

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
MESTRADO EM BIOQUÍMICA

HILKÉA CARLA DE SOUZA MEDEIROS LIMA

EFEITOS DA DIETA HIPOPROTÉICA
NA FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ESTRUTURAS
DENTÁRIAS.

Estudo experimental em ratos Wistar.

NATAL/RN

2003

Hilkéa Carla de Souza Medeiros Lima

**EFEITOS DA DIETA HIPOPROTÉICA NA
FORMAÇÃO E COMPOSIÇÃO DE ESTRUTURAS
DENTÁRIAS.**

Estudo experimental em ratos Wistar.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA DO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM BIOQUÍMICA

ORIENTADORA: PROF^a DILMA FERREIRA LIMA

NATAL/RN

2003

Lima, Hilkéa Carla de Souza Medeiros

Efeitos da dieta hipoprotéica na formação e composição de estruturas dentárias. Estudo Experimental em ratos wistar. / Hilkéa Carla de Souza Medeiros Lima – Natal, RN, 2003.

90p.

Orientadora: Dilma Ferreira Lima

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Departamento de Bioquímica.

1. Proteínas – Tese. 2. Dieta hipoprotéica – Tese. 3. Esmalte – Tese. 4. Cálcio - Tese. I. Dilma Ferreira Lima. II . Título

RN/UF/BCZM

CDU 577.112(043.2)

**EFEITOS DA DIETA HIPOPROTÉICA NA FORMAÇÃO E
COMPOSIÇÃO DE ESTRUTURAS DENTÁRIAS.**

Estudo experimental em ratos Wistar .

Dissertação de Mestrado apresentada por Hilkéa Carla de Souza Medeiros Lima à Coordenação do Curso de Mestrado em Bioquímica em/...../....., conforme parecer da Banca Examinadora constituída pelos professores:

Dra. Dilma Ferreira Lima
Depto de Bioquímica - UFRN
Orientadora

.....
Dra. Rejane Andrade de Carvalho
Depto de Odontologia - UNP
1º examinador

.....
Dra. Fernanda Wanderley de Oliveira
Depto de Bioquímica – UFRN
2º examinador

... Ao meu Deus

razão da minha existência, fonte inspiradora, meu Senhor, meu mestre, dono de toda a minha vida. Eu pertenço a ti, por isso tudo o que tenho, tudo o que sou e o que vier a ser entrego a ti, Senhor. Sou grata por todas as bênçãos derramadas durante todos esses anos. Obrigado pelo teu inesgotável e imensurável amor. Dedico primeiramente este trabalho a ti, pois você é o verdadeiro autor desta dissertação. Eu te amo, Tu és a vida em mim.

Agradeço à professora Dilma Ferreira Lima
pela amizade, carinho, orientação e
confiança transmitida durante a
realização desta dissertação.

Professora, nunca esquecerei que comecei minha
carreira científica com você e através do seu incentivo e
apoio eu pude chegar até aqui.
Que Deus à abençoe ricamente.

DEDICO ESTE TRABALHO

*Aos meus pais, **HILTON** e **LINDOMAR**, pelo amor e
exemplo de vida.*

*Ao meu marido lindo **ALBERT**, pela compreensão,
apoio constante, amor, carinho, atenção,
incentivo na realização desse trabalho.*

Meu lindo eu te amo e sempre te amarei.

*A **Albert Filho** , **Mateus** e **Mariana** . Vocês ainda não existem
mas são tão amados que já fazem parte
da concretização desse sonho.*

AGRADECIMENTOS

Aos professores do Departamento de Bioquímica, pela oportunidade do meu aperfeiçoamento profissional.

À coordenadora do mestrado Profa. Edda Lisboa Leite pelos recursos financeiros do PROAP cedidos para elaboração deste trabalho.

Às professoras Fernanda Wanderley e Fátima Ximenes pelo acompanhamento desde o projeto de dissertação. Suas observações durante a pré-qualificação foram de grande importância.

À amiga Creuza Bernardo pela orientação, apoio e disposição em me auxiliar neste trabalho. Você foi essencial.

Aos professores da banca de qualificação Selma Jerônimo e Fátima Ximenes pelas correções e sugestões dadas para esse trabalho.

Ao professor Zaqueu Luiz dos Santos do Departamento de Química pela incansável ajuda nas dosagens minerais. Professor, o Senhor é o exemplo de um verdadeiro mestre. Obrigado por tudo.

Ao professor Leão Pereira Pinto, da Disciplina de Patologia Oral, pela atenção e orientação durante o desenvolvimento das análises histológicas.

À professora Adriana Resende, do Departamento de Farmácia, pela colaboração na realização e interpretação das eletroforeses.

Ao professor Maurício Pereira Sales pelo auxílio na confecção das tomadas fotográficas das lâminas histológicas.

Ao Departamento de Geoquímica por ter fornecido o aparelho de Microscopia Eletrônica de Varredura para realizar a análise deste experimento.

Ao colega Artejose Revoredo da Silva pela amizade, colaboração na realização e interpretação da Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao querido amigo Hévio que tão gentilmente realizou o processamento das peças histológicas.

Aos amigos da pós-graduação Thaís, Luciana, Karla Cristiane, Valquíria, Paula Viviane, Paula Anastácia, Dácio, Glória, Djair, Bartolomeu.

Às colegas Eliene, Ana Celly, Michelline e Rejane pelo apoio nas horas certas.

À CAPES pelos recursos financeiros cedidos pela realização deste trabalho.

A todos os amigos, professores e colegas que passaram por minha vida e que direta ou indiretamente ajudaram-me a realizar este trabalho.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fases da odontogênese: a) lâmina dentária b) fase de botão, c) capuz, d) campânula, (e, f) fase de aposição e calcificação.	29
FIGURA 2	Visão dos incisivos do animal antes da remoção	46
FIGURA 3	Incisivos inferiores dos animais dos grupos DC e DH respectivamente	46
FIGURA 4	Valores médios e desvios-padrão na ingestão das dietas dos grupos DH e DC no período de 3 semanas.	52
FIGURA 5	Média e desvio-padrão da perda de peso dos animais do grupo DH no período de 3 semanas.	53
FIGURA 6	Diferença de tamanho dos animais após 60 dias de experimento.	55
FIGURA 7	Média e desvio-padrão do peso (g) dos animais dos grupos DC e DH no primeiro e sexagésimo dia de vida.	56
FIGURA 8	Média e desvio-padrão da estatura (mm) dos animais dos grupos DC e DH no primeiro e sexagésimo dia de vida.	56
FIGURA 9	Germe dentário do grupo DH (AME-ameloblastos; ODO-odontoblastos; PD-polpa dentária). (H&E X 40).	61
FIGURA 10	Germe dentário do grupo DC. (EEE-epitélio externo do esmalte; EIE-epitélio interno do esmalte; PD-polpa dentária).(H&E X 40).	61
FIGURA 11	Junção amelodentinária dos dentes do grupo DH (AME-ameloblastos; ESM-esmalte; DEN-dentina; PDT-pré-dentina). (H&E X 100).	62
FIGURA 12	Junção amelodentinária dos dentes do grupo DC (AME-ameloblastos; ESM-esmalte; DEN-dentina; PDT-pré-dentina). (H&E X 100).	62

FIGURA 13	Regiões correspondentes no esmalte e na dentina onde foram determinados e quantificados os minerais do grupo DH pelo método do EDX.	65
FIGURA 14	Regiões correspondentes no esmalte e na dentina onde foram determinados e quantificados os minerais do grupo DC pelo método do EDX.	65
FIGURA 15	Microscopia Eletrônica de Varredura da borda incisal do incisivo inferior do grupo DH. (157x)	69
FIGURA 16	Microscopia Eletrônica de varredura da borda incisal do incisivo inferior do grupo DC. (158x)	69
FIGURA 17	Microscopia Eletrônica de Varredura evidenciando as microfendas encontradas no grupo DH (10073x).	70
FIGURA 18	Microscopia Eletrônica de Varredura evidenciando as microfendas encontradas no grupo DC (10073x).	70
FIGURA 19	Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise das espessuras do esmalte e da dentina do grupo DH (163x).	72
Figura 20	Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise das espessuras do esmalte e da dentina do grupo DC (163x).	72
Figura 21	Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise da superfície da dentina nos animais do grupo DH. (2612x)	73
Figura 22	Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise da superfície da dentina nos animais do grupo DC (2612x)	73

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição química do elemento dentário	32
TABELA 2	Composição centesimal das dietas experimentais	39
TABELA 3	Determinação das proteínas totais, albumina e globulinas nos grupos DH e DC.	57
TABELA 4	Concentração de cálcio e fósforo nos elementos dentários dos animais dos grupos DH e DC.	64
TABELA 5	Relação das concentrações médias dos minerais encontrados no esmalte e na dentina dos animais dos grupos DH e DC através do método do EDX	65

LISTA DE ABREVIATURAS/SIGLAS

AIN	American Institute Of Nutrition
AME	Ameloblastos
ATP	Adenosina Trifosfato
DC	Dieta Controle
DH	Dieta Hipoprotéica
DEN	Dentina
DPC	Desnutrição Protéico-Calórica
DPE	Desnutrição Protéico-Energética
EDX	Espectrometria por Dispersão de Energia de Raio-X
EEE	Epitélio Externo do Esmalte
EIE	Epitélio Interno do Esmalte
ESM	Esmalte
FAO/WHO	Food and Agriculture Organization/ World Health Organization
FAO/WHO/UNU	Food and Agriculture Organization/ World Health Organization/ United Nations University
H&E	Hematoxilina e eosina
HE	Hematoxilina e eosina
IDEC	Instituto de Desenvolvimento do Rio Grande do Norte.
IgA	Imunoglobulina do tipo A
IgE	Imunoglobulina do tipo E
IgG	Imunoglobulina do tipo G
IgM	Imunoglobulina do tipo M
INAN	Instituto Nacional sobre Saúde e Nutrição
Kv	Kilovolts
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ODO	Odontoblastos
PD	Polpa dentária
PDT	Pré-dentina
PNSN	Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição
WHO	World Health Organization

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A	Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados no esmalte dos animais do grupo DH.	89
ANEXO B	Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados no esmalte dos animais do grupo DC.	89
ANEXO C	Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados na dentina dos animais do grupo DH.	90
ANEXO D	Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados na dentina dos animais do grupo DC.	90

RESUMO

A desnutrição protéico-calórica vem sendo classificada como uma das mais preocupantes endemias não só no Brasil, mas no mundo. Sabe-se que a depleção ou a diminuição do aporte de proteínas das refeições pode provocar danos irreversíveis a vários sistemas orgânicos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da dieta hipoprotéica sobre a formação e composição dos elementos dentários. Foram utilizados 18 fêmeas e 6 machos para a realização do experimento. Das 18 fêmeas, 12 foram submetidas à dieta hipoprotéica (DH) durante 03 semanas e as outras 6 e os machos foram mantidos durante esse período com a dieta controle (DC). As dietas foram mantidas durante o período de acasalamento, gestação e lactação de todos os animais. Após o nascimento da prole, foram retirados 10 filhotes de cada grupo para análise histopatológica dos germes dentários dos incisivos inferiores. Os demais passaram pela lactação até completarem 60 dias de vida onde foram sacrificados e os dentes incisivos inferiores excisados para análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das alterações estruturais, bem como para análise de cálcio por absorvância atômica, do fósforo pelo método do vanadato-molibdato e de outros minerais pelo EDX. O fígado dos animais foi removido para a análise das proteínas hepáticas. O estudo histopatológico mostrou que ao primeiro dia de vida, todos os animais apresentavam os incisivos inferiores, 90% estavam na fase de aposição e calcificação e em 60% destes foi possível observar a formação de dentina. Na análise pelo MEV foi detectado em 90% dos animais do grupo DH que as extremidades dos incisivos inferiores estavam quebradiças e sem contorno definido; neste mesmo grupo foram detectadas microfendas extensas, $369,66 \text{ nm} \pm 3,45$, enquanto que no grupo DC as fendas eram de $174 \text{ nm} \pm 5,72$. Em relação às concentrações de cálcio e fósforo houve redução significativa no grupo DH e para os demais minerais, quase todos se apresentaram diminuídos neste grupo exceto o Cl e o K que no esmalte apresentou valores superiores ao grupo DC. A diminuição do aporte protéico influenciou significativamente no peso e no tamanho da prole, no entanto as proteínas hepáticas não demonstraram diferença significativa entre os grupos, levando-se a crer que foi induzida nestes animais uma desnutrição protéica do tipo marasmática.

ABSTRACT

Protein and caloric malnutrition has been considered one of the most concerned endemic diseases in Brazil and in the world. It has been known that depletion or reduction of proteins as far as meals are concerned can steer irreversible damages upon several organic systems. This study had as aim evaluate the effects the low-protein diet had over the formation and composition of the teeth components. 18 females and 6 males were used for the experiment. 12 from the 18 females had undertaken the low-protein diet (DH) for 03 weeks and the other 6, which remained, and those males had undertaken a controlled diet (DC) for the same period. All animals had the diets during their mating, pregnancy and lactation cycle. As soon as the offsprings had been born, 10 young males and females of each group faced a disease hood analysis to check the teeth germs of their lower fore teeth. The rest of the group had their lactation cycle normally – 60 days. Then they were put to death and had their lower fore teeth removed both to be analyzed through a scanning electronic microscopy (SEM) of the structure alterations and to have their calcium checked by an atomic absorption of the phosphorus – vanadate-molibdate method – and by other minerals – EDX method. The animals' livers were removed to have their hepatic proteins analyzed as well. The histopatologic study showed that at first day of birth, all animals had their lower fore teeth come out. It was verified that 90% of the animals' teeth were in an apposition and calcification period and it was possible to observe the dentin formation from 60% of the 90% already mentioned. Through the SEM method it could be realized that 90% of the animals of the DH group had their lower fore teeth easily broken and no definite shape. In this same group itself, it was also observed long micro fissures— $369,66 \text{ nm} \pm 3,45$ while the DC group had fissures of $174 \text{ nm} \pm 5,72$. Now regarding the calcium and phosphorus concentration, it could be noticed that there was a great reduction of these components and other minerals in the DH group. Almost all minerals, except for the Cl and K, presented higher levels in the DC group enamel. The reduction of the protein input greatly influenced the offsprings' weight and height. However the hepatic proteins had no important difference between the groups what can make one believe that those animals suffered from protein malnutrition of marasmic kind.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Necessidades de nutrientes e energia	17
1.1.1	O papel metabólico das proteínas.....	18
1.2	A problemática social da desnutrição.....	20
1.3	Desnutrição Protéico-Calórica: formas clínicas.....	22
1.4	Repercussões orais da desnutrição.....	25
1.4.1	Efeitos na Odontogênese.....	27
1.4.2	Composição estrutural do elemento dentário.....	31
1.4.3	A relação entre desnutrição e cárie dentária.....	33
1.5	Estudos em roedores.....	35
1.5.1	Características dos elementos dentários.....	35
1.5.2	Efeitos da desnutrição.....	35
1.6	OBJETIVOS.....	38
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
2.1	Dietas experimentais.....	39
2.2	Procedimentos técnicos no preparo das dietas experimentais.....	40
2.3	Animais Experimentais.....	40
2.4	Análise histopatológica dos germes dentários.....	41
2.5	Avaliação do estado nutricional dos animais.....	42
2.5.1	Avaliação dos parâmetros peso e altura.....	42
2.5.2	Coleta de sangue.....	43
2.5.3	Proteínas totais.....	43
2.5.4	Albumina.....	43
2.5.5	Eletroforese de proteínas séricas.....	43
2.6	Extração das proteínas do fígado.....	44
2.7	Remoção dos elementos dentários.....	45
2.8	Análise morfológica dos elementos dentários através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	47
2.9	Análise da composição dos elementos dentários através da Espectrometria por Dispersão de Energia de Raio-x (EDX).....	47

2.10	Determinação da concentração de cálcio no elemento dentário.....	48
2.11	Determinação da concentração de fósforo no elemento dentário....	49
2.12	Análise estatística dos dados.....	49
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
3.1	Consumo de alimentos.....	50
3.2	Perda de peso dos animais do grupo DH.....	53
3.3	Avaliação do estado nutricional dos animais.....	54
3.3.1	Avaliação dos parâmetros peso e altura dos animais no primeiro e no sexagésimo dias de vida.....	54
3.3.2	Avaliação dos parâmetros bioquímicos	57
3.3.3	Avaliação da concentração protéica hepática dos animais.....	59
3.4	Análise histopatológica dos germes dos elementos dentários.....	60
3.5	Dosagem de Cálcio e Fósforo nos elementos dentários.....	63
3.6	Dosagem de minerais do esmalte dentário pelo método EDX.....	64
3.7	Análise da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	67
3.7.1	Análise quanto ao aspecto geral do elemento dentário.....	67
3.7.2	Tamanho das fendas encontradas.....	68
3.7.3	Medição da espessura do esmalte e da dentina.....	71
3.7.4	Análise da superfície da dentina.....	71
4.	CONCLUSÃO.....	74
5.	REFERÊNCIAS.....	76
6.	ANEXOS.....	89

1 1. INTRODUÇÃO

1.1 Necessidades de nutrientes e energia

Define-se como necessidade nutricional de um indivíduo sadio, a quantidade de nutrientes e de energia disponíveis nos alimentos que serão utilizados para satisfazer os requerimentos basais dos seres vivos indispensáveis para a realização do metabolismo. Tais necessidades representam valores fisiológicos que são expressos através de padrões específicos para grupos semelhantes da população, isto é, quantidades de nutrientes pré-estabelecidas para infantes, adolescentes, jovens, adultos e idosos, assim como para portadores de patologias como diabetes, insuficiência renal e desnutrição (CUPPARI, 2002).

De acordo com BAILEY (2000), os alimentos são constituídos de vários grupos de nutrientes, entre os quais aqueles que, sob forma monomérica, são passíveis de reações catabólicas com posterior geração de energia sob a forma de adenosina trifosfato (ATP), sendo chamados de nutrientes energéticos. São eles: as proteínas, cujas unidades fundamentais são os aminoácidos, os carboidratos formados de glicose, e os triacilgliceróis constituídos por ácido graxo e glicerol. A presença de quantidades adequadas na dieta de todos esses componentes, associados a micronutrientes como as vitaminas e sais minerais promoverão um sinergismo perfeito para que todas as reações anabólicas e catabólicas aconteçam garantindo o pleno funcionamento dos organismos heterotróficos (WAITZBERG, 2001).

As proteínas apresentam uma ação cooperada com os cofatores orgânicos e inorgânicos representados pelas vitaminas e sais minerais, existentes na dieta, cuja falta ou deficiência torna a função enzimática defeituosa ou mesmo impossível. Desta forma, os nutrientes não atuam de um modo isolado, suas funções são coordenadas e inter-relacionadas (DE ANGELIS, 1995).

A falta ou deficiência de alguns destes cofatores interfere em importantes etapas metabólicas, às vezes inviabilizando vias inteiras, o que se reflete no desequilíbrio metabólico, promovendo em muitos casos conseqüências de origem orgânica e funcional. Portanto, a eficiente utilização das proteínas da dieta é proporcional à adequação entre os macro e micronutrientes e tem como conseqüência a formação de novas proteínas tissulares, o que se reflete tanto na manutenção e no crescimento, como na repleção dos tecidos depletados (LAJOLO, TIRAPEGUI, 1998). Por outro lado, uma dieta inadequada induz o organismo a catabolizar proteínas endógenas em maior proporção, o que pode levar a um balanço nitrogenado negativo.

Os casos extremos de desequilíbrio nutricional, como a fome e a desnutrição, induzem no indivíduo uma série de alterações bioquímicas e orgânicas, tais como: distúrbios no metabolismo de proteínas, lipídeos, carboidratos, desequilíbrio de água e eletrólitos, além de alterações gastrointestinais, hepáticas, neurológicas e sangüíneas. Por este motivo, nos casos de desnutrição, tanto a partir de uma privação da dieta, ou induzida por situações de estresse tais como infecções ou cirurgias, alteram-se os requerimentos protéicos dos indivíduos e as suas necessidades na composição de aminoácidos (FAO/WHO/UNU, 1985).

1.1.1 O papel metabólico das proteínas

As proteínas são as mais importantes macromoléculas do nosso organismo, pois além das funções estruturais, desempenham um papel indispensável ao funcionamento do organismo, agindo como catalisadores biológicos, hormônios, anticorpos, ora envolvidos com a função imunológica, ora regulando o desenvolvimento celular, como os fatores de crescimento, ou ainda participando do transporte de substâncias, como a hemoglobina, as lipoproteínas, a ferritina, entre outras (MAHAN, ARLIN, 1998).

O uso eficiente das proteínas alimentares, pelos indivíduos, requer principalmente que todos os aminoácidos essenciais sejam fornecidos na dieta, em

quantidades adequadas para satisfazer os requerimentos necessários ao perfeito desempenho de suas funções fisiológicas, uma vez que suas cadeias carbonadas, ou não são sintetizadas pelo nosso organismo, ou o são em quantidades inadequadas (MILLER, PAYNE, 1964; LEUNG, ROGERS, 1975; DE ANGELIS, 1995).

Conforme preconiza MUNRO (1964), a concentração de aminoácidos no organismo deve ser mantida constante, a todo custo. Se por acaso ocorrer um desequilíbrio de aminoácidos, por ausência na dieta ou por uma maior demanda metabólica, automaticamente o organismo lançará mão de um mecanismo homeostático que reintegrará esta concentração, seja através da mobilização das proteínas teciduais, seja pelo aumento da síntese dos aminoácidos não essenciais. Após a digestão das proteínas, se os aminoácidos que chegam da alimentação mantiverem entre si uma proporção harmoniosa com os do organismo, e se a quantidade for suficiente para repor a fração protéica que foi desgastada, o equilíbrio dinâmico será mantido (DE ANGELIS, 1995).

O valor nutritivo das proteínas depende do perfil e da concentração de aminoácidos essenciais, mas é também uma função da sua digestibilidade, isto é, da disponibilidade com que as moléculas se expõem ao ataque das enzimas digestivas, o que passa a ser mais um parâmetro indicativo de sua qualidade (FAO/WHO/UNU, 1985; DE ANGELIS, 1995). A eficácia das proteínas não é influenciada somente pelo padrão de aminoácidos fornecido pelas mesmas ou da sua digestibilidade, mas também pelo consumo de energia e do estado fisiológico do organismo, isto é, os requerimentos de aminoácidos e a sua utilização variam de acordo com o aporte calórico da dieta e com as necessidades específicas de um estado fisiológico particular, tendo em vista que, na ausência do aporte calórico eficiente, os aminoácidos serão oxidados para a manutenção dos níveis de glicose sanguínea no organismo (MILLER, PAYNE, 1963; BRESSANI, ELIAS, MOLINA, 1977).

Quando as proteínas deixam de desempenhar seus papéis estrutural e enzimático passando a assumir a provisão de glicose e energia para o organismo, instala-se um estado de desequilíbrio metabólico. Quanto mais tempo durar esse desequilíbrio pior será para o indivíduo que poderá apresentar quadros de anemias,

hipovitaminoses e desnutrição protéico-energética, sendo esta última um dos principais problemas sociais brasileiros (NUNES, BATISTA, MICHELI, 2002).

1.2 A problemática social da desnutrição

Dentre os graves problemas sociais que assolam a humanidade neste início de século, temos a fome apontando com uma das mais avassaladoras e preocupantes moléstias no contexto mundial de Saúde Pública. O problema da fome representa, sem dúvida, um dos mais dramáticos aspectos do subdesenvolvimento a que se acham atrelados milhões de pessoas no Brasil e no mundo. Apesar de inúmeros estudos e propostas, datados da década de 40, não foi possível, até hoje, baní-la da realidade mundial. Em nosso país, principalmente no nordeste brasileiro, existem vários fatores responsáveis pela má nutrição, destacando-se, além da pobreza em que vive a maioria da população, a ocorrência periódica de fenômenos ambientais, como a seca, que tornam inviável a aquisição das fontes protéicas convencionais por grande parte da população (FERREIRA, 2000).

Dados atuais mostram que a produção de alimentos não acompanha o ritmo de crescimento da população, principalmente nos países de terceiro mundo, causando os quadros de fome endêmica que colocam 500.000.000 de pessoas dentro dos limites da desnutrição enquanto 12.000 pessoas morrem de fome por dia no mundo (WHO, 1995; FERREIRA, 2000). Além disso, podemos reconhecer como causas da fome endêmica: os problemas sociais, as guerras e alterações no meio ambiente, como as secas que ocorrem freqüentemente na região nordeste do Brasil.

De acordo com FERREIRA e OTT (1994) e a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995) o estado nutricional do homem diz respeito à condição de saúde e a constituição corporal deste indivíduo, resultantes da ingestão e utilização biológica de nutrientes no decorrer de sua vida. Este estado é considerado inadequado, quando os indicadores adotados para sua avaliação estão acima ou abaixo dos limites da normalidade, limites esses, assumidos através de critérios estatísticos. Quando encontramos valores acima da normalidade, isto é, uma hiperalimentação, detectamos enfermidades como obesidade, diabetes mellitus tipo II, aterosclerose, entre outras. Quando estamos diante de um quadro de carência alimentar temos

casos de hipovitaminose A, anemias carenciais, bócio endêmico e a desnutrição protéico-calórica (DPC) ,sendo esta última, à luz da epidemiologia, a condição mais importante dos atuais problemas de nutrição humana no Brasil e no mundo.

A desnutrição trata-se de uma moléstia com etiologia atrelada a fatores não só pertencente ao metabolismo do indivíduo, mas traz consigo toda uma problemática social, econômica e política. Podemos citar como exemplo o Brasil, que segundo ADAS (1990) tem uma produção de alimentos suficiente para alimentar toda a população, no entanto, grande contingente populacional passa fome em virtude do baixo poder aquisitivo resultante da alta taxa de desemprego e dos baixos salários pagos no país.

Em estudos realizados pela Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição (PNSN) em 1989, os dados obtidos indicaram que cerca de 13 milhões de adultos brasileiros (15,9%) apresentam baixo peso sendo que a maior prevalência se encontra no Nordeste, onde o problema afeta 20% da população maior de 18 anos (COITINHO *et al*, 1991).

O Instituto Nacional de Alimento e Nutrição (INAN) em 1992 revelou também que 30,7% das crianças brasileiras são desnutridas, sendo que, 5,1% em grau moderado a grave, segundo a classificação de Gómez. Tais valores, quando apresentados para todo o país, apesar de serem por si só preocupantes, mascaram a gravidade com que o problema se manifesta nas regiões mais pobres. A prevalência de desnutrição (todas as formas) é cerca de 2,5 vezes maior no Nordeste (46,0%) do que a encontrada na população Sul/Sudeste (20,6%). Para os casos de desnutrição moderada e grave, a diferença é ainda mais expressiva: 10,1% para o Nordeste e 2,4% para o Sul/ Sudeste.

No Rio Grande do Norte, segundo pesquisa realizada pelo Instituto de Desenvolvimento do RN (IDEC) em 1995, dos 46% da população que vive em estado de indigência, 22,7% apresentam quadros de desnutrição, principalmente calórico-protéica, afetando principalmente o grupo mais vulnerável aos efeitos da pobreza, que são as crianças de 0 a 6 anos de idade e as mulheres grávidas e lactantes.

De acordo com ENGLE (1991) o índice de desnutrição é particularmente alto durante os dois primeiros anos de vida e ocorre, principalmente, em virtude das crianças, nesta fase, serem completamente dependentes de cuidados maternos; instala-se principalmente após o desmame, quando a criança começa a receber bebidas lácteas, altamente diluídas com baixo teor protéico e elevados percentuais de hidrato de carbono (PRADO *et al.*, 1995). Além disto, esse índice pode estar associado a fatores relacionados com o meio ambiente, estrutura social, desenvolvimento familiar, nível de educação e desconhecimento do valor nutritivo dos alimentos e das necessidades corporais.

É interessante ressaltar que quando o consumo calórico total é deficiente, a importância da adequação do consumo de proteínas torna-se secundária, pois, ainda que sejam ingeridas em quantidade e qualidade adequadas, são metabolizadas no sentido de complementar as necessidades energéticas do indivíduo. Apenas uma menor parte cumprirá a função estrutural ou especializada (enzimas e anticorpos, entre outras.). A manutenção dessa situação conduz o indivíduo à condição denominada Desnutrição Protéico-Calórica (DPC), que é uma entidade patológica resultante de uma deficiente ingestão e/ou utilização biológica de proteínas e calorias. (WHO, 1976; ADAS, 1990; FERREIRA, 2000;).

Segundo FERREIRA (2000), do ponto de vista sanitário, a desnutrição primária representa um grave problema de saúde pública, sobretudo em função de sua determinação social, onde, no ambiente pobre, diversos fatores atuam sinergicamente com a desnutrição, agravando-a ou precipitando-a. Outros fatores associados contribuem por aumentar esse risco: desnutrição materna, não amamentação ou desmame precoce, ausência de água potável e instalação sanitária em casa, alta frequência de infecções e diarreia no 1º ano de vida, dentre outros.

1.3 Desnutrição protéico-calórica: formas clínicas

A desnutrição energético-protéica (DPE) apresenta-se sob duas formas clínicas extremas, o Kwashiorkor e o Marasmo. Entre estas existe um largo espectro de manifestações anômalas de crescimento e desenvolvimento. Ambas as formas extremas apresentam quadros clínicos e metabólicos bem diferenciados. Com frequência, o marasmo é apresentado como um exemplo de “adaptação” metabólica a um déficit nutricional, enquanto que o Kwashiorkor representaria a ausência de adaptação. Na maior parte das vezes, os sinais e sintomas se superpõem, produzindo um quadro misto chamado de kwashiorkor-marasmático.

Os primeiros trabalhos sobre desnutrição foram realizados pela pediatra WILLIAMS (1933, 1935), que descreveu o Kwashiorkor como um quadro de desnutrição causado pela deficiência de proteína na dieta, que por sua vez era rica em carboidratos. Alguns anos depois, através do trabalho de BROCK, AUTRET (1952), sobre o Kwashiorkor na África, concluía-se que era a mais séria e difundida desordem nutricional conhecida pela ciência.

Trabalhos realizados por MCLAREN (1974) descreviam um outro tipo de desnutrição causado pela carência tanto de calorias como de proteínas na dieta, o Marasmo, que seria o caso de falta da própria dieta, principalmente no primeiro ano de vida. Os sintomas clínicos, como edema, fraqueza, pele áspera, e os indicadores antropométricos do estado nutricional, como peso por idade, altura por idade e peso por altura, foram usados primariamente para diagnosticar quadros de desnutrição como Kwashiorkor, Marasmo ou a combinação dos dois tipos de desnutrição.

A desnutrição seria considerada primária quando decorrente de uma ingestão alimentar inadequada e secundária se for originada de alguma patologia. Como os quadros carenciais, na maioria das vezes, ocorrem simultaneamente, com maior ou menor severidade, passaram a ser diagnosticados também através de parâmetros bioquímicos (HEARD *et al.*, 1975; REEDS, LADITAN, 1976; COWARD, LUNN, 1981).

É importante considerar que o conteúdo de energia de uma dieta parece exercer uma considerável influência sobre o consumo de alimentos e sua utilização protéica (FAO/WHO/UNU, 1985). BLANCO, BRESSANI (1991) mostraram que uma proteína deficiente também influiria na ingestão de alimentos. Assim, dietas com baixas concentrações de proteínas afetariam a quantidade de alimentos consumidos e a eficiência de sua utilização. Desta forma, o crescimento pondo-estatural seria altamente dependente tanto da qualidade como do consumo de energia e proteína. (WATERLOW, TOMKINS, MCGREGOR, 1992).

NUNES et al (2002), relata que as crianças desnutridas apresentam deficiências no seu sistema imunológico e como conseqüência um maior risco de infecções, além de maior predisposição ao atraso no desenvolvimento neuropsicomotor. Estudos como os de SMYTHE, CAMPBEILL (1959), PHILLIPS e WHARTON (1968) mostraram, também, que a desnutrição protéica, quando impede a produção pronta e imediata de anticorpos, diminui a resposta imunitária tornando o organismo mais susceptível a infecções. Esses autores encontraram elevados índices de infecções causadas por bactérias, vírus, micoses e parasitoses em indivíduos desnutridos. Segundo STIEHM (1980), as taxas de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA e IgE) também encontram-se diminuídas em portadores de desnutrição protéico-calórica, e CHANDRA, em 1991, mostrou que ocorria uma diminuição do número de célula T (imunidade celular), linfócitos CD4+ / CD8+, além da redução da capacidade de proliferação linfocitária.

Devido à existência de quadros intermediários de alterações dietéticas diversas, torna-se difícil classificar uma criança tipicamente Marasmática ou com Kwashiorkor. ESCODA (2000); SOARES, PARENTE(2001); CUPPARI (2002), caracterizam a desnutrição marasmática como uma patologia que se manifesta no primeiro ano de vida quando a criança apresenta uma dieta deficiente em proteínas e calorias. O paciente apresenta um déficit de peso e altura em relação à idade, não apresenta lesões na pele, mucosa e couro cabeludo, não apresenta hepatomegalia nem edema. Quando submetidos a exames laboratoriais, esses pacientes não demonstram alterações marcantes no hematócrito, hemoglobinemias, proteinemias. Em relação aos pacientes portadores de Kwashiorkor, temos que a manifestação da desnutrição ocorre após o primeiro ano de vida em que o paciente apresenta uma

dieta não balanceada com calorias normais ou excessivas e deficientes em proteínas. Clinicamente, esses indivíduos apresentam edema generalizado, lesões carenciais na fibra capilar, pele, mucosas e hepatomegalia de mais de 2cm além de demonstrarem um discreto déficit na relação peso/altura. No tocante aos exames laboratoriais observa-se diminuição no hematócrito, hemoglobinemia, proteinemia e hipovitaminose A e D .

No Brasil, o marasmo é o tipo de desnutrição predominante, segundo FERREIRA (2000). No Nordeste onde a desnutrição é mais grave, essa condição é encontrada com freqüência nas áreas atingidas pela seca, como também em favelas urbanas originadas, em grande parte, pelo êxodo rural. Todos estes fatores discutidos acima concorrem de uma maneira coordenada e integrada para o agravamento dos quadros de desnutrição. Sabe-se que a depleção ou diminuição dos componentes essenciais para o metabolismo corpóreo pode levar o indivíduo a sérios problemas envolvendo não só sistemas imune, nervoso e endócrino mas também o estomatognático.

1.4 Repercussões orais da desnutrição

De acordo com KRIGER (1999), o estado nutricional tem seu valor específico no desenvolvimento do elemento dentário e na formação do processo cariogênico. Os componentes da dieta, estão envolvidos no mecanismo de formação do órgão dentário, odontogênese, bem como de todo o sistema estomatognático. As células precursoras necessitam de energia e nutrientes para sua formação normal. A dieta será amplamente relacionada ao processo cariogênico, tendo em vista que os alimentos agirão diretamente na superfície dentária e servirão de substrato para os microrganismos causadores da cárie dental (BIRKED, IMFELD, EDWARDSSON, 1993; BENITEZ, SULLIVAN, TINANOFF, 1994; BOWEN, 1994)

Quando se instala um desequilíbrio nutricional, alterações orais ocorrem com frequência. Os efeitos sistêmicos podem influenciar os dentes durante o período formativo, bem como a quantidade e a qualidade do fluxo salivar, aumentando ou diminuindo a resistência do hospedeiro. Como efeito local temos a influência sobre os carboidratos fermentáveis que, quando em maior quantidade no meio bucal,

alteram o metabolismo bacteriano favorecendo o aumento da produção de ácidos, fator primordial para a formação da cárie dental (KRIGER, 1999; THYLSTRUP, FERJERSKOV, 1995).

THYLSTRUP e FERJERSKOV (2001), descrevem que períodos prolongados de desnutrição afetarão os tecidos e órgãos em relação às suas necessidades de energia e nutrientes. Durante a infância, a desnutrição pode limitar o desenvolvimento de órgãos como, por exemplo, o cérebro e as glândulas salivares, levando a uma diminuição da capacidade metabólica. Durante a fase adulta, quando a formação dos órgãos está completa, os efeitos da desnutrição estão principalmente relacionados à função celular. De acordo com FREITAS, SOUZA, PINTO (1994), ocorrem alterações tanto morfológicas quanto morfométricas nas glândulas parótidas de ratos.

Dentre os principais problemas que ocorrem na odontogênese a hipoplasia do esmalte é a mais comum. Trata-se de uma anormalidade no desenvolvimento e da mineralização dos dentes humanos. De acordo com KRIGER (1999), apesar de não se conhecer o determinante bioquímico específico para o aparecimento das lesões, evidências recentes sugerem uma ligação com o metabolismo do cálcio. A hipoplasia tem sido considerada endêmica em muitos países e está comumente associada a doenças da infância. Podemos caracterizar a hipoplasia como defeito no esmalte resultante de injúria metabólica nas células precursoras, os ameloblastos. Clinicamente, a hipoplasia é caracterizada por uma superfície rugosa, com pontos ou faixas circunferenciais esbranquiçadas na coroa do dente, podendo apresentar além da coloração esbranquiçada, uma coloração amarelo-acastanhada adquirida após a erupção.

MELLANBY (1936) e CARR (1956) foram os primeiros a relacionar a presença de dentes hipoplásicos em decorrência de deficiência nutricional, particularmente de vitamina D. Verificaram também que dentes com essas lesões apresentavam cáries com mais frequência do que os não hipoplásicos. NIKIFORUK, FRASER, 1981; BEZERRA, 1990; MAGUIRE, RUGG-GUNN, 1994, mostraram, em seus estudos, que a hipoplasia do esmalte está relacionada a distúrbios na

homeostase de cálcio, a qual , por sua vez, é controlada de forma complexa, envolvendo vitamina D, hormônio paratireóideo e calcitonina.

1.4.1 Efeitos na Odontogênese

Temos como definição de odontogênese o processo de formação e desenvolvimento do elemento dentário. ARANHA (1995) relata que no quadragésimo quinto dia da vida intra-uterina , o epitélio, que recobre os rebordos maxilares inicia uma proliferação ativa caminhando em direção ao mesênquima subjacente dando origem a uma lâmina epitelial chamada de lâmina dentária. Esta estrutura é a precursora do germe dentário.

Após a origem da lâmina dentária, quatro fases são observadas até a total formação e erupção do dente na cavidade oral. A FIGURA 1 mostra os eventos proliferativos denominados por BHASKAR (1989) como odontogênese. A primeira fase a surgir é a fase de iniciação, conhecida também como “estágio de botão”. Nessa fase observa-se a proliferação inicial de células pertencentes à lâmina dentária com dilatações ovóides ou esféricas em vários pontos diferentes da arcada. Assim se inicia o desenvolvimento dos germes dentários. A segunda fase é a de proliferação, caracterizada pelo crescimento desigual de diferentes partes da estrutura ovóide levando ao “estágio de capuz”, o qual se caracteriza por uma invaginação pouco acentuada na superfície mais profunda do germe. Aqui podemos distinguir várias estruturas como o epitélio interno e externo do órgão do esmalte, o retículo estrelado e a papila dentária. A fase subsequente é a de histodiferenciação, também denominada de “estágio de campânula”, pois conforme a invaginação do órgão do esmalte se aprofunda a sua margem continua a crescer e a estrutura toma a forma de um sino. Nesta fase podemos perceber a maturação das estruturas da fase anterior bem como aqui surgem células secretoras como os odontoblastos, responsáveis pela deposição de dentina, e os ameloblastos , responsáveis pela formação do esmalte. A quarta fase é a de aposição e calcificação. Neste ponto inicia-se a secreção de matriz do esmalte e da dentina bem como sua maturação e calcificação.

Estas fases representam o ciclo vital do dente na região intra-óssea. Após a fase de calcificação, inicia-se o processo de erupção na cavidade oral. Vale

salientar que no momento da erupção as raízes dos elementos dentários ainda estão em fase de formação.

Durante a Odontogênese encontramos uma alta atividade metabólica no germe dentário e nos primeiros passos deste evento evidencia-se uma concentração acentuada da proteína fetal amelogenina, que está diretamente ligada ao processo de formação da matriz. Com o processo de formação dos cristais de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, estas proteínas vão diminuindo em número permanecendo em pequenas porcentagens no esmalte maduro(LOESCHE, 1993; THYLSTRUP e FEJERSKOV, 1995, KRIGER, 1999).

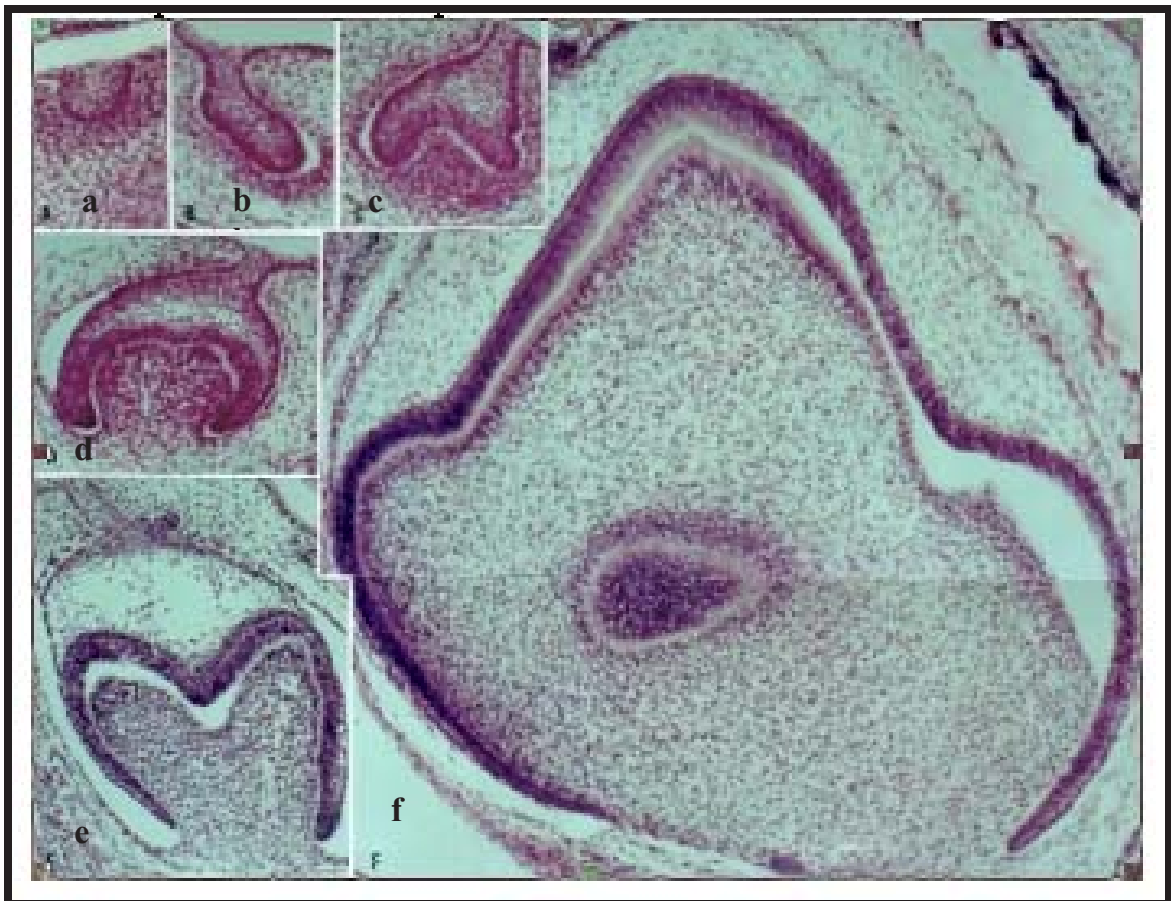


FIGURA 1- Fases da odontogênese: a) lâmina dentária, b) fase de botão, c) capuz, d) campânula, (e, f) fase de aposição e calcificação (BHASKAR, 1989).

O desenvolvimento dos dentes inclui a formação de uma matriz orgânica protéica, seguida por mineralização e maturação. O processo, que segue um padrão cronológico bem definido, envolve vários estágios críticos. As deficiências nutricionais podem levar a alterações na síntese protéica ou distúrbios na mineralização podem perturbar a estrutura, bem como a forma, a posição dos dentes e retardar a sua erupção na boca. Com base em estudos antigos realizados por DREIZEN (1952), ALVAREZ, LEWIS, SAMAN (1988), MARTHALER (1990) surgiu a conscientização de que distúrbios nutricionais, tais como deficiências de cálcio, fosfato, vitaminas A, D, C, e balanço energético-protéico, afetam a formação do tecido dentário de acordo com suas funções biológicas gerais. Os dentes tornam-se hipomineralizados e mais susceptíveis aos danos causados pelo ácido láctico oriundo do metabolismo dos carboidratos realizado pelas bactérias orais, dando origem assim, ao processo cariogênico. Corroborando com estes achados, THYLSTRUP, FERJERSKOV (2001), relatam também que deficiências nutricionais, como as de cálcio, fósforo, micronutrientes e a desnutrição protéico-energética afetam a composição de tecidos dentários aumentando a susceptibilidade à carie. Segundo MILLER, OKOISOR, LIDDINGTON (1986); KRINGER (1999), a deficiência de vitamina A é conhecida por alterar a amelogênese (formação do esmalte dentário), dentinogênese (formação da dentina) e a função imunológica. Ocasionalmente, ainda, a redução da síntese de glicoproteínas salivares como as mucinas, específicas para a aglutinação de bactérias.

Os dentes são considerados importantes indicadores da idade biológica do indivíduo, pois a erupção ocorre de forma contínua e programada. Alterações nutricionais, infecciosas, genéticas ou ambientais podem alterar os processos de maturação e calcificação do esmalte, bem como a erupção do elemento dentário. O esmalte é constituído de cristais de hidroxiapatita que durante a formação do elemento dentário está envolvido em um complexo processo de nucleação e deposição de minerais dentro de uma matriz protéica específica na sua composição aminoacídica, secretada pelos ameloblastos. Nessa matriz ocorre o processo de deposição de minerais como o cálcio e o fósforo que darão à estrutura a dureza e rigidez pertinente ao tecido do esmalte (BHASKAR, 1989; LOESCHE, 1993).

1.4.2 Composição estrutural do elemento dentário

O dente adulto, completamente desenvolvido, apresenta-se anatomicamente constituído, por duas partes distintas: a coroa e a raiz. Histologicamente, o elemento dentário apresenta os seguintes tecidos: esmalte, dentina, cemento e polpa (BHASKAR, 1989).

O esmalte dentário é o tecido que reveste a coroa do dente e segundo ARANHA (1995), é o tecido mais duro do organismo apresentando sua conformação em prismas de cristalitos de hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, formados por 96,0% de minerais. O esmalte possui apenas 0,5% de substâncias orgânicas e 3,5% de água. A dentina é o tecido que vem logo abaixo do esmalte na região coronária e logo abaixo do cemento, na região radicular. Diferentemente do esmalte, a dentina é menos mineralizada, contendo 65,0% de minerais, na forma de cristalitos de hidroxiapatita, 21,5% de substâncias orgânicas e 13,5% de água. A presença de minerais é consideravelmente diminuída no cemento e na polpa. No entanto, no que se refere às substâncias orgânicas temos o cemento apresentando uma concentração de 35,0% e a polpa de 9,0%. Neste último tecido temos como componente principal a água, perfazendo uma concentração de 90,0%.

Na Tabela 1 observa-se a relação dos principais minerais encontrados nos tecidos dentários. Nele podemos observar que o cálcio é o principal componente do esmalte e da dentina. Este íon é de grande importância, pois sua presença em grande quantidade garante a estes tecidos rigidez e baixa permeabilidade. Fato que contribui para o perfeito funcionamento do dente durante a mastigação impedindo a fratura do órgão ou mesmo a difusão facilitada dos ácidos presentes ou decorrentes da alimentação, o que impede a formação da cárie dentária.

Tabela 1 – Composição química do elemento dentário

Minerais	Esmalte (%)	Dentina (%)	Cemento (%)
Ca ⁺⁺	36,0	26,0	16,0
PO ₄ ⁻⁻⁻	18,0	13,0	8,0
CO ₃ ⁻⁻⁻	3,0	3,0	6,0
Mg ⁺⁺	0,5	0,8	0,5
Na ⁺	0,4	0,4	0,4
K ⁺	0,2	0,2	0,1
F ⁻	0,01	0,02	0,05

Fonte: ARANHA (1995)

ANDERSON *et al* (1988) e SOARES (2000) e relatam que o corpo humano adulto pesando 70kg contém aproximadamente 2% de cálcio e 1% de fósforo; 99% do cálcio e 80% do fósforo presentes no organismo são encontrados sob a forma de componentes dos ossos e dentes. Nos líquidos orgânicos o cálcio existe sob três formas: cálcio ionizado (Ca⁺⁺), que é a forma fisiologicamente ativa; cálcio complexado com ácidos orgânicos ou inorgânicos tais como o citrato de cálcio, o fosfato de cálcio e o sulfato de cálcio; além do cálcio ligado a proteínas.

BURTON (1999), afirma que para haver uma absorção ótima de cálcio e fósforo, estes nutrientes devem ser fornecidos na dieta em quantidades aproximadamente iguais. Uma proporção anormal de cálcio na alimentação interfere na absorção de ambos, podendo resultar em deficiência de cálcio. Além disso, há outros fatores que facilitam a absorção do cálcio tais como a vitamina D, acidez do suco gástrico, ingestão de proteínas e o estado fisiológico do indivíduo (CZAJKA-NARINS, 1994). Alguns componentes da dieta como os ácidos fítics e oxálicos

formam complexos insolúveis com o cálcio, dificultando a sua absorção (SGARBIERI, 2001).

Na saliva, o fósforo e o cálcio estão presentes entre os mais significantes constituintes inorgânicos para a saúde bucal. Cerca de 30 a 50% do cálcio presente na saliva estão ligados a proteínas e são liberados com a queda do pH. No biofilme dentário, aproximadamente 5 a 10% do peso seco é da responsabilidade de substâncias inorgânicas, das quais o cálcio, o fósforo e o potássio parecem predominar.(THYLSTRUP,FEJERSKOV, 2001)

1.4.3 A relação entre desnutrição e cárie dentária

CONSOLARO (1996), relatou que a cárie dentária é uma doença multifatorial infecciosa que para se instalar depende de um hospedeiro susceptível, uma microbiota específica e uma dieta rica em carboidratos. OLIVEIRA, FASANARO (1997), afirmaram que a cárie inicia-se por um processo de desmineralização de uma microrregião do esmalte, em consequência da ação de ácidos orgânicos sintetizados pelos microrganismos, que metabolizam os carboidratos presentes na dieta, até a formação de ácido láctico. Com a evolução do processo cariogênico, ocorre a dissolução dos minerais da dentina e a desnaturação do colágeno, ambos resultantes da ação contínua das bactérias. Quando não tratada, a cárie progride até a total destruição do dente.

AGUIAR (1999), afirmou que a cárie é uma doença crônica, infecto-contagiosa, modulada por fatores ambientais, causando alterações histológicas ultra-estruturais seguida de destruição dos tecidos descalcificados dos dentes. A descalcificação inicial é atribuída a ação de produtos metabólicos das bactérias. A perda da matriz inorgânica do esmalte, da dentina e do cemento facilita a destruição da matéria orgânica, a qual envolve os cristais de hidroxiapatita. A evolução da doença caso o processo de desmineralização não seja interrompido e revertido logo no início, pode provocar uma erosão dos tecidos dentários o que poderá atingir e lesionar a polpa dentária causando danos irreversíveis.

Quando se correlaciona estado nutricional e cárie dentária, existe no meio odontológico um ponto de discordância. Alguns pesquisadores sugerem que não há relação consistente entre a cárie e o estado nutricional. Entretanto BHASKAR(1989); ALVAREZ, et al (1991); JOHANSSON et al (1992); KRIGER (1999), enfatizam que o desequilíbrio nutricional, testado em animais experimentais, durante a odontogênese pode alterar a morfologia, a cronologia de erupção, a oclusão, a incidência de hipoplasia do esmalte e a função das glândulas salivares.

Em 1976, a Organização Mundial de Saúde já fazia a correlação entre um quadro de carência alimentar e a cárie dentária. Segundo ARANHA (1995), dentre os fatores que podem influenciar o desenvolvimento dentário estão os dietéticos. Regimes hipoprotéicos podem determinar falhas na formação da matriz do esmalte e da dentina bem como a diminuição do consumo de vitaminas e minerais que provocam alterações na formação do periodonto de sustentação do elemento dentário bem como na sua calcificação.

Em estudos com animais experimentais realizados por BIRKHED (1991) e JOHANSSON (1992) foi constatado que a deficiência energético-protéica, de vitamina A, de zinco e de ferro durante o período pré-eruptivo causa o aumento do desenvolvimento de lesões cariosas, o que se atribui estar relacionado ao tecido lesado do dente. A solubilidade do esmalte por ácido é maior em filhotes de rato com deficiência energético-protéica (ALVAREZ, 1988).

Estudos realizados com crianças na América do Sul (ALVAREZ et al, 1991), e na Índia (JOHANSSON, 1992) confirmam que a má nutrição protéica-calórica crônica e aguda durante a infância aumenta a suscetibilidade à doença cárie. A correlação de má nutrição protéico-energética com os efeitos orais durante os períodos críticos de outros distúrbios nutricionais ainda precisa ser estudada e relacionada às lesões cariosas em experiências padronizadas e investigações em humanos. Autores como LOESCH (1993) e KRIGER (1999) enfatizam a necessidade de novos e mais aprofundados estudos no tocante às alterações não só na cavidade bucal como um todo mas nos tecidos do elemento dentário.

1.5 Estudos em roedores

1.5.1 Características dos elementos dentários

Os dentes dos roedores diferem em alguns detalhes dos dentes humanos. A camada de esmalte nos dentes dos roedores é cerca de 20 vezes mais fina do que a dos dentes humanos. Logo após a sua erupção, os dentes dos roedores são hipomineralizados e a manutenção pós-eruptiva pode continuar pelo menos por dois meses após a erupção, contrastando com os dentes humanos que estão completamente mineralizados no momento da erupção. A microbiota oral dos roedores é diferente da humana. Portanto, se faz necessário uma certa cautela ao extrapolar os resultados dos estudos de cárie em animais experimentais para o homem (EDWARDSSON, 1988; LOESCHE, 1993).

Como enfatizam, THYLSTRUP e FEJERSKOV (2001), a morfologia dos dentes do rato também é diferente da humana, o rato apresenta molares que são atravessados por fissuras profundas e possui uma camada fina de esmalte, que não cobre a ponta das cúspides. No ato da erupção dentária, esta camada de esmalte ainda pouco mineralizada, especialmente na base e partes laterais das fissuras. Esta hipomineralização, associada com a capacidade de formar fissuras mais profundas e acumular mais resíduos alimentares, predispõe este animal ao desenvolvimento da cárie de fissura e de superfície lisa. Na arcada dentária de ratos *Wistar* encontramos quatro incisivos e doze molares, não encontramos caninos nem pré-molares, apresentando uma anatomia oral simples quando comparada com a humana.

1.5.2 Efeitos da desnutrição

Os nutrientes oriundos da alimentação tem importante função estrutural e principalmente energética. Segundo FREITAS, SOUZA, PINTO (1994), estes compostos se incorporam à célula durante os períodos embrionário e pós-natal, a fim de promoverem seu desenvolvimento, sua diferenciação, produção de energia e atividade nervosa de uma maneira geral.

De acordo com MITCHELL e RYNBERGEN (1978), a subnutrição e a supernutrição ocorrida durante as fases do desenvolvimento de um órgão, podem afetar o número final de suas células possibilitando, assim a ocorrência de danos permanentes com repercussão na função do referido órgão.

De acordo com FRANKOVÁ (1971), alterações na composição da dieta influenciam no comportamento não só de ratos em desenvolvimento, mas, também, de ratos adultos. Quando se altera a razão entre os nutrientes básicos, a excitabilidade inata do sistema nervoso central pode ser modificada extensamente. Segundo o mesmo autor estudos experimentais demonstraram que a nutrição, durante os primeiros dias de vida, tem um efeito decisivo no processo de desenvolvimento de um ser humano, além da participação de outros fatores, como por exemplo, os genéticos e as influências externas.

Conforme BELDA, ZUCAS (1981), a ocorrência de deficiências nutricionais durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal, pode ocasionar problemas tais como diminuição do peso corporal, interrupção do crescimento, retardo do amadurecimento do sistema nervoso entre outros problemas.

Para LISTER, McCANCE (1967), não há dúvida de que se ratos forem submetidos a um período de desnutrição severa, durante seu desenvolvimento, eles não atingirão o tamanho completo que lhes foi determinado pela natureza. FRANKOVÁ (1971) afirma que durante o período neonatal, a razão de divisão celular nos órgãos de ratos pode ser influenciada pelo estado de nutrição. Ingestão calórica diminuída interrompe o processo de divisão celular e os vários órgãos passam a conter um menor número de células ao desmame.

Como cita SAMBAQUY (s.d.) na gestação, o problema das proteínas é, de todos, o mais importante a ser apreciado, uma vez que estas representam componentes indispensáveis às células vivas. Entre outros envoltórios as proteínas têm destacada ação em face dos fenômenos relativos à imunidade, como elemento precursor de anticorpos. A sua carência propicia, portanto, a diminuição da resistência orgânica às infecções. ZEMAN (1970) afirma ter sido demonstrado que a restrição de proteína preferentemente à ingestão alimentar total, durante a gravidez

da rata, resulta na produção de filhotes menores do que os normais. O número de células do fígado, rim, coração, timo, cérebro e na carcaça remanescentes desses filhotes, é reduzida ao nascimento, indicando uma diminuição na razão da reprodução celular durante a gestação.

De acordo com FREITAS, SOUZA, PINTO (1994), vários estudos sobre a influência de desnutrição sobre a cavidade oral de ratos, principalmente sobre as glândulas salivares, relatam que o tamanho celular, o número de células e a função de componentes bucais podem estar alterados, quando estes animais são submetidos a uma depleção protéico-calórica. No tocante a modificações na estrutura dentária frente à desnutrição, pouco tem-se avaliado. Sabe-se que alterações do tipo hipoplasia do esmalte ocorrem quando o paciente sofre uma forte depleção protéica, mas em relação aos demais tecidos dentários e informações precisas sobre os componentes orgânicos e inorgânicos do esmalte ainda continuam obscuras.

Tendo em vista a escassa literatura referente aos efeitos da desnutrição no sistema estomatognático de ratos e com o intuito de avaliar os danos acarretados no estado gestacional deste animal durante a erupção do elemento dentário, bem como aos tecidos dentários e sua formação, é que se propõe a realização deste trabalho experimental.

1.6 Objetivos

Geral:

O objetivo do presente estudo experimental foi determinar, em ratos *Wistar*, alterações dentárias decorrentes da administração de uma dieta hipoprotéica.

Específicos:

- Analisar histologicamente o impacto que a desnutrição protéica pode acarretar ao germe dentário.
- Detectar possíveis alterações na quantificação das proteínas hepáticas e séricas.
- Identificar alterações entre as concentrações de cálcio e fósforo na coroa do elemento dentário.
- Verificar e quantificar as alterações nos minerais presentes na dentina e no esmalte pelo método do EDX.
- Analisar os efeitos da dieta hipoprotéicas, por microscopia eletrônica de varredura, na estrutura dos elementos dentários erupcionados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Dietas Experimentais

Para a realização deste trabalho, foram elaboradas duas dietas experimentais, à base de caseína, uma servindo como dieta controle, apresentando 14% de proteínas, (**DC**) e preparada segundo as normas da AIN-93 (REEVES, NIELSEN, FAHEY Jr, 1993) e uma dieta hipoprotéica contendo 4% de proteína (**DH**) conforme a Tabela 1.

TABELA 2- Composição centesimal das dietas experimentais

NUTRIENTES	DIETAS EXPERIMENTAIS (g/1000g de ração)	
	<i>Dieta Controle</i>	Dieta hipoprotéica
Caseína ^a	147.34	42.10
Sacarose	100.00	40.00
Óleo de soja	40.00	40.00
Celulose microcristalina	50.00	50.00
Mistura mineral ^b	35.00	35.00
Mistura vitamínica ^b	10.00	10.00
L-cistina ^{b, c}	1.80	0.60
Bitartarato de Colina ^b	2.50	2.50
Terc.butil-hidroquinona ^b	0.008	0.008
Amido ^d	613.35	779.79

a) A caseína contém 95% de proteína.

b)As misturas vitamínica e salínica, a L-cistina, o terciário butil-hidroquinona e bitartarato de colina, foram adicionados às dietas segundo as recomendações da AIN-93, REEVES,NIELSEN,FAHEY Jr. (1993).

c) A L-cistina foi utilizada para suplementar os aminoácidos sulfurados da caseína.

d) O amido de milho foi estimado por diferença.

2.2 Procedimentos técnicos no preparo das dietas experimentais

Parte do amido, sacarose e água destilada utilizada no preparo das dietas foram solubilizados em forma de gel, à temperatura de 100°C. A caseína, a mistura salínica, a mistura vitamínica, L-cistina, bitartarato de colina, butil-hidroquinona e o óleo de soja foram adicionados à ração após o gel atingir a temperatura de 40°C.

As dietas foram peletizadas e levadas à secagem em estufa aerada à temperatura de 40°C durante 48 horas. Depois de prontas as dietas foram identificadas, estocadas em caixa de polietileno e mantidas à 4°C.

2.3 Animais Experimentais

Foram utilizados inicialmente 24 ratos, albinos da linhagem *Wistar* sendo 18 fêmeas e 6 machos, com 120 dias de nascidos, pesando em média 300g, provenientes do biotério da Base de Pesquisa de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Bioquímica da UFRN. Durante o ensaio biológico, os animais foram mantidos em um ciclo fotoperiódico com 12 horas no claro e 12 no escuro. A temperatura ambiental foi controlada entre 23 e 26°C e a umidade relativa do ar foi de 60%, com exaustão permanente de odores.

Inicialmente, as fêmeas foram pesadas e colocadas em gaiolas individuais e divididas em dois grupos, sendo 12 animais pertencentes ao grupo DH e as 06 demais, ao grupo DC. Durante 15 dias o grupo de animais da dieta hipoprotéica foi submetido a restrição alimentar com o objetivo de induzir a desnutrição, e a dieta do grupo controle fornecida “*ad libitum*”. O peso das ratas foi aferido a cada 05 dias e a ingestão de alimentos a cada 03 dias.

O acasalamento foi realizado em seguida, na proporção de três fêmeas para cada macho, em gaiolas de aleitamento, durante 15 dias. Os animais

continuaram com as rações pré-estabelecidas, sem restrição de água e alimento até o final do experimento.

Com o diagnóstico de prenhez, as ratas foram colocadas em gaiolas de aleitamento individuais para o nascimento dos filhotes. No primeiro dia de vida, dois filhotes de cada grupo foram retirados perfazendo um total de 10 animais por grupo e após o sacrifício, a amostra foi submetida à determinação do parâmetro peso/estatura e análise histológica dos germes dentários. Os demais seguiram com as respectivas dietas durante a amamentação e crescimento até completarem 60 dias de vida. Após esse período, um total de 80 animais sendo 40 pertencentes ao grupo DH e 40 ao grupo DC, foram sacrificados e submetidos à determinação dos parâmetros peso/estatura e análise dos componentes inorgânicos dos elementos dentários.

2.4 Análise histopatológica dos germes dentários

Após anestesia e sacrifício dos animais com éter etílico, os mesmos foram submetidos a remoção da mandíbula com auxílio de um bisturi e de uma pinça clínica. A peça cirúrgica foi então colocada em um frasco contendo formol a 10% e levada para o Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da UFRN para análise histopatológica. Objetivando uma visão longitudinal dos germes dentários, foi necessário o seccionamento da mandíbula na altura dos incisivos inferiores. As hemi-mandíbulas foram então submetidas ao processamento histológico de rotina, com posterior coloração pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). As secções histológicas foram analisadas através de microscopia óptica, utilizando-se microscópio binocular com objetivas de 5, 10, 20 e 40 vezes de aumento.

Tomando-se por base os incisivos inferiores foram adotados escores padronizados correspondendo as seguintes abordagens descritivas, de acordo com as objetivas microscópicas utilizadas:

- ◆ Presença dos incisivos inferiores
 - 1 – Ausência de ambos
 - 2 – Presença de apenas um
 - 3 – Presença de ambos

- ◆ Estágio da odontogênese em que se encontram os incisivos inferiores:
 - 1 – Estágio de botão
 - 2 – Estágio de capuz
 - 3 – Estágio de campânula
 - 4 – Estágio de aposição e calcificação

- ◆ Presença de estruturas pertencentes à morfologia do germe dentário. Dentre as estruturas pesquisadas temos: o epitélio interno do esmalte, o epitélio externo do esmalte, a papila dentária, os odontoblastos em paliçada, os ameloblastos, a pré-dentina , a dentina e o esmalte. Os escores foram padronizados da seguinte forma:
 - 1 – Ausência da estrutura
 - 2 – Presença da estrutura

2.5 Avaliação do estado nutricional dos animais

2.5.1 Avaliação dos parâmetros peso e estatura

De acordo com CUPPARI (2002), a antropometria é a medida do tamanho corporal e de suas proporções. Trata-se de um dos indicadores diretos do estado nutricional, sendo as medidas mais utilizadas na avaliação antropométrica o peso, a estatura e a idade dos animais. No presente estudo, as medidas foram aferidas no primeiro dia de vida, com um total de 10 animais por grupo, e no sexagésimo dia, com 40 animais de cada grupo, perfazendo uma amostra total de 100 animais.

Os animais foram anestesiados com éter etílico e em seguida pesados, com auxílio de uma balança OHAUS. Para a medição da estatura foi utilizada uma fita

métrica inelástica tomando-se como referência craniana o focinho e como referência caudal a extremidade final da cauda do animal.

2.5.2 Coleta de Sangue

Sob anestesia com éter etílico , os animais foram submetidos a uma incisão abdominal e torácica, sendo o sangue coletado por punção cardíaca com seringas descartáveis. Após a coagulação, o sangue foi centrifugado a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos para a obtenção do soro para análises.

2.5.3 Proteínas totais

As proteínas séricas foram quantificadas através do Kit LABTEST[®]. Para tal determinação, foram utilizados 0,01 mL de soro dos animais experimentais e 2mL do reativo do Biureto. Após homogeneização em agitador de tubos e 15 minutos de repouso, as absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro a 545nm. (HENRY, CANON, WINKELMAN,1974)

2.5.4 Albumina

Os níveis de albumina foram determinados através do Kit LABTEST[®], em alíquotas de 0,01mL de soro dos animais experimentais e controles nas quais foram adicionadas 2,5mL do reagente de cor. Os tubos foram agitados e deixados em repouso durante 15 minutos, sendo as absorbâncias determinadas em espectrofotômetro a 630nm. (HENRY, CANON, WINKELMAN, 1974)

2.5.5 Eletroforese de proteínas séricas

A eletroforese das proteínas séricas foi realizada seguindo o procedimento utilizado por NAOUN, 1990 . As fitas de acetato de celulose foram mergulhadas em tampão Tris-Veronal sódico 0,05M, pH 8,6, durante 3 minutos; a fita umedecida foi

colocada entre papéis de filtro para retirar o excesso do tampão e, em seguida, conectada à ponte da cuba de eletroforese, contendo o tampão referido em quantidade suficiente para cobrir os eletrodos e as extremidades da fita; as amostras foram aplicadas a uma distância de 1/3 da extremidade da fita próximo do pólo negativo com o aplicador semimicro. A eletroforese foi realizada em corrente de 200 volts por um período de 35 minutos. Após esse tempo, a fita foi retirada da cuba e corada com Ponceau-S por, aproximadamente, 8 minutos. Em seguida, esta foi retirada do corante e colocada em solução descorante de ácido acético a 5%, até que a fita descorasse totalmente, ficando as frações protéicas bem evidentes. A seguir, essas frações foram desidratadas em metanol durante 1 minuto e após esse período a fita colocada em uma solução transparentizadora constituída por metanol, ácido acético e glicerina, nas proporções de 21,25: 3,50: 0,25 mL, respectivamente, durante 2 minutos. A fita foi montada adequadamente em placa de vidro, evitando a formação de bolhas, e levada para a estufa a 60°C, para a sua secagem e transparentização completa em aproximadamente 10 minutos. As leituras das frações protéicas foram realizadas em densitômetro.

2.6 Extração das proteínas do fígado

Após a exanguinação, os animais foram submetidos à remoção do fígado que logo em seguida, foram pesados em balança analítica e congelado a 0°C para posterior análise. Um fragmento pesando 100mg foi removido do lobo posterior do fígado dos animais e foi macerado em um potter de Pirex com 2mL de hidróxido de sódio 0,1N até a obtenção de um extrato homogêneo. Em seguida o volume foi completado para 10mL com hidróxido de sódio 0,1N. A maceração foi realizada a 4°C. A concentração de proteínas foi avaliada pelo método de LOWRY, ROSENBROUGH, RANDALL (1951), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão.

2.7 Remoção dos elementos dentários

Após a conscientização da morte do animal, foram realizadas as exodontias dos incisivos inferiores. Para a realização desta remoção foi necessário o uso de cinzel e massa cirúrgica. Inicialmente, o colo do dente foi marcado com lápis grafite para a correta colocação do cinzel. Com a demarcação do colo, o cinzel foi então posicionado e com um toque da massa cirúrgica o elemento dentário foi removido, como mostra as Figuras 2 e 3. Os dentes foram separados e acondicionados em tubos plásticos de 2mL, devidamente etiquetados, contendo soro fisiológico, para a realização das demais análises.



FIGURA 2 – Visão dos incisivos do animal antes da remoção.



Figura 3 – Incisivos inferiores dos animais dos grupos DC e DH respectivamente

2.8 Análise morfológica dos elementos dentários através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a realização do estudo morfológico, foram separados 10 dentes de cada grupo para serem analisados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As amostras foram levadas ao Laboratório de Geofísica do Departamento de Geologia da UFRN, onde foram colocadas em porta amostras cilíndrico metálico cuja dimensão é de 1mm de comprimento por 0,9mm de diâmetro, fixados com o auxílio de cola de prata (Silverprint 20). Cada amostra foi revestida por uma camada de ouro de aproximadamente 350Å para melhor visualização e detalhamento das estruturas analisadas. (JOHNSON, 1996)

A observação foi inicialmente realizada com um aumento de 15 vezes, considerando toda a extensão do elemento dentário em questão. A seguir foram utilizados aumentos de 100 e 10.000 vezes percorrendo-se toda a região, em busca de detalhes existentes entre os tecidos dentários. As fotomicrografias foram arquivadas para posterior análise.

2.9 Análise da composição dos elementos dentários através da Espectrometria por Dispersão de Energia de Raios-X (EDX)

Através do método EDX (JOHNSON, 1996), realizou-se microanálise química, da ordem de um micrômetro cúbico. O EDX apresenta detectores que são materiais semicondutores, e possuem softwares matematicamente sofisticados, para o processamento dos sinais de intensidade de raios-X. Os sinais utilizados na análise química por EDX, são gerados a partir da interação de um feixe de elétrons de alta energia (20 Kv) com os elementos da superfície da amostra. A forma de saída dos sinais pode ser representada tanto por um gráfico de picos de intensidade, como por um mapa de distribuição de cada elemento químico na superfície da amostra. A medida dos fótons de raios-X gerados envolve a sua conversão em cargas discretas em um detector específico. Como a geração dos fótons está sujeita a flutuações estatísticas o valor medido será sempre uma média.

A grande vantagem desta técnica está no fato de que a análise é realizada a partir de um volume muito pequeno de material, e a partir dessa amostra, que será limitada pelo volume de interação do feixe de elétrons, a composição elementar poderá ser determinada até limites da ordem de 0,1% (100 ppm), o que corresponde a um limite de detecção, que em termos de massa, corresponde a ordem de 10^{-16} a 10^{-15} CHINAGLIA (1998). Com base nesta informação pode-se avaliar a concentração de minerais que compõem o elemento dentário, de modo semi-quantitativo, cuja a quantificação da porcentagem atômica do material inorgânico foi expressa em gráficos. No presente estudo, foi realizado um levantamento dos principais minerais presentes no esmalte e na dentina dos elementos dentários extraídos dos animais.

2.10 Determinação da concentração de cálcio no elemento dentário

Foram utilizados neste estudo, dois grupos de 20 dentes cada. Os elementos dentários extraídos foram inicialmente pesados em balança analítica e levados à estufa para a eliminação da umidade presente nos dentes fazendo com que os resultados obtidos fossem apenas do cálcio presente nas amostras secas. Em seguida, os elementos dentários foram colocados em solução de 3mL de HCl 50% durante 24 horas para total descalcificação.(OLWEILER, 1981)

Após 24 horas, a solução foi centrifugada em 3000 rpm por 10 minutos. Desta solução foi retirada uma alíquota de 0,5mL que foi então diluída a 250mL em água destilada. Para a análise da concentração de cálcio, as amostras foram levadas ao Laboratório de Química Analítica Quantitativa do Departamento de Química da UFRN, onde foram submetidas à análise pelo Espectrofotômetro de Absorção Atômica. Foram utilizados padrões de cálcio nas concentrações de 1, 2, 3, 4, 5 mg/L.

2.11 Determinação da concentração de fósforo no elemento dentário

Neste estudo foram utilizados 20 elementos dentários de cada grupo, que sofreram total descalcificação, como os referidos na análise da concentração de cálcio. Através do método preconizado por JAMES (1995) o fósforo foi determinado como fosfato pelo método colorímetro do fosfomolibdato de vanádio, no qual o fósforo presente como ortofosfato reage com o vanadato-molibdato produzindo um complexo amarelo-laranja . A absorbância foi determinada em 420nm.

2.12 Análise estatística dos dados

Para verificar a presença de alterações significativas entre os resultados dos grupos estudados quanto a avaliação dos parâmetros peso/estatura, das proteínas séricas e hepáticas, dosagem de cálcio, fósforo e demais minerais foi utilizado o teste-t de Student para dados não-pareados com nível de 5% de significância. Para a análise de consumo de alimento e perda de peso,o teste utilizado foi o teste-t de Student para dados pareados, com nível de 5% de significância. No tocante ao estudo histopatológico quanto aos escores padronizados foi utilizada a estatística descritiva para análise dos dados obtidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a influência da desnutrição sobre a composição dos tecidos dentários, foi desenvolvido um modelo experimental no qual foram administradas, a ratos *Wistar*, uma dieta controle (**DC**) e uma dieta hipoprotéica (**DH**). Para tal, as fêmeas foram submetidas a um processo de desnutrição seguindo-se de acasalamento, gestação, nascimento e lactação dos filhotes. No primeiro dia de vida, 20 animais foram sacrificados para análise histopatológica dos germes dentários e após o ensaio biológico, realizado com os demais animais, os dentes foram excisados e submetidos a uma série de análises dos componentes minerais com o objetivo de uma possível evidência das alterações decorrentes do processo de diminuição do aporte protéico.

3.1 Consumo de alimentos

A quantidade de alimentos ingerida por cada grupo de animais utilizado durante o ensaio biológico, foi verificada a cada 3 dias, e o seu consumo foi registrado como a média das ingestões semanais, como mostra a FIGURA 4. Os animais submetidos à dieta hipoprotéica (DH) apresentaram uma maior ingestão de alimentos, 60,18%, quando comparado ao grupo submetido a dieta controle (DC), 43,50%. Estes dados, de acordo com o Teste t de Student, para amostras dependentes, foram estatisticamente significantes apresentando $p=0,0013$.

Um aumento na ingestão de alimento do grupo DH foi observado na segunda semana e em seguida uma diminuição na terceira semana. Esse aumento pode ser explicado pelo fato da dieta DH conter apenas 4% de proteínas e essa diminuição protéica pode ter levado o animal a uma maior ingestão na tentativa de compensar a falta destes nutrientes. Com o passar do tempo, possivelmente, o organismo iniciou um processo de adaptação, exigindo como isso, um menor aporte protéico, o que provocou uma menor ingestão da dieta por parte dos animais. Esse comportamento alimentar também foi encontrado por WURTMAN (1983) em um estudo realizado com ratos adultos, alimentados com ração isoenergética com diferentes

quantidades de proteínas e glicídios. Foi observado que os organismos dos animais ajustavam o consumo de maneira que os aportes protéicos representavam uma proporção constante dos aportes energéticos consumidos. ANDERSON et al. (1988) e mais recentemente PASSOS et al. (2001) atribuem ao hipotálamo a responsabilidade de ajuste do consumo alimentar. Estes autores relatam que a modificação da concentração de substratos energéticos no plasma, induzida pela alimentação, influencia a síntese de certos neurotransmissores no sistema nervoso central. A serotonina é o neurotransmissor que tem a função melhor documentada; De acordo com BASDEVANT, BARZIC, GUY-GRAND (1995) , além da sua ação sobre a saciedade, a serotonina parece ter uma função no equilíbrio glicídico-protéico da alimentação.

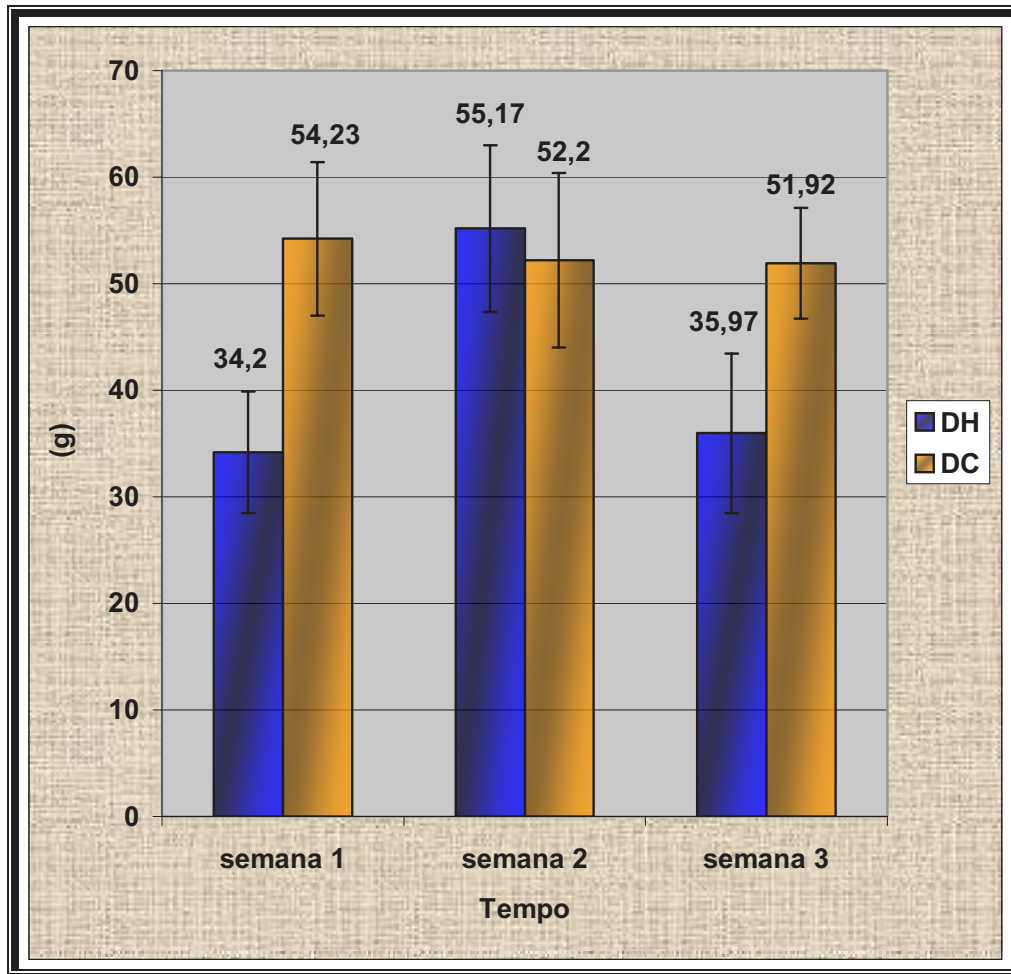


FIGURA 4 – Valores médios e desvios-padrão na ingestão das dietas dos grupos DH e DC no período de 3 semanas.

3.2 Perda de peso dos animais do grupo DH

Com base na FIGURA 5, podemos observar que no início do experimento as fêmeas apresentaram o peso médio de $222,62\text{g} \pm 15,15$. Com o passar de três semanas ocorreu uma perda média de $14,32\text{g} \pm 0,35$ do peso corporal entre os animais analisados. Para corroborar com o diagnóstico do processo de desnutrição, antes e após o período de três semanas foram realizadas dosagens de proteínas plasmática de três animais do grupo DH, e foi observada uma redução média nos níveis da albumina de $2,80\text{g/dL} \pm 0,3$ para $2,71\text{g/dL} \pm 0,5$.

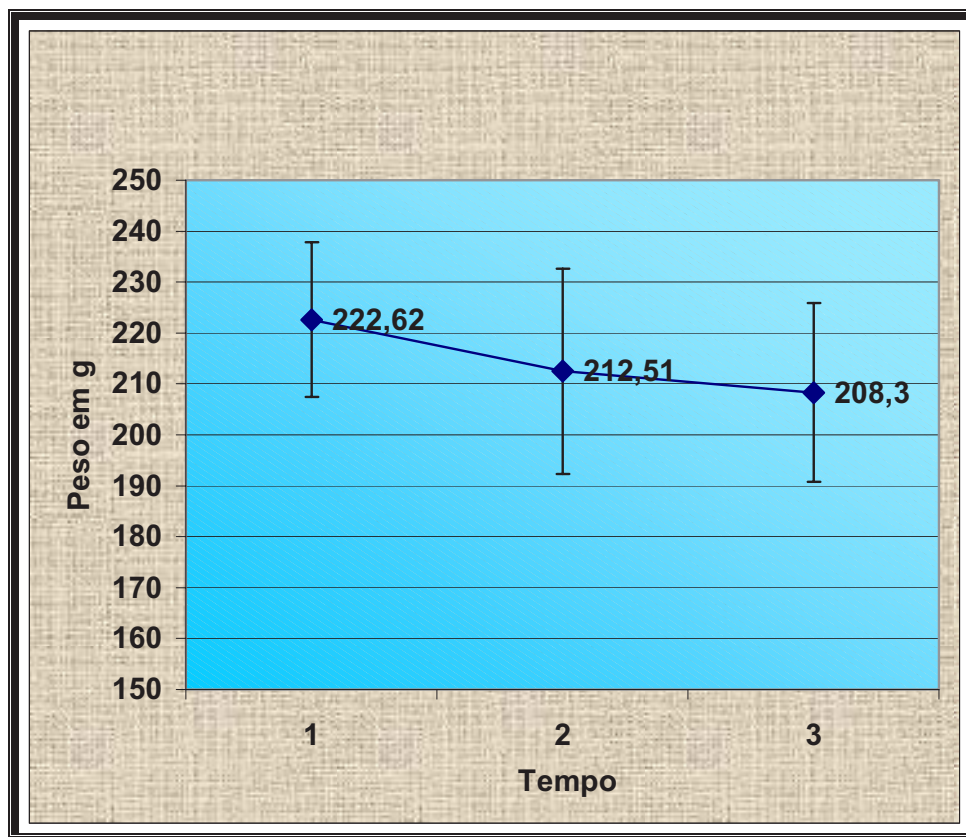


FIGURA 5 – Média e desvio-padrão da perda de peso dos animais do grupo DH no período de 3 semanas.

3.3 Avaliação do estado nutricional dos animais

3.3.1 Avaliação dos parâmetros peso e altura dos animais no primeiro e no sexagésimo dias de vida.

Analisando as FIGURAS 6, 7 e 8, pode-se observar uma discrepância nos valores referentes ao peso e a estatura dos animais tanto ao nascimento quanto na sua fase adulta. Analisando-se o peso, aferido no primeiro dia de vida, vimos que os filhotes oriundos dos animais do grupo DH nasceram com $6,0g \pm 0,86$ enquanto que os filhotes do grupo controle apresentaram $8,2g \pm 1,20$, gerando uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,0015$). Da mesma forma se apresentou a estatura: os animais desnutridos nasceram medindo $6,5cm \pm 0.46$ enquanto que o controle $8,7cm \pm 0.45$. Neste parâmetro, também foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupo. ($p=0,0008$).

Os dados encontrados vêm corroborar com os achados de autores como WATERLOW, TOMKINS, MCGREGOR (1992) que relatam que o crescimento pondo-estatural não depende apenas da quantidade de proteínas e calorias ingeridas, mas também da qualidade destas. Em estudos realizados por NUNES, BATISTA E MICHELI (2002) foi encontrado que animais em fase de crescimento alimentados com dieta hipoproteica e hipocalórica, apresentavam tamanho e peso menores do que os animais do grupo controle.

Durante o período de lactação e desenvolvimento, observa-se nas FIGURAS 6, 7 e 8, que a dieta continuou influenciando no crescimento do animal, até o final do experimento. Para a dieta DH, a média de peso para esses animais $80,6g \pm 1,6$ e para os do grupo controle o valor encontrado foi de $166,14g \pm 1.3$. Detivemos aqui uma diferença de 51,49% entre os grupos estudados. Em relação ao tamanho, a diferença entre os grupo foi de 43%, tendo em vista o grupo desnutrido apresentar em média $28,0 cm \pm 0.8$ e o grupo controle $35,10 cm \pm 0.93$. Ambos parâmetros apresentaram diferença estatisticamente significativa com $p=0.0050$ para o peso e

$p=0.0024$ para a altura dos animais respectivamente. Autores como PLANAS, MORTO e BOLLUFFER (1981), RAMUSSEN (1986), esclarecem que esta redução no crescimento e no peso pode depender tanto da produção diminuída do leite materno como de uma capacidade de absorção intestinal reduzida durante o desenvolvimento dos filhotes. PASSOS et al (2000), demonstraram que o leite de ratas submetidas à desnutrição protéica durante a lactação apresenta menor concentração de proteínas, enquanto o das ratas submetidas à restrição energética apresenta maior concentração de proteínas e lipídios em comparação ao das ratas com alimentação normal.

Pesquisadores como MOURA et al (1996), RAMOS, et al (1997) e PASSOS, et al (2000), mostraram que a restrição protéica em ratas lactantes pode levar a alterações metabólicas e fisiológicas na prole que podem ser permanentes. Estes estudos reforçam o conceito de *imprinting metabólico* que se traduz por uma alteração permanente de uma determinada função, conseqüente à algum evento ocorrido em um período crítico nos primeiros dias de vida. (WATERLAND & GAZA, 1999).



FIGURA 6 – Diferença de tamanho dos animais após 60 dias de experimento.

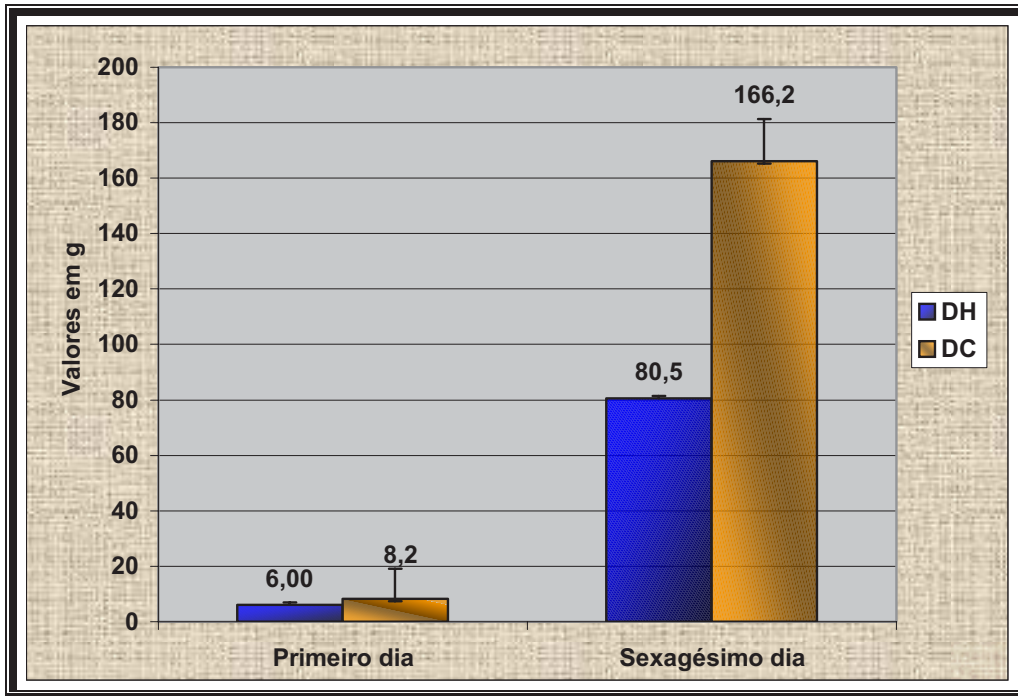


FIGURA 7- Média e desvio-padrão do peso (g) dos animais dos grupos DC e DH no primeiro e sexagésimo dia de vida.

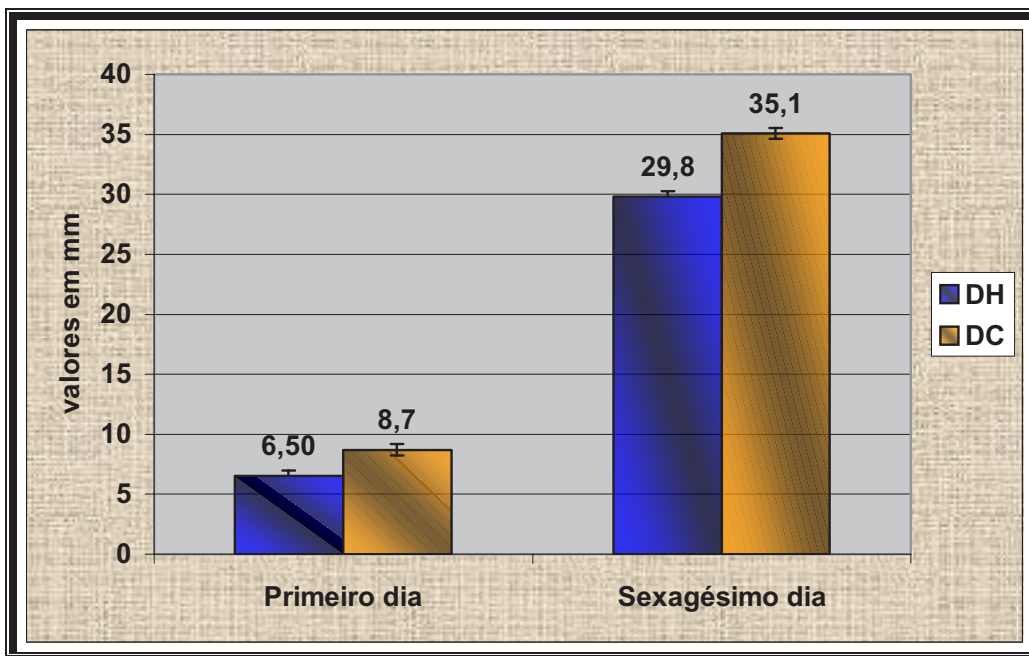


FIGURA 8- – Média e desvio-padrão da estatura (mm) dos animais dos grupos DC e DH no primeiro e sexagésimo dia de vida.

3.3.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Para a avaliação dos efeitos da dieta DH sobre alguns parâmetros bioquímicos, foram determinadas as concentrações séricas de proteínas totais e albumina. Através de eletroforese em fitas de acetato celulose, foi realizada a separação e quantificação das frações protéicas presentes no plasma. A Tabela 3 mostra as médias das concentrações encontradas assim como seus respectivos desvios-padrão. De acordo com HEARD *et al.* (1975); REEDS, LADITAN (1976); COWARD, LUNN, (1981), a avaliação bioquímica realizada através da determinação dos níveis séricos de proteínas totais, albumina e globulinas foi considerada um dos meios para o diagnóstico da desnutrição.

TABELA 3

Determinação das proteínas totais, albumina e globulinas nos grupos DH e DC .

Parâmetros	DH (g/dL)	DC (g/dL)
Proteínas Totais Séricas	5.74 ± 0.10	5.58 ± 0.05
Albumina	2.77 ± 0.22	2.83 ± 0.19
α1-globulina	0.88 ± 0.09	0.96 ± 0.10
α2-globulina	0.31 ± 0.10	0.32 ± 0.04
β-globulina	1.07 ± 0.22	0.96 ± 0.20
γ-globulina	0.71 ± 0.31	0.51 ± 0.15

Valores médios ± desvio padrão, determinados em grupos de 20 animais para os grupos DH e DC.

Analisando a Tabela 3 , podemos observar que as concentrações protéicas encontradas no grupo dos animais alimentados com a dieta DH foram de 5,74g/dL \pm 0,10 para as proteínas totais e 2,77g/dL \pm 0,22 para a fração albumínica enquanto que para o grupo DC obtivemos 5,58g/dL \pm 0,05 e 2,80g/dL \pm 0,19, respectivamente, sendo verificada uma diferença significativa ($p=0,0035$) entre os grupos, apenas entre os valores das proteínas totais.

Observou-se que o grupo DH apresentou valores mais elevados para as proteínas totais (5,74g/dL \pm 0,10) em relação ao controle (5,58g/dL \pm 0,05) .Este fato pode ser explicado pelo aumento nos valores das frações γ -globulina 0,71g/dL \pm 0,31 e β -globulina 1,07g/dL \pm 0,22, sendo que apenas a fração γ -globulina apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,0001$)quando comparada ao grupo DC. Em relação as frações α -globulinas , apenas a α -globulina 1 mostrou diferença significativa ($p=0,0024$) , sendo evidenciado seu valor diminuído no grupo DH.

De acordo com RAVEL (1995) e JOHNSON (2001) a diminuição nos níveis de albumina, globulinas α -1 e α -2 e β -globulina é sugestivo de situações como inflamação aguda ou crônica, doença hepática, lesão tubular e desnutrição protéica. Apesar desses achados serem padronizados para humanos, podemos observar que no presente estudo, os valores de albumina e globulina α -1 mostraram-se reduzidos significativamente.

Trabalhos desenvolvidos por diversos pesquisadores, sobre o fracionamento das proteínas plasmáticas de animais com depleção protéica, mostraram que a fração albumínica é marcadamente diminuída enquanto as globulinas podem ser ou não reduzidas. Segundo KEEN *et al.* (1981); BURNS, DESAI, COHEN (1997), foi demonstrado que a fração γ -globulina encontra-se reduzida em animais com depleção protéica, fato este, não comprovado no presente estudo, em que a fração γ -globulina apresentou-se mais elevada nos animais do grupo DH do que nos do grupo DC.

Com base nas medições peso e altura e dos achados sanguíneos podemos sugerir que foi induzida nos animais experimentais uma desnutrição do tipo marasmática, em que o animal do grupo DH apresentou déficit no peso e na estatura porém, na dosagem protéica, houve uma discreta redução nos níveis de albumina e α -globulina 1.

3.3.3 Avaliação da concentração protéica hepática dos animais

Com a análise da concentração protéica do lobo posterior do fígado dos animais experimentais podemos observar que os do grupo DH apresentaram o valor de $14.58 \text{ g/dL} \pm 2.04$ e o grupo DC, $13.96 \text{ g/dL} \pm 1.8$. Não sendo observado , portanto, diferença significativa .

Esses resultados vêm confirmar os achados clínicos e laboratoriais da desnutrição marasmática, em que o animal com a depleção protéico-energética se apresenta anatomicamente menor , mas mantém fisiologicamente as mesmas características de um animal nutrido. Segundo KALHAN (2000), em seus estudos sobre o metabolismo protéico na gravidez, o que ocorre é uma tentativa de compensação por parte do organismo para suprir as necessidades de proteínas e calorías , promovendo uma adaptação metabólica generalizada.

3.4 Análise histopatológica dos germes dos elementos dentários

Para cada animal estudado foram realizadas três lâminas histológicas perfazendo um total de 60 lâminas da região mandibular correspondente à localização dos incisivos. Após a avaliação histopatológica podemos observar que 100% dos animais estudados apresentaram os incisivos inferiores e que 90% destes elementos dentários encontravam-se no estágio de aposição e calcificação intensa, caracterizando um dos estágios mais avançados da odontogênese. Após este estágio segue-se o processo de erupção dentária. Os 10% restantes encontravam-se em uma fase inicial de calcificação em que apenas foram observados os odontoblastos em paliçada sem, no entanto, a presença da pré-dentina. FIGURAS 9,10,11e 12.

Dentre as estruturas pesquisadas, pertencentes à morfologia do germe dentário foi encontrado em 100% dos animais de ambos os grupos, o epitélio interno do esmalte, o epitélio externo do esmalte, a papila dentária, os odontoblastos em paliçada e os ameloblastos. A presença da pré-dentina foi observada em 90% dos animais estudados, já as estruturas como dentina e esmalte foram encontradas em 60% dos animais analisados tanto do grupo DH como DC. Com base nos achados, pode-se constatar que não existe diferença estatística entre os animais dos grupos DH e DC, no que tange aos achados histopatológicos, como evidenciados nas FIGURAS 9,10,11,12.



FIGURA 9- Germe dentário do grupo DH. (AME- ameloblastos; ODO- odontoblastos; PD-Polpa dentária) (H&EX 40)



FIGURA 10- Germe dentário do grupo DC. (EEE- Epitélio externo do esmalte; EIE- Epitélio interno do esmalte; PD-Polpa dentária).(H&E X 40)

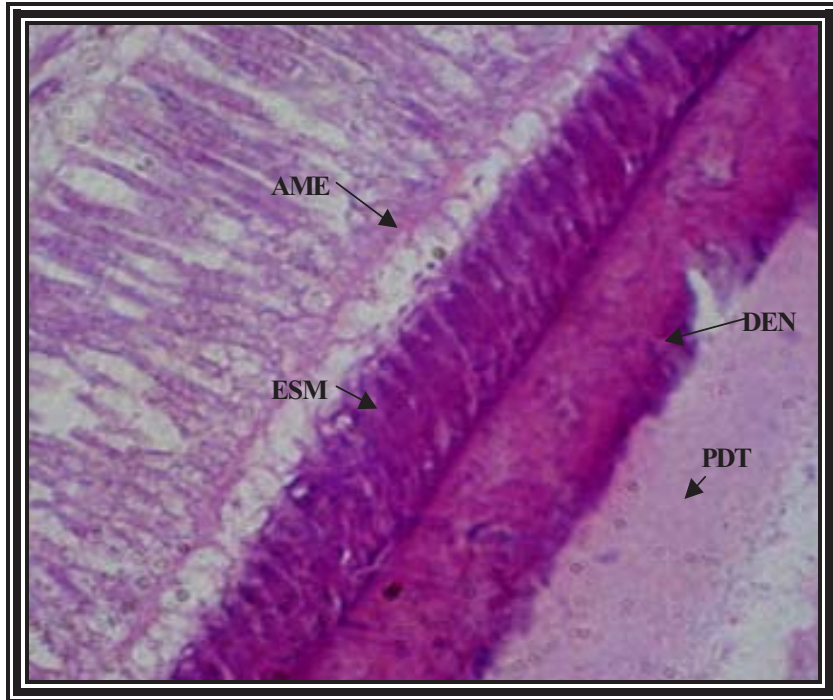


FIGURA 11– Junção amelodentinária dos dentes do grupo DH.
(AME- ameloblastos; ESM- esmalte; DEN- dentina;
PDT- pré-dentina) . (H&E X 100)



FIGURA 12– Junção amelodentinária dos dentes do grupo DC.
(AME- ameloblastos; ESM- esmalte; DEN- dentina;
PDT- pré-dentina) .(H&E X 100)

3.5 Dosagem de Cálcio e Fósforo nos elementos dentários

No que se refere às concentrações de cálcio e fósforo na estrutura dentária, temos que tanto o primeiro quanto o segundo elemento está em menor quantidade no grupo DH. A concentração de cálcio do grupo DH ($10,73\text{mg/dL} \pm 0,53$) é significativamente menor que no grupo DC ($13,75\text{mg/dL} \pm 0,75$), ($p=0,0035$) como mostra a Tabela 4. No tocante ao fósforo temos que para o grupo DH temos uma concentração de $3,74\text{mg/dL} \pm 0,22$ e para o grupo DC, a concentração é de $5,49\text{mg/dL} \pm 0,19$. Estes resultados foram considerados estatisticamente significantes, ($p=0,0003$).

Autores como LOZUPONE, FAVIA (1989), encontraram resultados semelhantes em relação ao cálcio, mas não observaram diferença significativa em relação ao fósforo. Em estudos realizados sobre microdureza do esmalte e sua relação com a dieta deficiente em cálcio e proteínas, LOZUPONE, FAVIA (1988), concluíram que os dentes apresentavam menor quantidade desse mineral e uma fragilidade acentuada em relação ao grupo que apresentavam uma dieta com teores de cálcio e proteínas normalizados.

Um outro fator importante a ser observado, é que o início da odontogênese ocorre durante a fase intrauterina e que o metabolismo da mãe está todo voltado para suprir as necessidades dos fetos em desenvolvimento. Grande parte do cálcio e do fósforo necessários para a fase de calcificação são provenientes do metabolismo materno, que apesar de não estar deficiente em cálcio, apresenta déficit em proteínas e calorias. A instalação de um distúrbio metabólico associado a tentativa do organismo materno em suprir as necessidades suas e do filhote é que pode ser a explicação para uma concentração menor de cálcio e fósforo encontrada no presente estudo. CZAJKA-NARINS (1994) evidencia que para uma perfeita absorção do cálcio da dieta se faz necessário, além de outros fatores, uma ingestão adequada de proteínas e gorduras.

TABELA 4

Concentração de cálcio e fósforo nos elementos dentários dos animais dos grupos DH e DC.

Parâmetros	DH (mg/dL)	DC (mg/dL)
Cálcio	10,73 ± 0,53	13,75 ± 0,75
Fósforo	3,74 ± 0,22	5,49 ± 0,19

Valores médios ± desvio padrão, determinados em grupos de 20 animais para os grupos DH e DC.

3.6 Concentração de minerais do esmalte dentário pelo método EDX .

A Tabela 5, relaciona os minerais, suas concentrações médias e seus desvios-padrão, encontrados através da espectrometria por dispersão de energia de raio-X das áreas marcadas com um quadrado no esmalte e na dentina de ambos os grupos, como mostra as FIGURAS 13 e 14.

Pode-se observar que em relação ao esmalte, temos que todos os minerais, exceto o Cl e o K, apresentaram uma concentração significativamente elevada no grupo DH. O cloro e o potássio se comportaram de maneira inversa. No tocante a dentina, observou-se que apenas o Zn esteve com sua concentração superior no grupo DH e que os demais minerais apresentaram valores inferiores ao grupo DC. Podemos evidenciar, melhor essas diferenças nos ANEXOS A,B,C e D.

ARANHA (1995), em seus estudos sobre a composição bioquímica do elemento dentário relata que a concentração mineral pode sofrer alterações durante período de baixa imunidade, desnutrição e uso de antibióticos que venham a acontecer no período de formação dentária. No entanto o autor não relaciona quais minerais podem estar diminuídos ou aumentados nos quadros de desequilíbrio.

TABELA 5

Relação das concentrações médias dos minerais encontrados no esmalte e na dentina dos animais dos grupos DH e DC através do método do EDX

Elementos	Esmalte (%)		Dentina (%)	
	DH	DC	DH	DC
C	0.16 ± 0,5	0.21±0,01	0.26±0,03	0.34±0,02
F	1.25±0,6	1.35±0,2	1.62±0,04	1.88±0,4
Na	2.02± 0,8	2.07±0,09	2.27±0,4	3.09±0,8
Mg	1.02± 0,01	1.07±0,08	1.75±0,2	2.65±0,5
Al	1.02± 0,6	0.75±0,01	1.00±0,1	1.11±0,04
P	21.43±0,02	22.52±0,4	19.76±0,8	21.87±0,4
Cl	0.91± 0,01	0.64±0,04	0.54±0,01	1.03± 0,2
K	0.58±0,4	0.35±0,01	0.37±0,03	0.83±0,03
Ca	37.13±0,2	40.11±0,8	31.26±0,2	37.03±0,8
Zn	0.59± 0,03	0.78±0,01	0.63±0,04	0.32±0,01

*** Oxigênio completa os 100%**

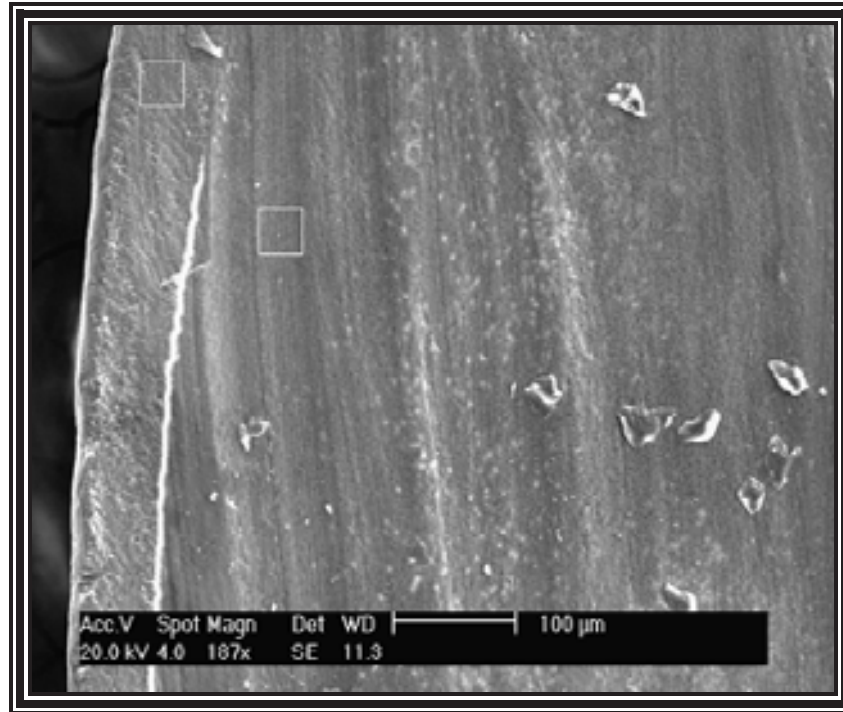


FIGURA 13- Regiões correspondentes no esmalte e na dentina onde foram determinados e quantificados os minerais do grupo DH pelo método do EDX.

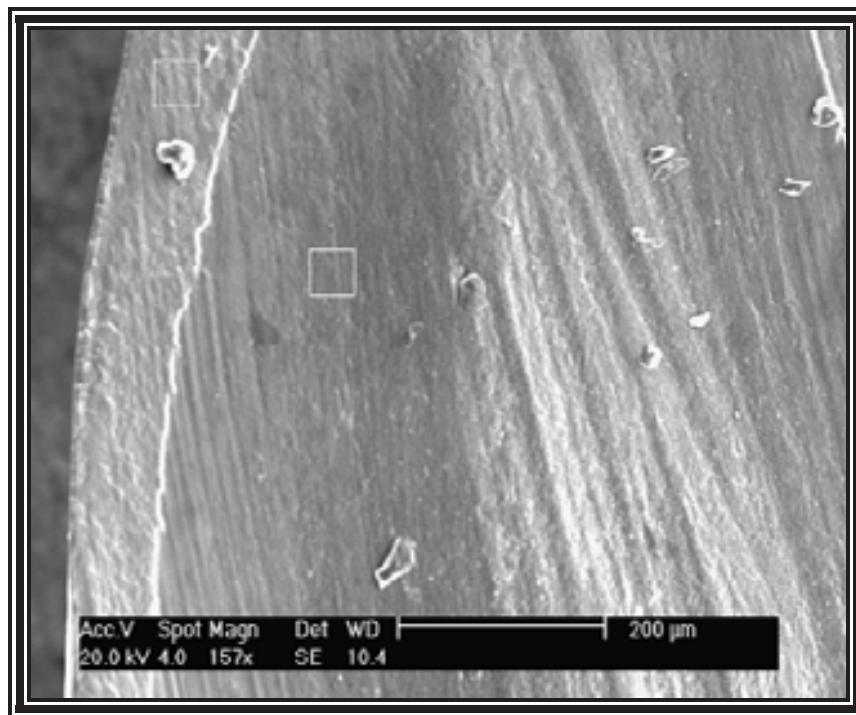


FIGURA 14- Regiões correspondentes no esmalte e na dentina onde foram determinados e quantificados os minerais do grupo DC pelo método do EDX.

3.7 Análise da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Foram realizados estudos morfológicos em 10 dentes de cada grupo. O estudo objetivou analisar o aspecto geral do elemento dentário, bem como verificar a presença de microfendas, o tamanho destas microfendas, a espessura do esmalte e dentina e a superfície dessa dentina.

3.7.1 Análise quanto ao aspecto geral do elemento dentário.

Durante o estudo, foi tomado todo o cuidado para que o elemento dentário não sofresse nenhum tipo de trauma ou injúria, tanto é que para análise do aspecto geral, os dentes foram removidos do ependorff pela base utilizando-se uma pinça e foram cuidadosamente secos com um papel absorvente extra-fino.

Como mostram as FIGURAS 15 e 16, foi observado uma maior quantidade de microfendas nos dentes dos animais do grupo DC e em relação à bordas dentárias, foram detectadas irregularidades no contorno dos dentes dos animais do grupo DH. Essas irregularidades deixaram os elementos dentários com um aspecto quebradiço.

O presença das microfendas podem ser explicadas pelo hábito alimentar dos animais, que roem os pelets de ração e esses movimentos podem provocar ranhuras e até mesmo as microfendas. Outro fator é que com o passar do tempo, os dentes dos ratos não cessam o crescimento como acontece com os dentes humanos. (IRVING, 1957; FERGUNSON e HARTLES, 1966; RASMUSSEM, 1977) . De acordo com SMITH e WARSHAWASKI (1975), a velocidade de crescimento é de 631 micrômetros por dia em um rato macho pesando 100g. A produção de dentina e esmalte continua durante toda a vida do animal e essa constante renovação faz com que os prismas de esmalte presentes na extremidade sejam continuamente substituídos o que pode, associado ao atrito com o alimento, provocar as microfendas observadas. No entanto não foi possível explicar o porque dos dentes

do grupo DC apresentarem topograficamente mais microfendas do que o grupo hipoprotéico.

Em relação ao contorno irregular dos incisivos do grupo DH, pode ser explicado tomando-se por base os achados anteriores. Foi detectado que os animais do grupo DH apresentaram menor concentração de cálcio e fósforo quando comparado ao grupo DC, além do que outros minerais apresentaram concentrações menores nesse grupo. É relevante ressaltar os estudos realizados por LOZUPONE, FÁVIA (1989) sobre a microdureza do esmalte, em que foi comprovado que os animais quando submetidos a uma dieta com redução nos níveis de cálcio e proteínas apresentaram a mineralização do esmalte e da dentina reduzidos. No entanto, FERGUNSON e HARTLES (1966), relataram que não foi encontrada diferença significativa no grau de mineralização da dentina e do esmalte em animais submetidos a dieta com menor teor de cálcio e proteínas.

3.7.2 Tamanho das fendas encontradas

Apesar dos resultados anteriores sobre uma maior quantidade de microfendas nos dentes dos animais do grupo DC, podemos observar que as médias das larguras das microfendas encontradas no grupo DH e DC são respectivamente, $369,66 \text{ nm} \pm 3,45$ e $174 \text{ nm} \pm 5,72$. (FIGURAS 17 e 18). Com isso, vimos que apesar do menor número de microfendas encontradas no grupo DH, estas apresentam mais que o dobro da espessura das microfendas do grupo DC.

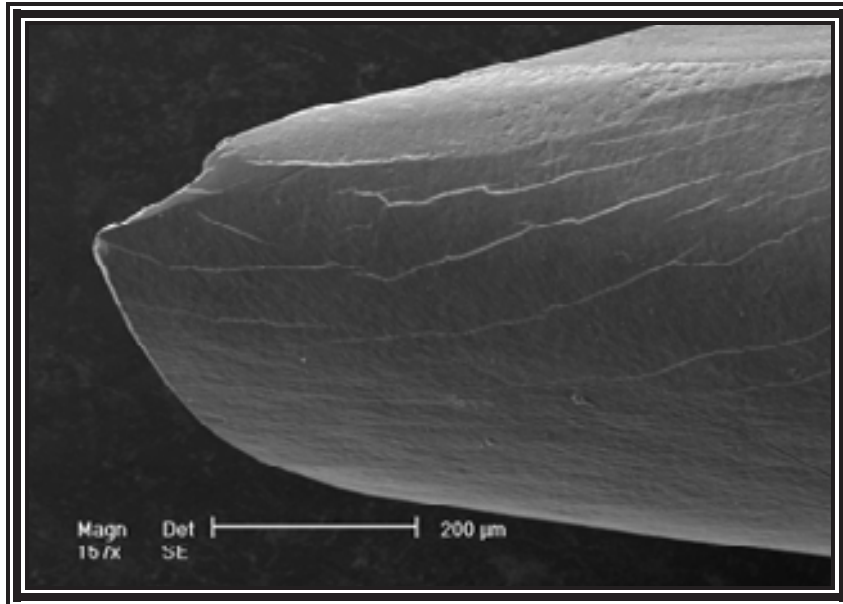


FIGURA 15 – Microscopia Eletrônica de Varredura da borda incisal do incisivo inferior do grupo DH. 157x

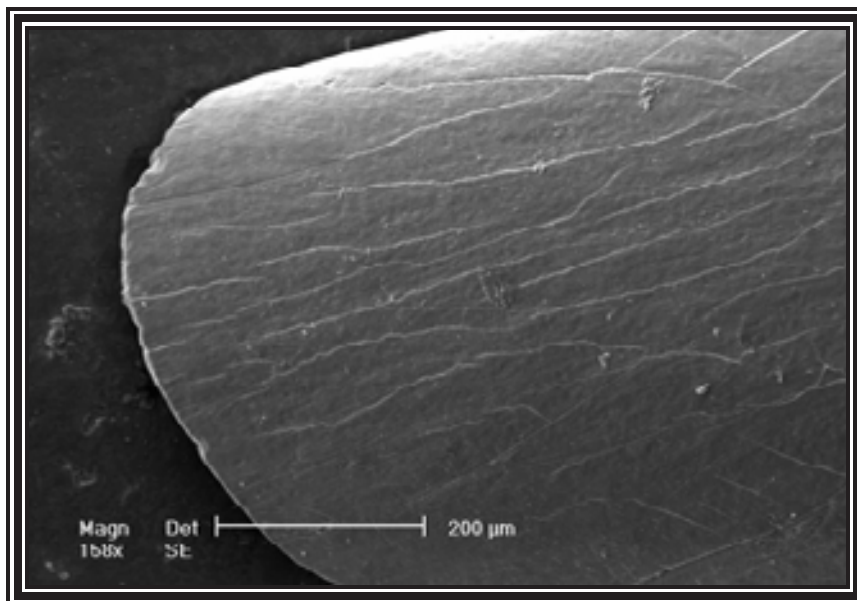


FIGURA 16 – Microscopia Eletrônica de varredura da borda incisal do incisivo inferior do grupo DC. 157x.

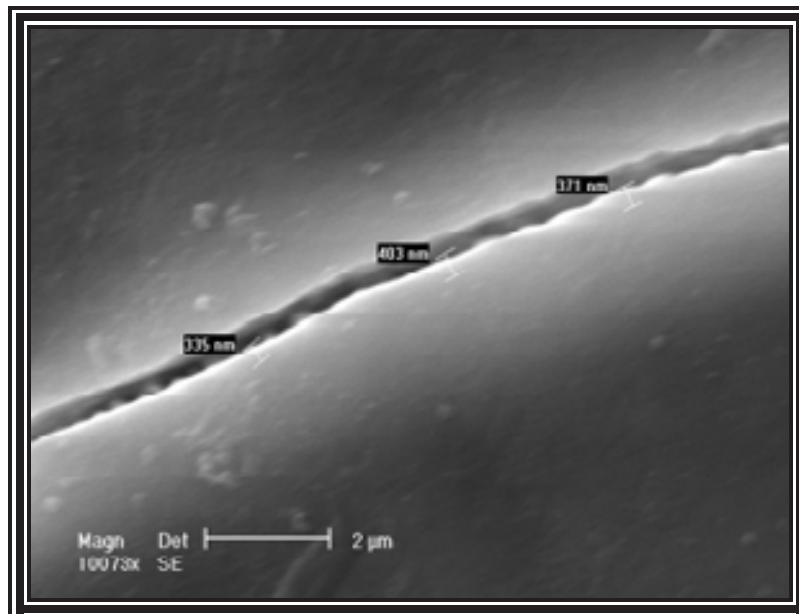


FIGURA 17 – Microscopia Eletrônica de Varredura evidenciando as microfendas encontradas no grupo DH (10073x).

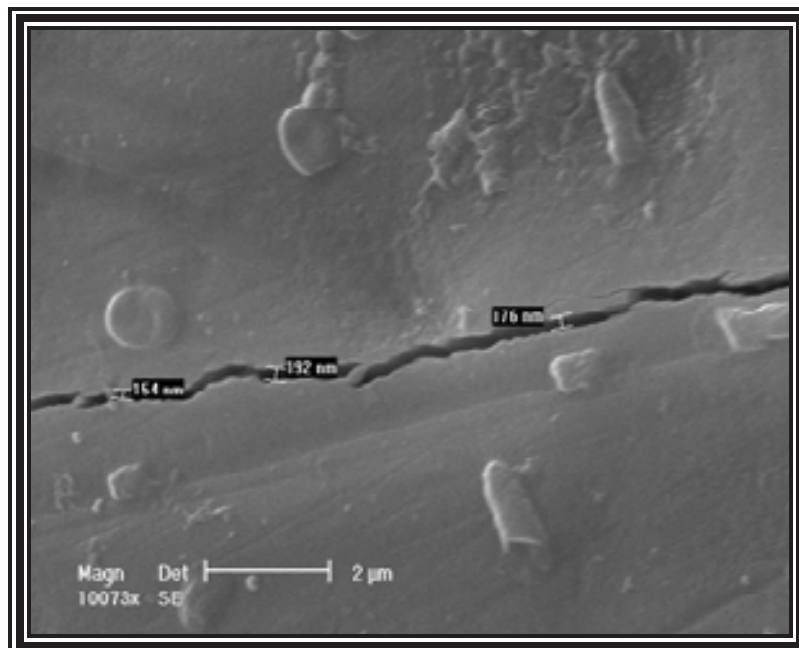


FIGURA 18– Microscopia Eletrônica de Varredura evidenciando as microfendas encontradas no grupo DC (10073x)

3.7.3 Medição da espessura do esmalte e da dentina

Conforme mostrado nas FIGURAS 19 e 20, podemos observar que em relação a espessura média do esmalte, o grupo DH apresentou ($65,1\mu\text{m}\pm 0,8$) portanto uma menor espessura em relação do grupo DC ($79,7\mu\text{m}\pm 1,5$) e o mesmo aconteceu com a avaliação da espessura da dentina, onde foi obtido os valores médios de $33,4\mu\text{m}\pm 0,7$ ($p=0,002$) para o grupo DH e $44,6\mu\text{m}\pm 1,2$ ($p=0,005$) para o grupo DC. Ambas medições apresentaram diferença significativa entre os grupos estudados.

3.7.4 Análise da superfície da dentina.

Para finalizar o estudo morfológico dos elementos dentários dos animais estudados, através do MEV, foi realizado uma varredura na superfície da dentina dos grupos DH e DC. A finalidade foi de pesquisar o trajeto dos túbulos e sua conformação. De acordo com as FIGURAS 21 e 22 podemos observar que o número de túbulos presentes na superfície da dentina do grupo DH é bem menor e mais espaçado do que o do grupo DC. Observa-se também uma distribuição mais linear no grupo DC quando comparado a aleatoriedade em que os poros se abrem no grupo DH. Sugere-se que neste último grupo deva existir um menor grau de organização no percurso dos túbulos dentinários. Não se sabe até que ponto a alteração no aporte protéico e energético pode influenciar a trajetória e conformação destes túbulos.

Através das análises realizadas, ficou constatado que foi desenvolvido entre os animais do grupo DH, uma desnutrição marasmática e que esta condição pode provocar alterações na composição mineral e na morfologia do elemento dentário. A presença de fendas profundas e diminuição dos componentes minerais, neste grupo, pode deixar o meio propício a fraturas no elemento dentário assim como ao desenvolvimento da cárie dentária.

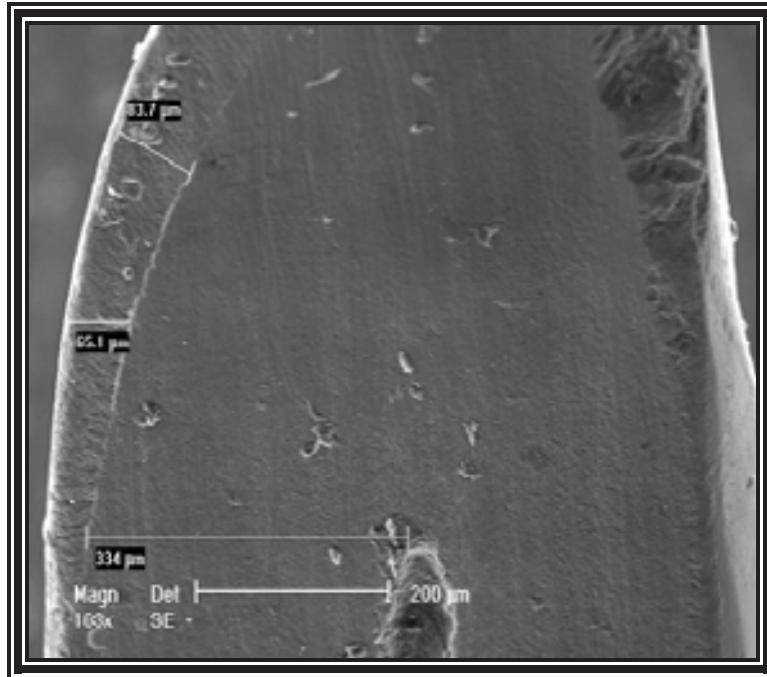


FIGURA 19– Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise das espessuras do esmalte e da dentina do grupo DH (163x).

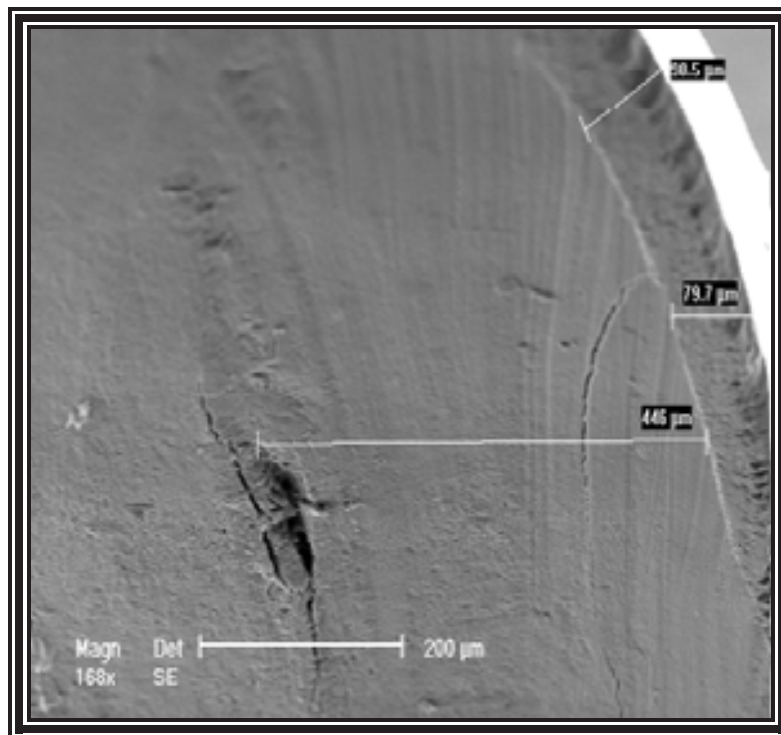


FIGURA 20– Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise das espessuras do esmalte e da dentina do grupo DC (163x).

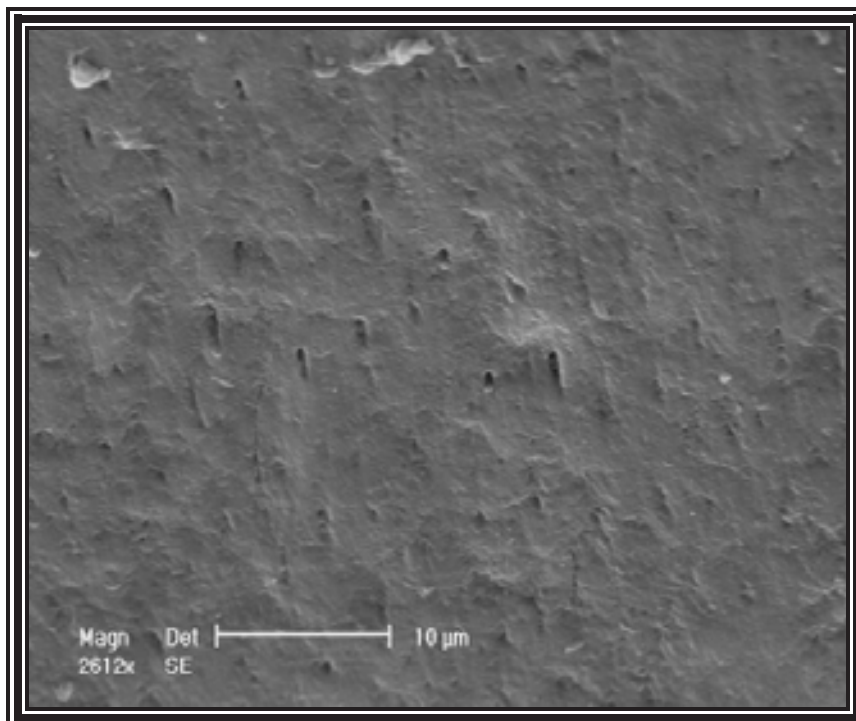


FIGURA 21– Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise da superfície da dentina nos animais do grupo DH. (2612x)

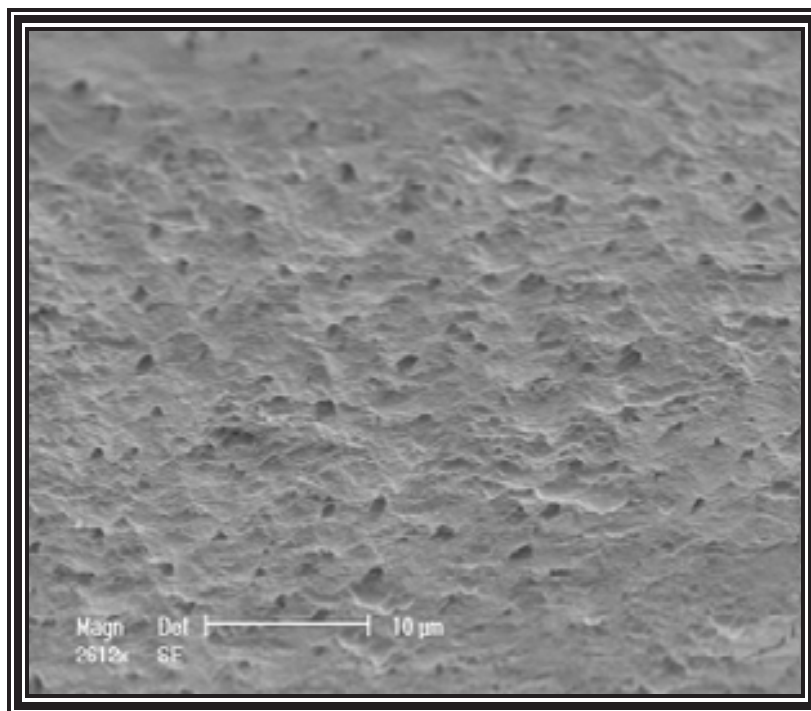


FIGURA 22– Microscopia Eletrônica de Varredura. Análise da superfície da dentina nos animais do grupo DC (2612x)

4. CONCLUSÃO

- ✓ O grupo DH apresentou significativamente diminuídos os parâmetros peso e estatura, tanto no primeiro dia de vida quanto no sexagésimo.
- ✓ O grupo DH apresentou uma concentração significativamente menor de proteínas séricas totais, exceto para a γ -globulina.
- ✓ Quanto à análise histológica dos germes dentários, não houve diferença significativa entre os grupos estudados
- ✓ Dentre os componentes inorgânicos, observou-se uma diminuição significativa nos níveis de cálcio e fósforo na coroa dos elementos dentários do grupo DH.
- ✓ Em relação ao estudo dos minerais presentes no esmalte e dentina desses animais, observamos uma redução nos níveis de C, F, Na, Mg, e Al para ambos tecidos, nos animais do grupo DH.
- ✓ No tocante às alterações morfológicas temos que os dentes dos animais do grupo DH apresentaram bordas quebradiças e de contornos irregulares. O grupo DC apresentou um número maior de microfendas na superfície vestibular, no entanto, o grupo DH apresentou microfendas com o dobro da largura das do grupo DC.
- ✓ Em relação à espessura do esmalte e da dentina, o grupo DH mostrou valores significantemente reduzidos em relação ao grupo DC. Em se tratando do trajeto e organização dos túbulos dentinários observou-se que o grupo DC apresentou uma maior concentração topográfica de túbulos e uma distribuição melhor organizada quando comparado ao grupo DH.

- ✓ A dieta hipoprotéica, utilizada neste estudo, pode levar a alterações nos tecidos dentários, principalmente àqueles que apresentam o componente mineral como seu fundamental constituinte – o esmalte e a dentina.

- ✓ Com base nos achados deste estudo pode-se sugerir que foi desenvolvida uma desnutrição marasmática nos animais do grupo DH.

5. REFERÊNCIAS

ADAS, M. (1990). A injusta estrutura fundiária, o subaproveitamento da terra e a fome. In: **A fome: crise ou escândalo (M.Adas)**, 10^a. ed., p.p.48-58. São Paulo:Ed. Moderna.

AGUIAR, A. D. et al. Avaliação dos hábitos de higiene bucal de crianças de 6 a 36 meses do município de Vila Velha-ES. **J. Bras. Odontoped. Odonto. Bebe**, Curitiba, v.2, n. 6, p.111-118, 1999.

ALVAREZ, J.O.DIEGUEZ-MARINO,J. CACEDA,J.NAVIA,J.M. A longitudinal study in infant malnutriton and dental caries. **J. Dent. Res.**, 1991;70: (Spec Issue),339.

_____LEWIS, C.A., SAMAN, C., et al. Chronic malnutrition, dental caries, and tooth exfoliation in peruvian children aged 3-9 years. **Am. J. Clin. Nutr.**1988;48:368-72.

ANDERSON, J.W. et al. **Nutrição**. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, cap.6,p.63-38:metabolismo mineral,1988.

ARANHA, F. L. **Bioquímica Odontológica**. Sarvier: São Paulo, 1995.102p.

BAILEY, L.B. New standard for dietary folate intake in pregnant women. **Am. J. Clin. Nutr**,2000.71(5):13045-13075.

BASDEVANT,A., LE BARZIC, M., GUY-GRAND, B. Comportement alimentaire: du normnal au pathologique. In: GODEAU, P. **Traité de Médecine Interne**. Paris: Flammarion,1995.9.1809-1824.

BELDA, M.C.;ZUCAS,S.M. Alguns aspectos dos efeitos da desnutrição calórico-protéica sobre o desenvolvimento de órgãos em seres humanos e animais. **Rev. Cien. Farm.** v.3, p. 73-79,1981.

BENITEZ, C.;O'SULLIVAN, D.;TINANOFF,N. Effect or preventive approach for treatment of nursing bottle caries. **J.Dent.Chil.**,61:46-49,1994.

BEZERRA,A.C.B., **Esutdo clínico epidemiológico da prevalência de cárie em crianças pré-escolares de 12 a 48 meses de idade.**Fac.Odont.Univ.São Paulo, 1990 [tese].147p.

BHASKAR, S.N. **Histologia e embriologia oral de orban.** São Paulo: artes médicas. 10^a. ed.1989 .

BIRKHED D. Behavioural aspects of dietary habits and dental caries. **Caries Res.** 1991; 24 (suppl 1):27-35.

BIRKED, D.;IMFELD,T.,EDWARDSSON,S. pH changes in human dental plaque from lactose and milk before and after adaptation. **Caries Res.**,27:43-50,1993.

BLANCO, A.; BREASSANI, R.. Biodisponibilidade de aminoácidos en en el frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Arch. latinoamer Nutr.**, v.61, n.1, p.39 – 52, mar. 1991.

BOWEN, W.H. Food components and caries. **Adv.Dent.Res.**,8:215-20,1994.

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G.; MOLINA, M.R. Estudios sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 27, p. 215-231, 1977.

BROCK, J.F.; AUTRET, M. **Kwashiorkor in Afrika**. WHO Monograph Series No.8, Geneva, Switzerland, 1952.

BURNS, S.P., DESAI, M., COHEN, R.D. Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. **J. Clin Invest** 1997;100(7):1768-74.

BURTON, B.T. **Nutrição humana**. São Paulo: Mcgraw-Hill do Brasil, 1999. cap.3, p.17-22: equilíbrio hídrico, eletrolítico e ácido-básico.

CARR, L.M. A correlation between Mellanby hypoplasia and dental caries. **Dent J. Austr.** 1956; 25:158-160.

CHANDRA, R. K. Nutrition and immunity. **Am. Clin. Nutr.**, v. 53, p.1087-101, 1991

CHINAGLIA, C.R. **Microanálise**. Introdução à microscopia eletrônica de varredura e microanálise. Cap.2, p.13-24. UNESP.1998.

COITINHO, D.C. et al. A influência da história reprodutiva no índice de massa corporal de mulheres brasileiras. **PhD Thesis**. Universidade de São Paulo.1991.

CONSOLARO, A. Cárie dentária, histopatologia e correlações clínico-radiográficas. **Alberto Consolaro**. Bauru: FOB-USP, 1996, 48p.

COWARD, W. A. ; LUNN, P.G. The biochemistry and physiology of kwashiorkor and marasmus. Br. Med. Bull., v. 37, p. 19-24, 1981.

CUPPARI, L **Nutrição clínica no adulto** in Guias de medicina ambulatorial e hospitalar .UNIFESP- Escola Paulista de Medicina. Manole:SP,2002.406p.

CZAJKA-NARINS, D.M. Minerais. In: MAHAN, L.K., ARLIN,M.T. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. 8ª ed. São Paulo: Roca, 1994. cap.7, p.113-146.

DE ANGELIS, R.C. Valor Nutricional das Proteínas - Métodos de Avaliação. **Caderno de Nutrição** , v.10, p.08 -29,1995.

DREIZEN, S.; SPIES, T.D. The incidence of dental caries in habitual sugar cane chewers. **J. Am. Dent. Assoc.** 1952, 45:193-200.

EDWARDSSON, S. Microrganismos associados à cárie. In: Thylstrup, A & Ferjerskov, O.. **Tratado de Cariologia**. São Paulo. P.421, 1988.

ENGLE, P.L. Maternal work and child care strategies in Periurban Guatemala: nutritional effects. **Child Dev.**, v. 62, p.954-965, 1991.

ESCODA, M.S.Q. Desnutrição: gravidade e cronicidade. **Dissertação de Mestrado em Ciências Sociais**.Cap.II, mimeo. UFRN, Natal, 1989. Revisão 9/200.

FAO/WHO. Protein quality evaluation. Preliminar report of a joint FAO/WHO expert consultation. **Food and Agriculture Organization/World Health Organization**, Washington. 1989.

FAO/WHO/UNU. **Necessidades de energia y Proteina**. Série de Informes Técnicos da FAO/WHO/UNU, n.º.724. Organización Mundial de la Saude. Genebra, Switzerland.1985.

FERGUNSON, H.W., HARTLES, R.L. The effect of diets deficient in calcium or phosphorus in the presence and absence of supplements of vitamin D on the incisor teeth and bone of adult rats. **Arch.Oral Biol.**, 11,1345-1364.1966.

FERREIRA, H.S. & OTT, A. M.T. Validação da fita "CIMDER" de 3 cores como instrumento de detecção de risco nutricional entre pré-escolares. **Revista de Saúde Pública**, 28:20-25. 1994

FERREIRA, H.S. **Desnutrição : magnitude, significado social e possibilidade de prevenção** .Maceió:EDUFAL, 2000. 219p.

FRANKOVÁ, S. Relationship between nutrition during lactation and maternal behaviour of rats. **Act. Nerv.Super.**,v.13,n.1,p.1-8,1971.

FREITAS, R.A. SOUZA, L.B., PINTO, L.P. Análise morfológica e morfométrica de glândulas parótidas de ratos submetidos a diferentes graus de desnutrição protéica. **Revista Odontol Univ São Paulo**, v.8, n.1, p.43-49, jan/mar.1994.

HEARD, C.R.C.; FRANGI, S.M.; WRUGHT, P.M.; McCARTNEY, P.R. Biochemical characteristics of different forms of protein-energy malnutrition: an experimental model using young rats. Br. J. Nutr., v. 37, p. 1-21, 1975.

HENRY, R.J., CANON, D.C. WINKELMAN, J.W. **Clinical chemistry, principles and technics**, 2a. Ed. Ew Yoir, Harper&Row, 1974

IDEC –INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO DO RIO GRANDE DO NORTE. Pobreza no Rio Grande do Norte: Condicionantes socioeconômicos, Natal, 1995.

INAN (Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição), (1992). Pesquisa Nacional sobre saúde e nutrição. Resultados preliminares. Brasília: **INAN/MS**.

IRVING, J.T. A comparison of the influence of hormones, vitamins and other dietary factors upon formation of bone, dentin and enamel. **Vitam.Horm.** 15,291-320,1957.

JAMES, C. **Analytical chemistry of foods**. Blackie academic & professional: New York.1995.178p.

JOHANSSON, J.; BIRKHED, D. A dieta e o processo cariogênico. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2ª ed. São Paulo: Santos, 2001.421p.

JOHNSON, R. Environmental scanning electron microscopy -An Introduction to ESEM® **Philips Electron Optics Eindhoven**, The Netherlands, 1996.

JOHNSON, A.M. ROHLFS, E.M. SILVERMAN, L.M. Proteins. In: Burtis C.A., Ashwood E.R. Tietz. **Fundamental of Clinical Chemistry**. 5th.2001;325-47.

KALHAN, S.C. Protein metabolism in pregnancy. **Am. J. Clin. Nutr.** 2000; 71(suppl):1249s-55s.

KEEN, C.L., LONNERDAL, B.O. CLEGG, M. HURLEY, L.S. Developmental changes in composition of rat milk: Trace elements, mineral, protein, carbohydrate and fat. **J. Nut.** 1981;111:226-30.

KRIGER, L. **ABOPREV**: Promoção de saúde bucal. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. 475p.

LAJOLO, F.M.; TIRAPÉGUI, J. Proteínas e Aminoácidos. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. **Ciências nutricionais**, São Paulo: Sarvier, 1998. p. 41-68.

LEUNG, P.; ROGERS Q. R. **Disturbances in Amino acid Balance, in total Parenteral Nutrition**. H. Gladimi (ed.) New York/ London Sydney/ Toronto, J. Willy & Sons, 1975. p. 259 –284.

LISTER, D. McCANCE, R.A. Severe undernutrition in growing and adult animals. **Br. J.Nutr.**, v.21, p.787-99, 1967.

LOESCH, L. **Cárie dental**: uma infecção tratável. Rio de Janeiro: Cultura Médica. 1993). Cap.10, p.128-150.

LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FAR, A.L.; RANDALL. R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v.193, p.265-275, 1951.

LOZUPONE, E. ,FAVIA, A. Distribution of resorption processes in the compacta and in the spongiosa of bones from lactating rats fed a low-calcium diet. **Bone**, 9,215-224. 1988.

LOZUPONE,E. ,FAVIA, A. Effects of a low calcium maternal and weaning diet on the thickness and microhardness of rat incisor enamel and dentine. **Arch oral biol.** V.34,n.7, 491-498, 1989.

MAGUIRE, A.; RUGG-GUNN, A.J. Medicines in liquid and syrup form used long-term in paediatrics: a survey in the northern region of England. **Int. J. Pediatr.Dent.**,4:93-9,1994.

MAHAN, L.K.; ARLIN, M.T. Doenças intestinais In: MAHAN, K.;ARLIN,M.T KRAUSE: **Alimentos, nutrição e dietoterapia.** 9^a ed. São Paulo: Roca, 1998.

MARTHALER, T.M. Changes in the prevalence of dental caries: how much can be attributed to changes in diet? **Caries Res** 1990;24(suppl 1):3-15.

McLAREN, D.S. The great protein fiasco. **Lancet.** v. 2, p. 93-96, 1974.

MELLANBY M. The influence of diet on caries in childreneeth. **Spec. rep. Ser. N.** 211 (Medical Research Council, London) 1936.

MILLER, D.S.; PAYNE P.R. Dietary factores influenced nitrogen balance. **Proc. Nutr. Soc.** v. 23, p. 11, 1963.

_____ . A theory of protein metabolism. **J. Theoret. Biol.**, v. 5, p. 398,1964.

_____.;OKOISOR,F.E., LIDDINGTON,D.A. Dental disease as an indication of nutritional problems. **J. Dent. Child.**,53(1):27-31,1986.

MITCHELL ,H.S., RYNBERGEN, H.J.et al. **Nutrição.** 16 ed.Rio de Janeiro: Interamericana, 1978, cap.15, p.225-31: Crescimento e desenvolvimento.

MOSHÉ, S. L.; Seizures in the developing brain. **Neurology**. 1993; 43:S3-S7.

MOURA, A.S., CARPINELLI, A.R., BARBOSA, F.B., GRAVENA, C., MATHIAS, P.C. Undernutrition during early lactation as an alternative model to study the onset of diabetes mellitus type II. **Research Communication Molecular Pathology and Pharmacology**, Westbury, v.92,n.1,p.73-84,1996.

MUNRO, H.N. General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and by hormones. IN: MUNRO, H.N.; ALLISON, J.B. (Eds.). **Mammalian protein metabolism**, Academic Press, New York, p. 381-481, 1964.

NAOUM, P.C. **Eletroforese de Proteínas**. In: Eletroforese Técnicas e Diagnóstico. Livraria Santos , p. 35-37, 1990.

NIKIFORUK, G.;FRASER, D. The etiology enamel hypoplasia: a unifying concept. **J. Pediat.**,98:888-93,1981.

NUNES, M.L.; BATISTA, B.B.; MICHELI, F.BATISTELA, V. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. **Jornal de Pediatria**. V.77, n.1, 2002 p.39-44.

OLIVEIRA, M.A.F., FASANARO, K.T. Dieta e cárie dentária In:OLIVEIRA, A.G.R.C. et al.**Odontologia Preventiva e Social – textos selecionados** (CMOS) UFRN_Natal: PROIN.EDUFRN-Editora de UFRN, 1997.252p.

OLWEILER, O.A. **Fundamentos de análise instrumental**: Rio de Janeiro: livros Técnicos e Científicos, 1981. p.193-207.

PASSOS, M.C.F., RAMOS, C.F. MOURA, E.G. TEIXEIRA , C.V., Comportamento alimentar de ratos adultos submetidos à restrição protéica cujas mães sofreram desnutrição durante a lactação. **Rev. Nutr. Campinas**, 14:7-11,2001.

PHILLIPS, I.; WHARTON, B. Acute bacterial infection in kwashiorkor and marasmus. **Br. Med. J.**, p.407-409, 1968.

PLANAS, J.M., MORTO,M. BOLLUFFER, J. Effect of calcium omission on active transport in suckling rats. **Rev. Exp. Fisiol.** 37,231-232,1981.

POEHLMAN, E.T. & HORTON, E.S. Energy needs: assessment and requirements in humans. In: SHILS, M.E. et al. **Modern nutrition in health and disease**. 9a. ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

PRADO M. S.; ASSIS A.M.O.; FREITAS, M. C. S.; SILVA, R.C.R.; VARJÃO,M.L. Padrão e seleção de alimentos complementares e sucedâneos do leite materno em comunidades rurais do semi-árido baiano. **R. Nutr. PUCCAMP**, Campinas, v. 8, n.1, p.1-20, 1995.

RAMOS, C.F. LIMA, A.P.S. TEIXEIRA, C.V. BRITO, P.D., MOURA, E.G. Thyroid funct in post-wearing rats, which dams were fed a low protein diet during suckling. **Brazilian Journal of Medical Biology Research**, Ribeirão Preto, v.30,n.1,p.133-137,1997.

RASMUSSEN, P. Histologic and microradiogrphic observations on teeth during calcium deprivation in rats. **J. Dent. Res.**, 85,549-556, 1977.

_____ Effect of calcium deprivatio on rats dams and on fetuses and newborn offspring. **Calc.Tiss.Int.** 38,288-292,1986.

RATNER, S. Enzymes of arginine and urea synthesis. **Adv. Enzymol.**, v.39, p. 1-90,1973.

RAVEL. Serum protein assay methods. In: Ravel. **Clinical Laboratory Medicine**. 6th. 1995;342-57.

REEDS, P. J; LADITAN, A. A. O. Serum albumin and transferrin in protein-energy malnutrition. Br. J. Nutr., v. 36, p. 255-263, 1976.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H. FAHEY JUNIOR, G.C. AIN-93 Purified diets for Laboratory Rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of AIN-76 Rodent Diet. **J. Nutr.**v.123,p.1939-1951,1993.

SAMBAQUY,C. **Nutrição da gestante**, (s.d) Cap.1,p.13-22: Gestação e alimento.

SGARBIERI, V.C. **Alimentação e nutrição: fator saúde e desenvolvimento**. São Paulo: edit. Unicamp. 2001 . cap.7 p.135-155: funções metabólicas e importância nutricional da água e dos alimentos minerais.

SMITH, C.E. WARSHAWSKY, H. Cellular renewal in the enamel organ and the odontoblast layer in the rat incisor as followed by autoradiography using H3 thymidine. **Anat. Rec.** 183,523-562, 1975.

SMYTHE, P. M.; CAMPBELL, J. A. H. The significance of the bacteremia of kwashiorkor. **S. Afr. Med.**, v. 33, p. 777, 1959.

SOARES, N.T. Estado nutricional de alcetentes em áreas periféricas de Fortaleza. I-desnutrição protéico-energética, obesidade , anemia ferropriva. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13,n.2, 9.99-160,2000.

SOARES, N.T.;PARENTE,W.G. Desnutrição e resultados de reabilitação em fortaleza. **Rev. Nutr.**, Campinas, 14(2):103-110, maio/ago.,2001.

STIEHM, E.R. Humoral immunity in malnutrition. **Fed. Proc.**, v. 39, p. 3093-3097, 1980.

THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**, 2^a. ed., trad. Sônia R.L. Maike, São Paulo, Editora Santos, 1995. p.283-310.

THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**, 2^a. ed., trad. Sônia R.L. Maike, São Paulo, Editora Santos, 2001. p.283-310.

WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3^a ed. São Paulo: Atheneu , 2001.

WATERLAND, R.A., GARZA, C. Ptencial mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **American Journal of Clincial Nutrition**, Bethesda, v.69,n.2,p.179-197,1999.

WATERLOW, J. C.; TOMKINS, A. M.; MCGREGOR, S. M. **Protein energy malnutrition**. London: Edward Arnold, 1992.

WHO (World Health Organization) (1976). Anthropometry in nutritional surveillance: an overview. **United Nations Proteinn Advisory Group Bulletin**,6:2-11.

_____ (World Health Organization) (1995), Physical status: the use and interpretation of anthropometry. **WHO Technical Reports Series 854**. Geneva: WHO. 452p.

WILLIAMS, C.D. A nutritional disease of childhood associated with a maize diet. **Arch. Dis. Child**, v. 8, p. 423-433, 1933.

_____ . Kwashiorkor, a nutritional disease of children associated with a maize diet. **Lancet**. v.2, p. 1151-1152, 1935.

WURTMAN, R.J. Behavioural effects of nutrients. **Lancet**, London, v.1,n.8334,p.1145-1147,1983.

ZEMAN,F.J.; STANBROUGH,E.C. Effect of maternal protein deficiency on cellular development in the fetal rat. **J. Nutr.** V.99, p.274-282, 1970.

6. ANEXOS

ANEXO A

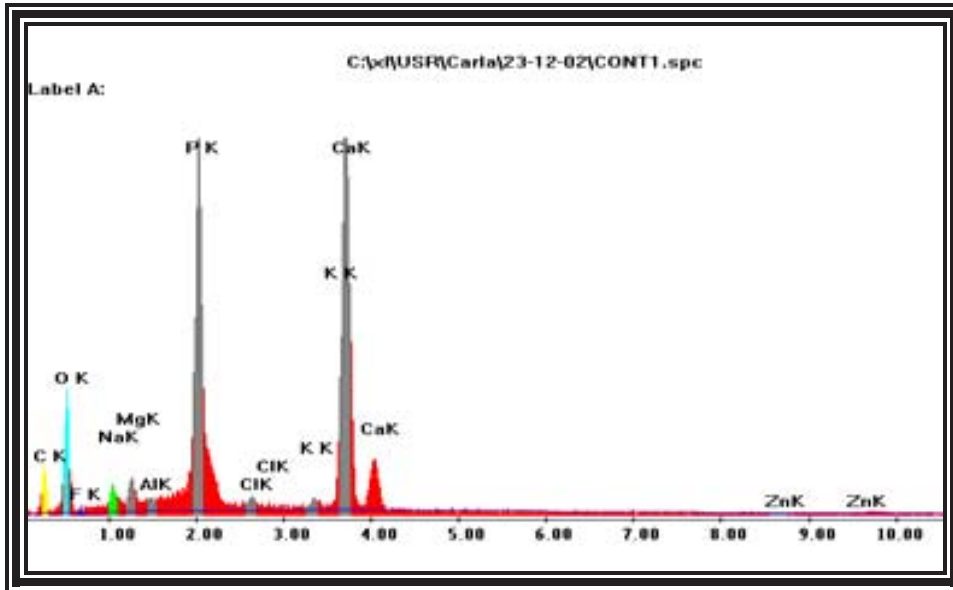


Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados no esmalte dos animais do grupo DH.

ANEXO B

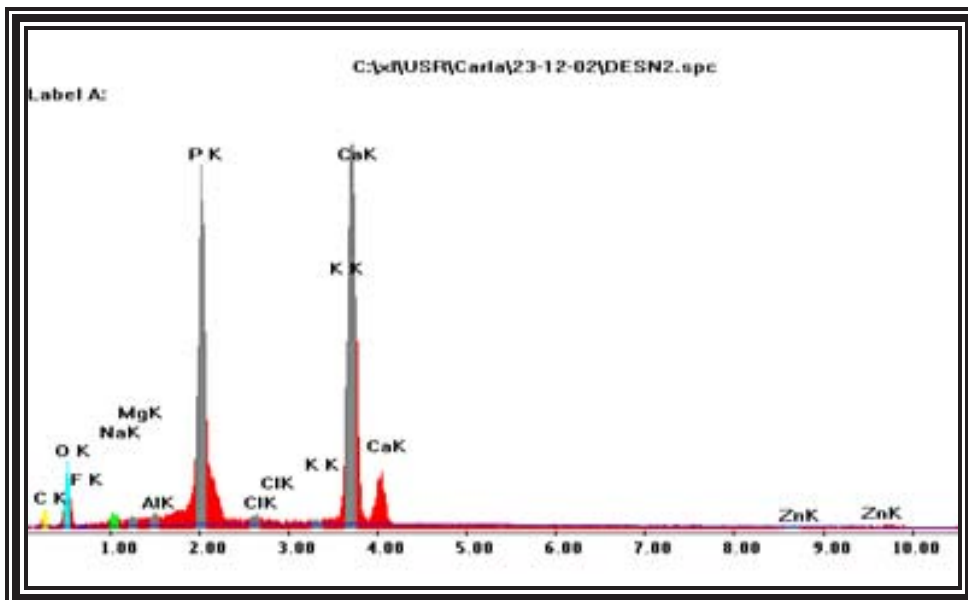


Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados no esmalte dos animais do grupo DC.

ANEXO C

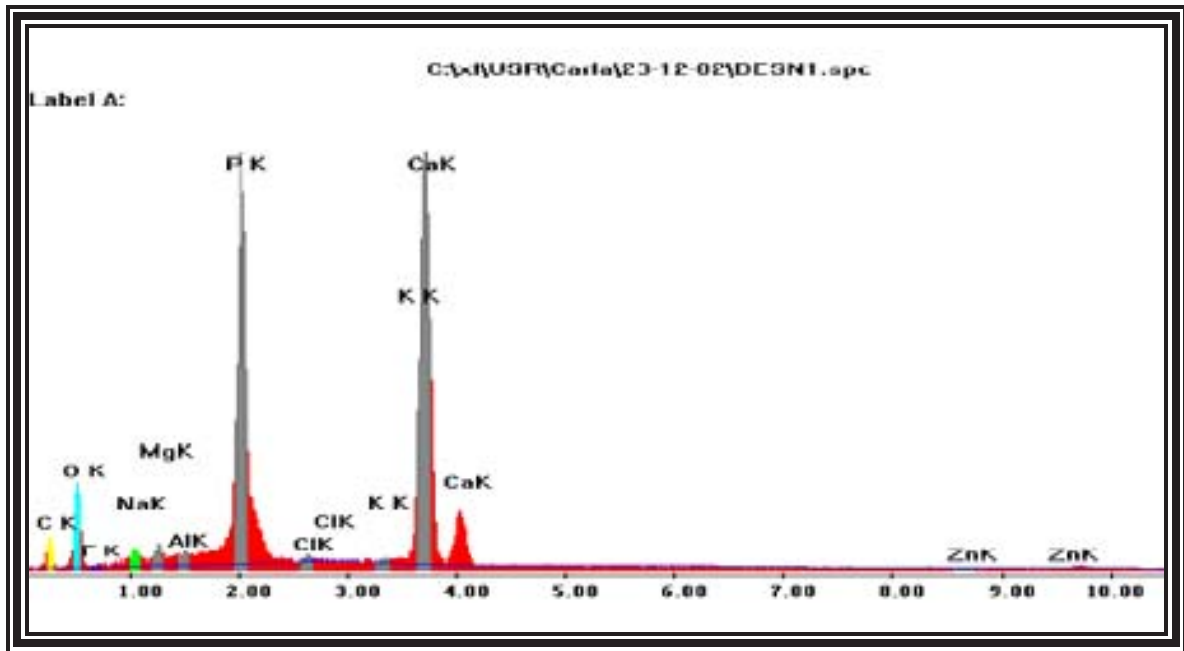


Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados na dentina dos animais do grupo DH.

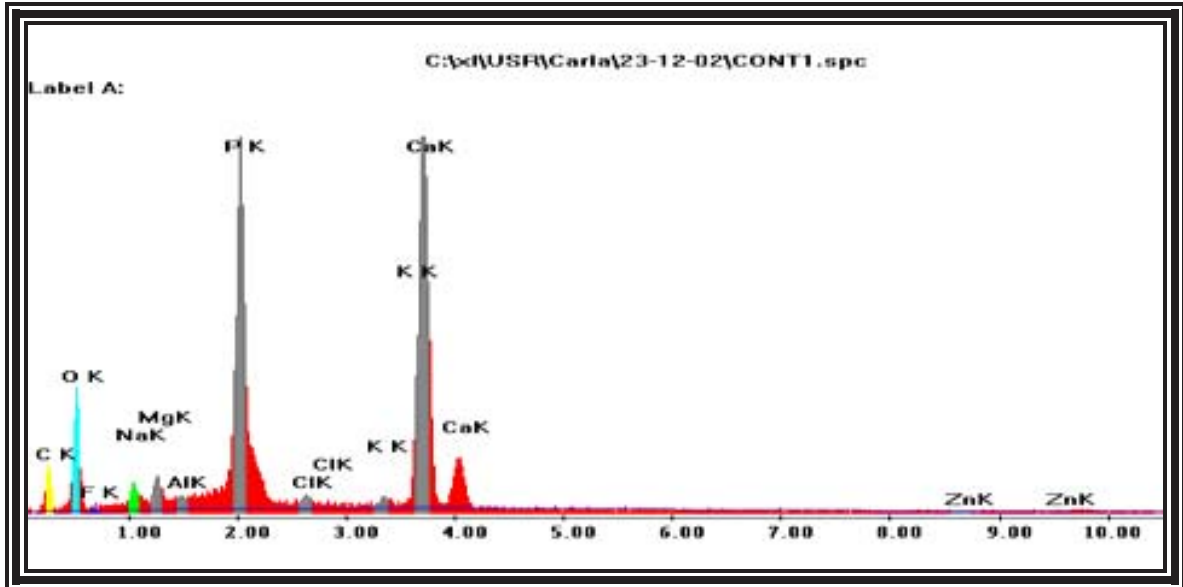


Gráfico do EDX mostrando os minerais encontrados na dentina dos animais do grupo DC.