal*, v. 2, n. 5422, p. 1427-1429, dez. 1964. DOI: 10.1136/bmj.2.5422.1427.

Cintra LT, da Silva Facundo AC, Prieto AK, Sumida DH, Narciso LG, Mogami Bomfim SR, Oliveira e Silva C, Dezan-Júnior E, Gomes-Filho JE. Blood profile and histology in oral infections associated with diabetes. *J Endod.* 2014 Aug;40(8):1139-44. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.034. Epub 2014 Apr 13. PMID: 25069921.

Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, de Queiróz AO, Ervolino E, Sumida DH, de Lima VM, Gomes-Filho JE. Multiple Apical Periodontitis Influences Serum Levels of Cytokines and Nitric Oxide. *J Endod.* 2016 May;42(5):747-51. doi: 10.1016/j.joen.2016.01.022. Epub 2016 Apr 5. PMID: 27059651.

Cintra LT, Samuel RO, Azuma MM, Ribeiro CP, Narciso LG, de Lima VM, Sumida DH, Coclete GA, Dezan-Júnior E, Gomes-Filho JE. Apical periodontitis and periodontal disease increase serum IL-17 levels in normoglycemic and diabetic rats. *Clin Oral Investig.* 2014b Dec;18(9):2123-8. doi: 10.1007/s00784-014-1192-7. Epub 2014 Jan 25. PMID: 24464218.

Cintra LTA, Estrela C, Azuma MM, Queiroz ÍOA, Kawai T, Gomes-Filho JE. Endodontic medicine: interrelationships among apical periodontitis, systemic disorders, and tissue responses of dental materials. *Braz Oral Res.* 2018;32(suppl 1):e68. Published 2018 Oct 18. doi:10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0068.

Corona O, Liguori L, Albanese D, Di Matteo M, Cinquanta L, Russo P. Quality and volatile compounds in red wine at different degrees of dealcoholization by membrane process. *Eur Food Res Technol.* 2019;245:2601–2611. doi:10.1007/s00217-019-03376-z.

Cosme-Silva, L., Dal-Fabbro, R., Cintra, LTA., Ervolino, E., Prado, ASD., Oliveira, D. P., Marcelos, P. G. C. L., Gomes-Filho, JE. Dietary supplementation with multi-strain formula of probiotics modulates inflammatory and immunological markers in apical periodontitis. *Journal of Applied Oral Science*, v. 29, e20210483, 25 jan. 2021. DOI: 10.1590/1678-7757-2020-0483.

Dal-Fabbro R, Cosme-Silva L, Rezende Silva Martins de Oliveira F, Capalbo LC, Piazza FA, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Effect of red wine or its polyphenols on induced apical periodontitis in rats. *Int Endod J.* 2021 Dec;54(12):2276-2289. doi: 10.1111/iej.13633. Epub 2021 Oct 4. PMID: 34534374.

Dal-Fabbro R, Marques de Almeida M, Cosme-Silva L, Neto AHC, Salzedas LMP, Cintra LTA, Filho JEG. Chronic alcohol consumption changes blood marker profile and bone density in rats with apical periodontitis. *J Investig Clin Dent*. 2019a Aug;10(3):e12418. doi: 10.1111/jicd.12418. Epub 2019 Apr 8. PMID: 30963730.

Dal-Fabbro R, Marques-de-Almeida M, Cosme-Silva L, Capalbo LC, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Effects of different alcohol concentrations on the development of apical periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2019b Dec;108:104538. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.104538. Epub 2019 Aug 25. PMID: 31476521.

Dal-Fabbro R, Marques-de-Almeida M, Cosme-Silva L, Ervolino E, Cintra LTA, Gomes-Filho JE. Chronic alcohol consumption increases inflammation and osteoclastogenesis in apical periodontitis. *Int Endod J*. 2019c Mar;52(3):329-336. doi: 10.1111/iej.13014. Epub 2018 Sep 26. PMID: 30218448.

de Almeida JM, Pazmino VFC, Novaes VCN, Bomfim SRM, Nagata MJH, Oliveira FLP, Matheus HR, Ervolino E. Chronic consumption of alcohol increases alveolar bone loss. *PLoS One*. 2020 Aug 20;15(8):e0232731. doi: 10.1371/journal.pone.0232731. PMID: 32817640; PMCID: PMC7446912.

de Araújo FF, de Paulo Farias D, Neri-Numa IA, Pastore GM. Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chem*. 2021 Feb 15;338:127535. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127535. Epub 2020 Jul 9. PMID: 32798817.

Ervolino, E.; Statkiewicz, C.; Toro, L. F.; et al. Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*, v. 120, p. 101-113, 2019. DOI: 10.1016/j.bone.2018.10.014.

Georgiou AC, Crielaard W, Ouwering P, McLean W, Lappin DF, van der Waal SV. The influence of apical periodontitis on the concentration of inflammatory mediators in peripheral blood plasma and the metagenomic profiling of endodontic infections: Study design and protocol. *Contemp Clin Trials Commun*. 2020 Dec 5;21:100686. doi: 10.1016/j.conctc.2020.100686. PMID: 33490705; PMCID: PMC7810621.

Gomes-Filho JE, Wayama MT, Dornelles RC, Ervolino E, Yamanari GH, Lodi CS, Sivieri-Araújo G, Dezan-Júnior E, Cintra LT. Raloxifene modulates regulators of osteoclastogenesis and angiogenesis in an oestrogen deficiency periapical lesion model. *Int Endod J*. 2015 Nov;48(11):1059-68. doi: 10.1111/iej.12403. Epub 2014 Nov 18. PMID: 25354165.

Haseeb S, Alexander B, Baranchuk A. Wine and Cardiovascular Health: A Comprehensive Review. *Circulation*. 2017 Oct 10;136(15):1434-1448. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030387. PMID: 28993373.

He Q, Su G, Liu K, Zhang F, Jiang Y, Gao J, Liu L, Jiang Z, Jin M, Xie H. ex-specific reference intervals of hematologic and biochemical analytes in Sprague-Dawley rats using the nonparametric rank percentile method. *PLoS One*, v. 12, n. 12, art. e0189837, 20 dez. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0189837.

Hogan HA, Sampson HW, Cashier E, Ledoux N. Alcohol consumption by young actively growing rats: a study of cortical bone histomorphometry and mechanical properties. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997 Aug;21(5):809-16. PMID: 9267530.

Holland R, Gomes JE Filho, Cintra LTA, Queiroz ÍOA, Estrela C. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. *J Appl Oral Sci*. 2017 Sep-Oct;25(5):465-476. doi: 10.1590/1678-7757-2016-0464. PMID: 29069143; PMCID: PMC5804382.

Kajiyama M, Giro G, Taubman MA, Han X, Mayer MP, Kawai T. Role of periodontal pathogenic bacteria in RANKL-mediated bone destruction in periodontal disease. *J Oral Microbiol*. 2010 Nov 8;2. doi: 10.3402/jom.v2i0.5532. PMID: 21523224; PMCID: PMC3084575.

Karamifar K, Tondari A, Saghiri MA. Endodontic Periapical Lesion: An Overview on the Etiology, Diagnosis and Current Treatment Modalities. *Eur Endod J*. 2020 Jul 14;5(2):54-67. doi: 10.14744/eej.2020.42714. PMID: 32766513; PMCID: PMC7398993.

Kikura, M., Levy, JH., Safon, RA., Lee, MK., Szlam, F. The influence of red wine or white wine intake on platelet function and viscoelastic property of blood in volunteers. *Platelets*, v. 15, n. 1, p. 37-41, fev. 2004. DOI: 10.1080/0953710032000158772.

Kim DM., Lim HC., Hong JY., Shin SI., Chung JH., Herr Y., Shin SY. Validity of Collagen Plugs for Ridge Preservation in a Canine Model. *Implant Dentistry*, v. 26, n. 6, p. 892-898, dez. 2017. DOI: 10.1097/ID.0000000000000696.

Kim JH., Susin C., Min JH., Suh HY., Sang EJ., Ku Y., Wikesjö UM., Koo KT. Extraction sockets: erratic healing impeding factors. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 41, n. 1, p. 80-85, jan. 2014. DOI: 10.1111/jcpe.12173.

Lima, C. M., Lima, A. K., Melo, M. G. D., Dória, G. A. A., Serafini, M. R., Albuquerque-Júnior, R. L. C., & Araújo, A. A. S. (2014). Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena*, v. 10, n. 3, 2014. Disponível em: <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1784>.

Lin, LM., Rosenberg, PA. Repair and regeneration in endodontics. *International Endodontic Journal*, v. 44, n. 10, p. 889-906, out. 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2591.2011.01915.x.

Majkić TM, Torović LD, Lesjak MM, Četojević-Simin DD, Beara IN. Activity profiling of Serbian and some other European Merlot wines in inflammation and oxidation processes. *Food Res Int*. 2019 Jul;121:151-160. doi:10.1016/j.foodres.2019.03.033. Epub 2019 Mar 15. PMID: 31108736.

Malherbe, DC., & Messaoudi, I. Transcriptional and epigenetic regulation of monocyte and macrophage dysfunction by chronic alcohol consumption. *Frontiers in Immunology*, v. 13, article 911951, 29 jun. 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.911951.

Martelli SJR, Damian MF, Gomes APN, Schinestsck AR, Silva AER, Vasconcelos ACU. Comparison of effects of zoledronic acid and clodronate on the bone structure: imaginological and histomorphometrical study in vivo. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, v. 46, n. 8, p. 632-636, set. 2017. DOI: 10.1111/jop.12546.

Milman, N., Pedersen, AN. Blood haemoglobin concentrations are higher in smokers and heavy alcohol consumers than in non-smokers and abstainers: should we adjust the reference range? *Annals of Hematology*, v. 88, n. 7, p. 687-694, jul. 2009. DOI: 10.1007/s00277-008-0647-9.

Minihane AM, Vinoy S, Russell WR, Baka A, Roche HM, Tuohy KM, Teeling JL, Blaak EE, Fenech M, Vauzour D, McArdle HJ, Kremer BH, Sterkman L, Vafeiadou K, Benedetti MM, Williams CM, Calder PC. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr.* 2015 Oct 14;114(7):999-1012. doi: 10.1017/S0007114515002093. Epub 2015 Jul 31. PMID: 26228057; PMCID: PMC4579563.

Movahed, A., Yu, L., Thandapilly, S. J., Louis, X. L., & Netticadan, T. Resveratrol protects adult cardiomyocytes against oxidative stress mediated cell injury. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 527, n. 2, p. 74-80, 15 nov. 2012. DOI: 10.1016/j.abb.2012.05.002.

Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004 Nov 1;15(6):348-81. doi: 10.1177/154411130401500604. PMID: 15574679.

Niemelä O, Halkola AS, Bloigu A, Bloigu R, Nivukoski U, Pohjasniemi H, Kultti J. Blood Cell Responses Following Heavy Alcohol Consumption Coincide with Changes in Acute Phase Reactants of Inflammation, Indices of Hemolysis and Immune Responses to Ethanol Metabolites. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 22;23(21):12738. doi: 10.3390/ijms232112738. PMID: 36361528; PMCID: PMC9656529.

Okamoto T, de Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev Fac Odontol Aracatuba.* 1973;2(2):153-69. PMID: 4523734.

Park OJ, Jeong MH, Lee EH, Cho MR, Hwang J, Cho S, Yun CH, Han SH, Kim SY. A Pilot Study of Chronological Microbiota Changes in a Rat Apical Periodontitis Model. *Microorganisms.* 2020 Aug 2;8(8):1174. doi: 10.3390/microorganisms8081174. PMID: 32748824; PMCID: PMC7464309.

Patel, S., Patel, S., Kotadiya, A., Patel, S., Shrimali, B., Joshi, N., Patel, T., Trivedi, H., Patel, J., Joharapurkar, A., & Jain, M. (2024). Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Laboratory Animal Research*, v. 40, n. 1, art. 7, 2024. DOI: 10.1186/s42826-024-00194-7.

Paula-Silva FWG, Arnez MFM, de Campos Chaves Lamarque G, Petille R, Ribeiro-Santos FR, de Sena MF, Nelson-Filho P, da Silva LAB. Osteoclast formation, inflammation, and matrix metalloproteinase-9 are downregulated in bone repair following root canal treatment in dogs teeth. *Clin Oral Investig*. 2021 Jul;25(7):4699-4707. doi: 10.1007/s00784-021-03784-0. Epub 2021 Jan 15. PMID: 33449195.

Pavlidou E, Mantzorou M, Fasoulas A, Tryfonos C, Petridis D, Giaginis C. Wine: An Aspiring Agent in Promoting Longevity and Preventing Chronic Diseases. *Diseases*. 2018 Aug 8;6(3):73. doi: 10.3390/diseases6030073. PMID: 30096779; PMCID: PMC6165230.

Pervaiz S, Holme AL. Resveratrol: its biologic targets and functional activity. *Antioxid Redox Signal*. 2009 Nov;11(11):2851-97. doi: 10.1089/ars.2008.2412.

Pham DT, Stockdale VJ, Wollan D, Jeffery DW, Wilkinson KL. Compositional Consequences of Partial Dealcoholization of Red Wine by Reverse Osmosis-Evaporative Perstraction. *Molecules*. 2019 Apr 10;24(7):1404. doi: 10.3390/molecules24071404. PMID: 30974766; PMCID: PMC6480466.

Pietrokovski, J., & Massler, M. Ridge remodeling after tooth extraction in rats. *Journal of Dental Research*, v. 46, n. 1, p. 222-231, jan.-fev. 1967. DOI: 10.1177/00220345670460011501.

Ponnappa, BC., & Rubin, E. Modeling alcohol's effects on organs in animal models. *Alcohol Research & Health*, v. 24, n. 2, p. 93-104, 2000.

Rabai, M., Toth, A., Kenyeres, P., Mark, L., Marton, Z., Juricskay, I., Toth, K., Czopf, L. In vitro hemorheological effects of red wine and alcohol-free red wine extract. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, v. 44, n. 3, p. 227-236, 2010. DOI: 10.3233/CH-2010-1267.

Ricucci D, Siqueira JF Jr, Loghin S, Lin LM. Repair of extensive apical root resorption associated with apical periodontitis: radiographic and histologic observations after 25 years. *J Endod*. 2014 Aug;40(8):1268-74. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.008. Epub 2014 Mar 6. PMID: 25069947.

Ross AC. Impact of chronic and acute inflammation on extra- and intracellular iron homeostasis. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 106, Suppl 6, p. 1581S-1587S, dez. 2017. DOI: 10.3945/ajcn.117.155838.

Rotondo S, Di Castelnuovo A, de Gaetano G. The relationship between wine consumption and cardiovascular risk: from epidemiological evidence to biological plausibility. *Ital Heart J.* 2001 Jan;2(1):1-8. PMID: 11214695.

Sam FE, Ma T-Z, Salifu R, Wang J, Jiang Y-M, Zhang B, Han S-Y. Techniques for Dealcoholization of Wines: Their Impact on Wine Phenolic Composition, Volatile Composition, and Sensory Characteristics. *Foods.* 2021; 10(10):2498. doi: 10.3390/foods10102498.

Schmatz R, Mann TR, Spanevello R, Machado MM, Zanini D, Pimentel VC, Stefanello N, Martins CC, Cardoso AM, Bagatini M, Gutierrez J, Leal CA, Pereira LB, Mazzanti C, Schetinger MR, Morsch VM. Moderate red wine and grape juice consumption modulates the hydrolysis of the adenine nucleotides and decreases platelet aggregation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Biophys.* 2013 Mar;65(2):129-43. doi: 10.1007/s12013-012-9407-5. PMID: 22956389.

Segura-Egea, JJ., Cabanillas-Balsera, D., Martín-González, J., Cintra, LTA. Impact of systemic health on treatment outcomes in endodontics. *International Endodontic Journal*, v. 56, Suppl 2, p. 219-235, mar. 2023. DOI: 10.1111/iej.13789.

Singh P, Arif Y, Bajguz A, Hayat S. The role of quercetin in plants. *Plant Physiol Biochem.* 2021 Sep;166:10-19. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.05.023. Epub 2021 May 29. PMID: 34087741.

Snopek L, Mlcek J, Sochorova L, Baron M, Hlavacova I, Jurikova T, Kizek R, Sedlackova E, Sochor J. Contribution of Red Wine Consumption to Human Health Protection. *Molecules.* 2018; 23(7):1684. doi: 10.3390/molecules23071684.

Statkiewicz, C., Toro, L. F., de Mello-Neto, J. M., de Sá, D. P., Casatti, C. A., Issa, J. P. M., Cintra, L. T. A., de Almeida, J. M., Nagata, M. J. H., Garcia, V. G., Theodoro, L. H., Ervolino, E. Photomodulation multiple sessions as a promising preventive therapy for medication-related osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, v. 184, p. 7-17, jul. 2018. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.05.004.

Stockley C, Teissedre PL, Boban M, Di Lorenzo C, Restani P. Bioavailability of wine-derived phenolic compounds in humans: a review. *Food Funct.* 2012 Oct;3(10):995-1007. doi: 10.1039/c2fo10208k. Epub 2012 Jun 22. PMID: 22728778.

Subramanian K, Mickel AK. Molecular analysis of persistent periradicular lesions and root ends reveals a diverse microbial profile. *J Endod.* 2009 Jul;35(7):950-7. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.010. PMID: 19567313.

Szabo G, Saha B. Alcohol's Effect on Host Defense. *Alcohol Res.* 2015;37(2):159-70. PMID: 26695755; PMCID: PMC4590613.

Tibúrcio-Machado CS, Michelon C, Zanatta FB, Gomes MS, Marin JA, Bier CA. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Endod J.* 2021 May;54(5):712-735. doi: 10.1111/iej.13467. Epub 2021 Jan 22. PMID: 33378579.

Tobias Duarte, PC., Gomes-Filho, JE., Ervolino, E., Marçal Mazza Sundefeld, ML., Tadahirowayama, M., Lodi, CS., Dezan-Júnior, E., & Angelo Cintra, LT. Histopathological condition of the remaining tissues after endodontic infection of rat immature teeth. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 4, p. 538-542, abr. 2014. DOI: 10.1016/j.joen.2013.09.015.

Wagner, MC., Cavagni, J., Gaio, EJ., Brum, VS., Jesus, LH., Filho, MS., Carrard, VC., Dorneles, GP., Peres, A., Rösing, CK. Effect of red wine and its major components on periodontitis and systemic inflammation in rats. *Journal of International Academy of Periodontology*, v. 21, n. 4, p. 139-147, out. 2019. PMID: 31694984.

Walzem RL. Wine and health: state of proofs and research needs. *Inflammopharmacology.* 2008 Dec;16(6):265-71. doi: 10.1007/s10787-008-8027-6. PMID: 19109750.

Wattel A, Kamel S, Prouillet C, Petit JP, Lorget F, Offord E, Brazier M. Flavonoid quercetin decreases osteoclastic differentiation induced by RANKL via a mechanism involving NF kappa B and AP-1. *J Cell Biochem.* 2004 May 15;92(2):285-95. doi: 10.1002/jcb.20071. PMID: 15108355.

Xanthopoulou, M.N., Kalathara, K., Melachroinou, S., Arampatzi-Menenakou, K., Antonopoulou, S., Yannakoulia, M., Fragopoulou, E. Wine consumption reduced postprandial platelet sensitivity against platelet activating factor in healthy men. *European journal of nutrition*, v. 56, n. 4, p. 1485-1492, 2017. doi: 10.1007/s00394-016-1194-0.

ANEXOS

ANEXO 1 – Certificado de aprovação do comitê de conduta e ética no uso de animais (CEUA – FOA/Unesp) (0221-2022) da Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado “**Efeito do consumo de vinho tinto sem álcool no desenvolvimento da periodontite apical induzida em ratos**”, Processo FOA nº 0221-2022, sob responsabilidade de João Eduardo Gomes Filho apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 25 de Abril de 2022.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Maio de 2025.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Junho de 2025.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled “**Effect of alcohol-free red wine consumption on the development of induced apical periodontitis in rats**”, Protocol FOA nº 0221-2022, under the supervision of João Eduardo Gomes Filho presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on April 25, 2022.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: May 30, 2025.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: June 30, 2025.

Prof. Dr. João Carlos Callera
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br