



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O USO DE PRÓPOLIS NA CAVIDADE ORAL - REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho submetido por
Maria Ana de Sousa Manuel Franco Frazão
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

fevereiro de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O USO DE PRÓPOLIS NA CAVIDADE ORAL - REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho submetido por
Maria Ana de Sousa Manuel Franco Frazão
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Maria Alzira Alfaiate Moreira Cavacas

fevereiro de 2017

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos, sem os quais não teria sido possível chegar a este momento e, por isso, estou grata.

À Professora Doutora Maria Alzira Cavacas pela sua orientação, suporte e total disponibilidade, pelas opiniões e críticas, pelas palavras de incentivo que tanto me motivaram e, acima de tudo, pela desmedida simpatia e profissionalismo.

À Dra. Dora Maltez por me ter transmitido motivação e disciplina, que ajudaram no cumprimento de objetivos, e por me ter encorajado a ultrapassar barreiras e transpor os limites.

À Dra. Maria Clara Moreira e à Professora Doutora Patrícia Pontífice de Sousa por terem sido altruístas e dispendido tempo na leitura da dissertação, oferecendo os seus contributos.

Ao Enfermeiro e Apicultor Leonel Grencho, pelo diálogo que me despertou para a escolha do tema e pelo seu interesse e disponibilidade. Ao Eng. e Apicultor Frederico Horgan, pelo material fotográfico disponibilizado.

À família e amigos pelo apoio invulgar, manifestado através da curiosidade relativamente ao ponto de situação do trabalho, o que gerou sempre uma crescente vontade de escrever mais, para lhes poder dizer o quanto tinha progredido.

O meu profundo sentimento de agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

“I hear and I forget, I see and I remember, I do and I understand.”

Confucius

RESUMO

Própolis é uma resina derivada da ação enzimática por parte das abelhas, de origem vegetal e com uma complexa e variável composição química. Tem vindo a ser estudada, de forma a conseguir padronizá-la, mas com pouco êxito, uma vez que varia entre regiões e é sazonal. Percebeu-se que os principais componentes com repercussões biológicas significativas são os flavonoides, componentes fenólicos e os seus ésteres. É conhecida e utilizada, há milhares de anos, devido aos seus potenciais terapêuticos, dos quais se destacam, a atividade anticancerígena, anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante e imunomoduladora. Recentemente, tem vindo a ser comercializada sob diferentes formas, de modo a abranger os campos da cosmética, nutrição e saúde. É também aplicada em diversas áreas da Medicina Dentária, como Medicina Dentária Preventiva e Comunitária, Endodontia e Periodontologia. O objectivo deste trabalho é averiguar o que se conhece sobre a verdadeira ação do própolis, as suas aplicações e a importância que têm em Medicina Dentária. Em suma, esta resina tem a grande vantagem de ser um produto natural, com poucos efeitos adversos e uma multiplicidade de aplicações, potenciando ainda a resposta a alguns medicamentos, devido à existência de sinergismos. As características deste produto, acima mencionadas, parecem justificar a exploração mais aprofundada do seu impacto na Medicina Dentária, perscrutando tanto as suas limitações como o seu potencial.

Palavras-chave: Própolis, Atividades do Própolis, Própolis em Medicina Dentária, Efeitos adversos do Própolis

ABSTRACT

Propolis is a bee resin, altered by their enzymatic action, with a natural origin and a complex and variable composition. There have been some efforts to standardize it but with little success, since it varies between regions and seasons. It has been found that it's main constituents with biological repercussions are flavonoids, phenolic compounds and their esters. It has been known and used for thousands of years because of its anticancerous, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidante and immunomodulatory activities. Recently, it has been commercialized under many forms being presente in cosmetics, nutrition, and health fields. It's also applied in dentistry, in the specialties of Endodontics, Periodontology and Preventive Dentistry. The aim of this work is to understand própolis, namely its action, applications and its overall importance in dentistry. In sum, this resin has the great advantage of being a natural product with few side effects and a wide range of applications, as well as being capable of enhancing some medical effects, due to the existence of synergisms. The aforementioned characteristics of this product seem to make it worthwhile to further explore its impact in dentistry, its limitations and overall potencial.

Key-words: Propolis, Propolis actions, Propolis in Dentistry, Propolis side effects

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Características.....	15
1.2 Composição química.....	16
1.3 História.....	18
1.4 Objetivos.....	18
2. METODOLOGIA DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA.....	19
3. DESENVOLVIMENTO.....	21
3.1 Aplicações terapêuticas sistêmicas.....	21
3.1.1 Atividade anticancerígena.....	21
3.1.2 Atividade antidiabética.....	23
3.1.3 Atividade anti-hiperlipidêmica.....	24
3.1.4 Atividade anti-inflamatória.....	25
3.1.5 Atividade antimicrobiana.....	27
3.1.5.1 Atividade antibacteriana.....	27
3.1.5.2 Atividade antifúngica.....	29
3.1.5.3 Atividade antiviral.....	30
3.1.6 Ação antinociceptiva.....	32
3.1.7 Atividade antioxidante.....	33
3.1.8 Atividade hepatoprotetora.....	34
3.1.9 Atividade imunomoduladora.....	37
3.1.10 Atividade radioprotetora.....	37

3.2. Aplicações terapêuticas orais.....	40
3.2.1 Cirurgia / Maxilo-Facial.....	40
3.2.2 Dentisteria	43
3.2.3 Endodontia	49
3.2.4 Medicina dentária preventiva e comunitária	55
3.2.5 Ortodontia.....	60
3.2.6 Patologia oral.....	63
3.2.7 Periodontologia	66
3.2.8 Reabilitação oral.....	69
3.2.9 Outras aplicações.....	71
3.3 Efeitos secundários	72
4. CONCLUSÕES	75
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 – (A) Abelhas e a sua rainha na produção de mel; (B) abelhas adicionam própolis na entrada da colmeia	15
Fig. 2 – Mecanismo de ação do CAPE ao estagnar o ciclo celular nas fases S e G2 e na apoptose de linhas celulares cervicais.	22
Fig. 3 – Efeito citotóxico e apoptótico da combinação TRAIL-própolis em células pancreáticas cancerígenas.....	23
Fig. 4 – Secções transversais aórticas e artérias aorta completas.....	25
Fig. 5 – Efeito de $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ de MIC na germinação de <i>C. albicans</i>	29
Fig. 6 – Atividade hepatoprotetora concedida pela ação dos flavonoides e ácidos fenólicos	35
Fig. 7 – Fígado de ratos após 28 dias do tratamento	36
Fig. 8 – Osteodistração no grupo controlo (A), no de própolis menor (B) e maior (C) concentração.	42
Fig. 9 – Contagem total viável em meio agar de sangue; contagem de <i>S. mutans</i> em meio agar de manitol salgado; contagem de <i>Lactobacillus</i> em meio agar rogosa, antes e depois da desinfeção cavitária com própolis.	44
Fig. 10 – Formação da ponte dentinária. Extrato de própolis aos 15 (A) e 45 (C) dias; MTA aos 15 (B) e 45 (D) dias; Dycal aos 45 dias (E)	47
Fig. 11 – Número médio de colónias antes e depois da irrigação com a solução salina (A) ou própolis (B).	50
Fig. 12 – Diminuição percentual da hipersensibilidade à sondagem e jatos de água.....	58
Fig. 13 – (a) Superfície dentinária não tratada; (b) Superfície com smear-layer; (c e d) Superfície tratada com ácido cítrico a 6%; (e e f) Superfície tratada com GC tooth mousse; (g e h) Superfície tratada com extrato de própolis a 30%	59

Fig. 14 – (A) Grupo controlo, sem expansão; (B) Grupo com expansão convencional; (C) Grupo com expansão e própolis.....	60
Fig. 15 – Secção na área de expansão no grupo com CAPE (A) e controlo (C), mostrando mais osso trabecular (x40). Análise de imunofluorescência dos tecidos no grupo com CAPE (B) e controlo (D).....	61
Fig. 16 – Apoptose induzida pelas caspases 3, 8 e 9, em células CAL-27, tratadas durante 24h com extrato etanólico de própolis a 200 µg/ml (a, b, c), com mistura de polifenóis a 12,5 µg/ml (d, e, f) e a 25 µg/ml (g, h, i).	63
Fig. 17 – Gravidade da mucosite em doentes sujeitos a radioterapia, após 4 semanas do início dos bochechos com (A) uma solução salina ou com (B) extrato aquoso de própolis a 3%.	65
Fig. 18 – Medições entre a Junção Cimento-Esmalte e a Crista Óssea Alveolar	68
Fig. 19 – Formação de anéis de actina no grupo controlo devido a RANKL e inibição da mesma no grupo do própolis.	72
Fig. 20 – Lesões erosivas cobertas por pseudomembrana induzidas pela aplicação tópica de própolis.....	73

ÍNDICE DE TABELAS

Tab. 1 – Valores médios dos testes/análises feitos em pacientes dos grupos controlo, radioterapia apenas e radioterapia + própolis.....	39
Tab. 2 – Distribuição do modo de falha pelos grupos de acordo com a região canal.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS•+ – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)

Apaf-1 – Factor de activação da Protease Apoptotica-1

ART – Técnica de Restauração Atraumática

AST – Aspartato Transaminase

CAPE – Éster fenetil de Ácido Cafeico

cfu – Unidade de Formação de Colónias

CIV – Cimento Ionómero de Vidro

COX – Ciclo-Oxigenase

Cdk2 – quinase dependente de Ciclina 2

DFS – Sobrevivência Livre de Doença

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DPPH• – 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

E2F-1 – Fator de transcrição

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

ERK 1/2 – Quinase Regulada por sinais Extracelulares

IFN – Interferão

IKK – I κ B Quinase

IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15 e IL-33 – Interleucinas

IL8, CCL2 e CCL5 – quimioquinas

iNOS – Óxido Nítrico sintetase induzível

KTP – laser Fosfato de Potássio Titanilo

MAPK – Proteína Quinase Activada por Mitógenos

MBC – Concentração Bactericida Mínima

Mcl-1 – proteína de diferenciação de células de leucemia Mielóide induzida

MDA – Malondeialdeído

MIC – Concentração Inibitória Mínima

MIP-1 α – Proteína Inflamatória de Macrófagos

mmol – micromol

MPa – Megapascal

MTA – Agregado Trióxido Mineral

MTAD – Mistura de Ácido cítrico, cloridrato de doxiciclina, e Detergente

MX1, G1P3 e OAS – genes

NF- κ B – Fator Nuclear kappa B

nm – nanomol

pg – picograma

Poli I:C – cadeia dupla de RNA análoga à viral

PRP – Plasma Rico em Plaquetas

RAKNL – Receptor Ativador para o Fator Nuclear k B Ligando

RB – proteína do Retinoblastoma

RIG-I e MDA5 – recetores

RNA – Ácido Ribonucleico

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio

RRM2 – subunidade Ribonucleótido-difosfato-Redutase M2

TAC – Capacidade Total Antioxidante

TNF α – Factor de Necrose Tumoral α

TRAIL – Ligando Indutor de Apoptose Relacionado com o factor de necrose Tumoral

VEGF – Fator de Crescimento Endotelial Vascular

μg – microgramas

μmol – micromol

1. INTRODUÇÃO

1.1 Características

A palavra própolis é derivada do grego *pro* – defesa - e *polis* – cidade ou comunidade (Citado por Więckiewicz, Miernik, Więckiewicz & Morawiec, 2013). Como é possível ver na Fig. 1, é uma substância muito pegajosa, resinosa e cerosa, produzida pelas abelhas (*Apis mellifera*) com vista à proteção da entrada da colmeia, usada como meio de alisamento das paredes internas, para tapar buracos e fendas ou embalsamar invasores mortos (Skaba *et al.*, 2013), evitando a putrefação, e ainda para selar favos de mel ou para proteger contra a chuva (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013). Não se sabe ao certo o mecanismo da sua produção, podendo ser através da colheita de pólen e secretado como produto indigerível ou coletado diretamente das espécies botânicas à sua disposição (Morawiec *et al.*, 2015; Niedzielska *et al.*, 2016). Coutinho (2012) diz ser uma substância resinosa natural recolhida de brotos de plantas e exsudados de cascas, combinada com as secreções da glândula hipofaríngea, cera de abelha e pólen.



Fig. 1 – (A) Abelhas e a sua rainha na produção de mel (Cedida por Horgan, 2016); (B) abelhas adicionam própolis na entrada da colmeia. (Adaptado de Bell, 2014)

Geralmente, a resina das abelhas apresenta-se em vários tons de castanho, mas pode apresentar-se em verde, amarelo, encarnado e até preto ou branco, dependendo do local em que se encontra a colmeia (Tanasiewicz *et al.*, 2012). À temperatura ambiente, o própolis encontra-se no estado sólido, tornando-se mais maleável a partir dos 40 °C, atingindo o seu ponto de fusão entre os 80 e os 104 °C. Para ser estudado, tem sido dissolvido com solventes diferentes, nomeadamente etanol (o mais usado e também o

que tem mais aplicações práticas) e éter, mas revelando-se insolúvel em água (Niedzielska *et al.*, 2016). O extrato etanólico de própolis é obtido por evaporação do etanol, utilizando como solvente álcool etílico, pois este é o que consegue extrair os componentes com mais atividade biológica (Tanasiewicz *et al.*, 2012). A sua concentração de uso mais recorrente encontra-se numa percentagem de 10% (Karakis, Akay, Oncul, Rad & Dogan, 2016).

Os extratos de própolis têm tido *feedbacks* positivos quando utilizados em piodermites, (quer causadas por bactérias, quer por fungos), furunculose, eczema, úlceras tróficas na tíbia, úlceras de decúbito, endocervicites (Tanasiewicz *et al.*, 2012) e enxertos ósseos em condições inflamatórias da medula óssea (Niedzielska *et al.*, 2016). A par disto, também se verificam resultados positivos no tratamento de algumas patologias orais como alveolites e periodontopatias e em processos regenerativos (Niedzielska *et al.*, 2016).

São-lhe comumente associadas as propriedades bactericida, fungicida, anti-inflamatória e, por vezes, reportam-se as qualidades de antioxidante por eliminar radicais livres (Morawiec *et al.*, 2015), antiviral (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013), antiparasitária, anticancerígena (Niedzielska *et al.*, 2016), imunomoduladora, hepatoprotectora (Kalyoncuoğlu, Gönülol, Özsezer Demiryürek & Bodrumlu, 2015), anti-hiperlipidémica (Babatunde *et al.*, 2015) e até mesmo, antidiabética e de prevenção de doenças cardiovasculares (Zhang *et al.*, 2015).

1.2 Composição química

A composição do própolis é bastante variável, na medida em que depende da flora a que as abelhas podem recorrer para obter os materiais necessários para a sua atividade, bem como da região geográfica, da época e do método de recolha (Skaba *et al.*, 2013), do clima (Morawiec *et al.*, 2013) e da própria espécie de abelhas (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013). Como tal, pode-se dizer que geralmente é constituída segundo as seguintes proporções: 40% de resina, 23 a 30% de cera, 14 a 16% de polifenóis, 2,5% de

polissacáridos e mais de 10% de compostos voláteis e impurezas (Morawiec *et al.*, 2015; Niedzielska *et al.*, 2016). Esta resina é muito rica em vitaminas A, B₁, B₂, B₃ e biotina e tem 14 dos 15 minerais de que o organismo humano necessita para manter as suas funções normais (Coutinho, 2012). Os dados de Dias, Pereira e Estevinho (2012) revelam que as percentagens dos conteúdos fenólicos rondam entre $11,1 \pm 1,3\%$ e $28 \pm 2,0\%$ e as dos flavonoides variam entre $3,1 \pm 0,3\%$ e $12 \pm 0,3\%$, oscilações provocadas por terem sido analisados diferentes tipos de própolis (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Até ao momento, mais de 300 compostos orgânicos foram descobertos como constituintes do própolis; integrados em diferentes grupos, destaca-se entre eles o fenólico: flavonoides, estilbenos, ácidos fenólicos e os seus ésteres (Skaba *et al.*, 2013), nomeadamente o Éster Fenetil de Ácido Cafeico (CAPE), correspondendo a ácido 3,4 - dihidroxicinâmico. De acordo com Czyżewska, Siemionow, Zaręba e Miltyk (2016), os constituintes mais identificados na composição desta resina são a crisina, a galangina, a pinocembrina e a pinobanksina dentro do grupo dos flavonoides, o ácido cafeico como sendo um ácido fenólico e os ácidos cumárico e ferúlico correspondendo ao ácido hidroxicinâmico. Shabbir, Rashid e Tipu (2016) perceberam que o método de extração influencia a percentagem da concentração de extrato etanólico de própolis, sendo esta mais elevada pela técnica de extração por ultra-sons, em detrimento da extração por maceração. Outra vantagem da extração por ultr-sons é que a duração do processo é significativamente inferior.

Czyżewska *et al.* (2013) acrescentam ainda que um extrato etanólico de própolis pode ser classificado de acordo com a percentagem de flavonoides presente, representando a gama de baixa qualidade os que têm abaixo de 11%, enquanto que os que contêm entre 11-14% e 14-17% pertencem às gamas aceitável e boa, respetivamente, finalizando com a gama de qualidade alta, quando a percentagem é superior a 17. Morawiec *et al.* (2013) alegam que os flavonoides são o maior constituinte do própolis e que são responsáveis por inibir a peroxidação dos lípidos, a agregação plaquetária, a permeabilidade e fragilidade capilar e a atividade dos sistemas enzimáticos, nomeadamente a Ciclo-Oxigenase (COX) e a Lipo-Oxigenase (LOX).

1.3 História

Recentemente, tem-se dado novo enfoque à apreciação do potencial terapêutico da resina das abelhas (Skaba *et al.*, 2013). Hoje em dia, são comercializados produtos aos quais foram adicionados extratos de própolis, como pastas dentífricas, colutórios e géis, de forma a potenciar os seus efeitos anti-inflamatórios, antibacterianos e desinfetante (Morawiec *et al.*, 2015; Niedzielska *et al.*, 2016); surgem, ainda, em comprimidos, pó, bebidas, bolos e sabonetes (Zare Jahromi, Ranjbarian & Shiravi, 2014). A par disso, os produtos derivados das abelhas são conhecidos e utilizados desde 300 a.c. como forma de tratamento e de prevenção de doenças e como suplemento alimentar, para manter ou melhorar a saúde (Shimizu *et al.*, 2011; Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013; Skaba *et al.*, 2013). Os Gregos, Romanos e Egípcios usavam-no para cortes, feridas que não saravam, úlceras e para embalsamar corpos (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013).

Este é um trabalho de pesquisa, de síntese que visa compreender as diferentes aplicações do própolis, tanto a nível sistémico como localizado: em Medicina Dentária. Realizou-se uma recolha de informação apresentada por diversas fontes sobre o tema, de modo a proporcionar uma orientação para os diversos profissionais de saúde que lidam diretamente com os pacientes ou que à distância se encarregam de conceber novos produtos portadores desta substância, podendo ser igualmente de carácter informativo para a população em geral, especificamente para os pacientes.

1.4 Objetivos

Devido ao potencial terapêutico que alguns estudos demonstram estar associado ao própolis, o objetivo deste trabalho é averiguar o que se conhece sobre a verdadeira ação e importância deste produto apícola, na Medicina Dentária, uma vez que este aparenta ser um produto com uma grande amplitude de propriedades.

2. METODOLOGIA DA PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

Foi executada uma pesquisa bibliográfica sobre os efeitos que têm sido descritos por investigadores, decorrentes da utilização de própolis, nas mais variadas formas, na cavidade oral.

Assim sendo, recorreu-se a artigos científicos indexados em bases de dados como PubMed®, Elsevier®, SpringerLink®, ScienceDirect®, B-on®, Google Scholar® e RCAAP®. Foram introduzidas no motor de busca as seguintes palavras: “Propolis”, “Propolis extract”, “Propolis dentistry”, “Propolis oral cavity”, “Propolis risk factors”. Após acionados filtros para reduzir a amostra de artigos, nomeadamente, “Full text available” e “5 years”. A busca foi realizada para englobar os artigos que se encontravam escritos nas línguas portuguesa, inglesa, espanhola e italiana. No entanto, dada a relevância de 10 artigos anteriores ao ano de 2012, optou-se por incluí-los neste trabalho. Procedeu-se à recolha bibliográfica durante o período compreendido entre outubro de 2016 e dezembro do mesmo ano. Inicialmente, foram analisados os títulos e os resumos dos artigos e, posteriormente, foram escolhidos e lidos na íntegra, em caso de inclusão.

Na totalidade optou-se por seleccionar 100 obras para formar uma bibliografia que se encontrasse de acordo com os critérios de inclusão referidos.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Aplicações terapêuticas sistêmicas

3.1.1 Atividade anticancerígena

Foi analisado por Hsu *et al.* (2013) que em linhas de células cancerígenas do cérvix (colo do útero), a presença de 50 μm de um componente ativo do própolis, o CAPE, despoletou a apoptose em cerca de 25% e 35% das células, entre as 24 e as 48h, respetivamente. Utilizando apenas 25 μm de CAPE, de modo a evitar a citotoxicidade, observou-se que, em 16h, a população celular na fase S subiu de 20,8% para 48,7%, que em 24h uma grande parte das células ficou bloqueada entre as fases G2 e M, não atingindo a mitose por morrerem antes, dado o aumento de apoptose e que, no mesmo período temporal de 24h, a síntese de Ácido Desoxirribonucleico (DNA) decresceu 40% e a de Ácido Ribonucleico (RNA) 65%, em relação ao grupo controlo. Em contraste, o uso de CAPE não foi igualmente eficaz numa linha pré-cancerígena cervical, pois não houve alterações na inibição proliferativa, não tendo sido alterada a expressão de genes responsáveis pela progressão do ciclo celular e pela apoptose. Tal facto deve-se ao baixo potencial tumorigénico deste tipo de células e também por terem propriedades semelhantes às células normais, fomentado uma atuação do CAPE, sem daí advirem danos significativos para as células normais.

É, proeminentemente, através de um Fator de transcrição (E2F-1) que o CAPE intervém no ciclo celular, desregulando-o e incitando a apoptose. Assim, de acordo com a Fig. 2, percebe-se que o CAPE vai induzir um prolongamento do tempo na fase S, incitando à paragem, nesta fase, pela coligação das ciclinas A e E com a quinase dependente de Ciclina 2 (Cdk2), sendo a a ciclina E essencial para a transição de G1 para S. Por outro lado, a expressão de ciclina B foi drasticamente reprimida, porque o CAPE limitou a ligação de E2F-1 ao promotor da ciclina B e ampliou a transcrição da sua inibidora proteína p53, não podendo ocorrer uma normal regulação da passagem de G2 para M, ou seja, dando-se a apoptose e impedindo a mitose de acontecer. A progressão do ciclo celular também pode ter sido influenciada pela redução da síntese de DNA e RNA, bloqueando nas fases S e G2/M. A proteína do Retinoblastoma (RB) controla a

passagem de G1 para S, por reprimir a ação de E2F-1. Mas quando fosforilada, dissocia-se de E2F-1 que fica livre para promover a expressão de genes necessários à progressão para a fase S, como os das ciclinas A e E, da proteína p21 e do próprio E2F-1. A fosforilação de RB é levada a cabo pela junção de ciclina E com Cdk2, que a activa, sendo esta uma das suas funções. Relativamente à apoptose, esta vai estar dependente do acréscimo na transcrição do Fator de ativação da Protease Apoptótica-1 (Apaf-1), que é uma proteína pró-apoptótica e da inibição da proteína de diferenciação de células de leucemia Mielóide induzida (Mcl-1), que é anti-apoptótica (Hsu *et al.*, 2013).

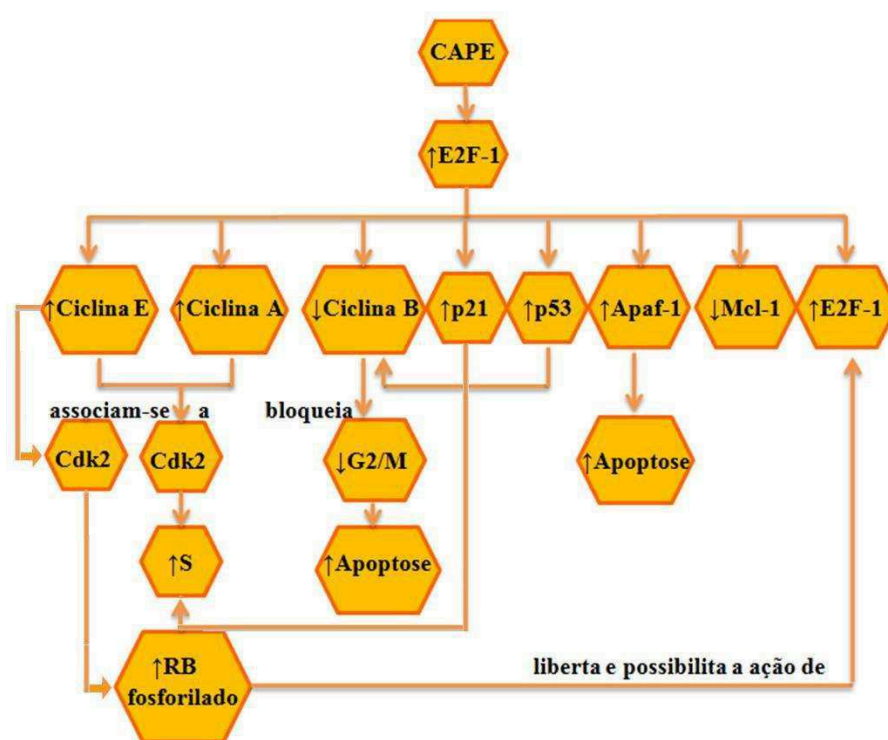


Fig. 2 – Mecanismo de ação do CAPE ao estagnar o ciclo celular, nas fases S e G2 e na apoptose de linhas celulares cervicais. (Baseado em Hsu *et al.*, 2013)

Por sua vez, sabendo que o Ligando Indutor de Apoptose Relacionado com o fator de necrose Tumoral (TRAIL) é importante na homeostase imunitária, controlando o aparecimento de células cancerígenas e que em certas linhas celulares foi criada uma resistência à sua ação, no estudo de Szliszka *et al.* (2011) combinou-se o potencial do própolis com o de TRAIL, tal como mostra a Fig. 3. Concluiu-se que a ação apoptótica via TRAIL era significativamente aumentada, tanto por um mecanismo intrínseco – mantendo íntegra a membrana mitocondrial, – como por um mecanismo extrínseco – aumentando a sensibilidade de apenas um dos recetores de TRAIL ou mesmo

promovendo a síntese e criando mais recetores. Por estas duas vias foi possível contornar o facto de existir resistência ao TRAIL numa determinada linha celular.

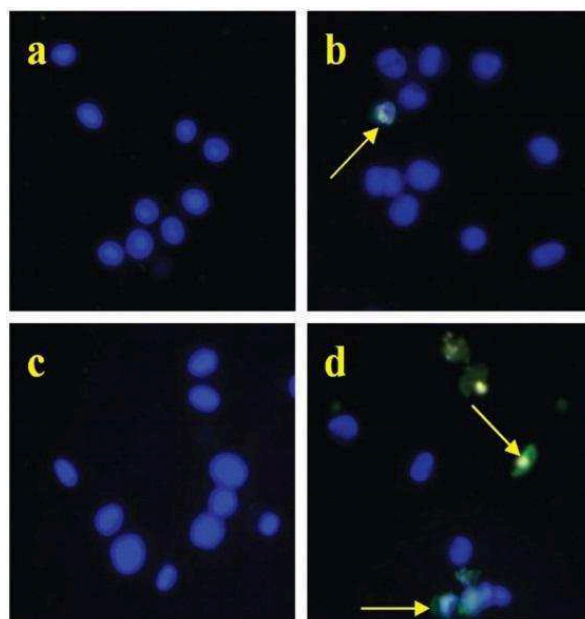


Fig. 3 – Efeito citotóxico e apoptótico da combinação TRAIL-própolis em células pancreáticas cancerígenas. (a) células de controlo; (b) células incubadas com TRAIL a 100ng/ml; (c) células incubadas com extrato de própolis a 50 µg/ml; (d) células incubadas com ambos. (Adaptado de Szliszka *et al.*, 2011)

3.1.2 Atividade antidiabética

Ratos diabéticos (induzido pelo análogo tóxico da glicose, a aloxona) foram tratados com Metformina e própolis (150, 200 e 300 mg/kg, respetivamente) mostrando resultados significativos em baixar a hiperglicémia. Após duas semanas, a Metformina revelou ser ligeiramente mais eficaz, não obstante igualar-se aos resultados do própolis nas 4 semanas. Também atuaram no peso corporal, acabando por fornecer mais peso corporal, contrariando, assim, a normal perda dos diabéticos. Como teoria para tais factos, surge o poder antioxidante do própolis nas células β do pâncreas, que as pode estimular a produzir mais insulina, em vez de se centrar na regeneração das células β afetadas pela aloxona, e surge a possibilidade de o própolis aumentar a resposta celular à insulina (Babatunde *et al.*, 2015).

Antes do colapso das células β pancreáticas, é possível observar uma resistência à insulina, no músculo esquelético e, como tal, um estudo com ratos com diabetes tipo-2 avaliou o mecanismo de ação do flavonoide crisina (100mg/kg, durante 30 dias, oralmente) na cascata da insulina. Atestou-se que a crisina alterou a glicose no sangue, a insulina e a tolerância à glicose, para valores similares aos do grupo controlo, através da intensificação da sensibilidade à insulina. A quantidade de colesterol total, triglicéridos, Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL), Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL), Ácidos Gordos Livres (FFA) desceu e Lipoproteína de Alta Densidade (HDL) subiu, indicando uma atividade anti-hiperlipidémica. Também a produção de radicais livres, Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) e peroxidação lipídica baixou, devido à atividade anti-oxidante. A crisina promoveu a expressão do recetor de insulina, do recetor de insulina substrato-1 e da proteína quinase B e a fosforilação das últimas duas, decorrente da capacidade de eliminação de radicais livres. Por fim, incitou a expressão de Transportador de Glucose tipo-4 (GLUT4) e síntese de glicogénio no músculo, por fomentar a sensibilidade à insulina e, conseqüentemente, incrementar a correta atividade das moléculas pertencentes à cascata da insulina (Satyanarayana, Sravanthi, Shaker, Ponnulakshmi, & Selvaraj, 2015).

O própolis diminuiu o colesterol e triglicéridos, via direta no fígado ou via indireta pelas hormonas da tiroide, e reduziu a glicose pela inibição da maltase intestinal (Nassar *et al.*, 2012). Rifa'i e Widodo (2014) suportam a mesma ideia de que para concentrações de 100 – 200 mg/kg de própolis a glicémia decresce de maneira significativa, possivelmente por aprimorar a sensibilidade do recetor da insulina por aumentar o pH.

3.1.3 Atividade anti-hiperlipidémica

Análises sanguíneas em ratos diabéticos comprovaram a subida de colesterol e triglicéridos em relação a ratos normais, que é um dos fatores de risco dos diabéticos para doenças microvasculares, como disfunção das artérias coronárias. Como tal, administrou-se Metformina e própolis em ratos doentes, que, no fim do estudo, viram

diminuir a hiperlipidemia, em especial no grupo em que foi fornecido própolis numa concentração de 300 mg/kg (Babatunde *et al.*, 2015).

De modo a reproduzir a hiperlipidemia humana, Fang *et al.*, (2013) muniram-se de ratos com apolipoproteína E negativa e dieta rica em gorduras, de modo a avaliar a ação do extrato de própolis (160 mg/kg/dia) em placas de aterosclerose. Assim sendo, constatou-se que a existência destas placas foi reduzida em 25,26% na zona da válvula aórtica e 16,17% no resto da extensão da artéria. Paralelamente, os valores de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas, que não as de alta densidade, Interleucina (IL-6), Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e os valores no desequilíbrio da endotelina decresceram cerca de 31,88%, 21,01%, 27,11%, 25,30%, 28,45% e 20,96%, respetivamente. Os autores acreditam que o extrato tem o poder de modular o colesterol, regular a inflamação, inibir VEGF e desequilíbrios na endotelina e de proteger as células endoteliais vasculares. Na Fig. 4 observa-se a rutura do endotélio, mas no grupo com própolis a linha endotelial foi preservada.

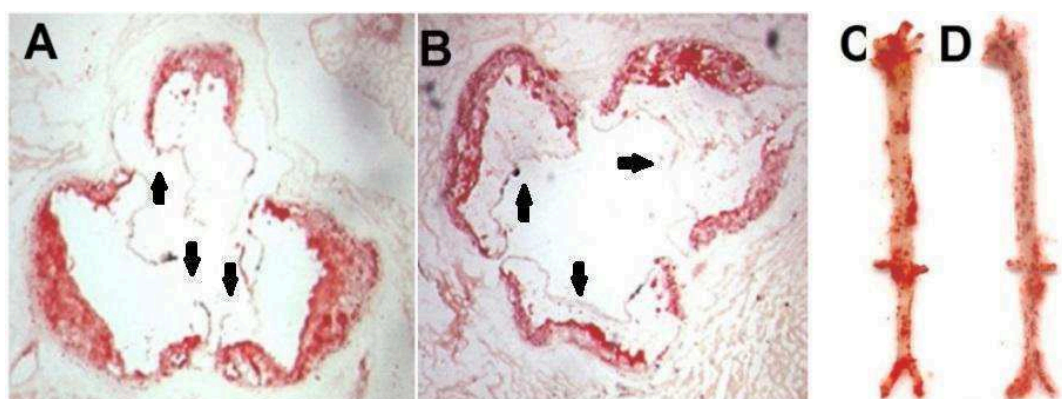


Fig. 4 – Secções transversais aórticas (x40) e artérias aorta completas, coradas com Oil Red O. (A) e (C) representam o grupo controlo. (B) e (D) representam o grupo com extrato de própolis. (seta) rutura (A) ou preservação (B) do endotélio. (Adaptado de Fang *et al.*, 2013)

3.1.4 Atividade anti-inflamatória

A resina das abelhas é conhecida por ter esta propriedade, sabendo que inibe a síntese de prostaglandinas, ativa a ação glandular do timo, ajuda o sistema imunitário por incitar a

fagocitose, promove a imunidade celular e estimula a regeneração epitelial (Akhavan-Karbassi, Yazdi, Ahadian & Sadr-Abad, 2016). O própolis tem um efeito inibitório sobre a COX-2 e, por sua vez, sobre a Prostaglandina (PGE2). Paralelamente, tem a capacidade eliminar radicais livres produzidos por neutrófilos e macrófagos, e de inibir a formação de Óxido Nítrico Sintetase induzível (iNOS), mas também se revela como imunossupressor e reduz a concentração de citocinas inflamatórias, nomeadamente, das IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10 e do Fator de Crescimento Transformante Beta (TGF- β) (Morawiec *et al.*, 2015).

Estes resultados são corroborados por Wang *et al.* (2013) ao afirmarem que o extrato de própolis tem a capacidade de suprimir o efeito de genes relacionados com a inflamação na fase da transcrição. Em função disso, constataram que em células estimuladas pelo lipopolissacárido, pela expressão de RNA mensageiro dos mediadores inflamatórios Óxido Nítrico (NO), iNOS, IL-1 β e IL-6 secretados por macrófagos, a resposta à inflamação foi regulada pela ação do extrato de uma forma tempo e dose-dependente.

Noutra investigação, constatou-se que houve uma inibição da expressão de IL-6 e de IL-13, ambas induzidas por IL-33, ativada por Fator Nuclear kappa B (NF- κ B), quando na presença de 4 flavonoides, ocorrendo o mesmo para a inibição de I κ B Quinase (IKK), que propagava a resposta celular inflamatória. Por outro lado, só um flavonoide inibiu o Fator de Necrose Tumoral α (TNF α), ativado por NF- κ B. Resumindo, a ativação de NF- κ B foi inibida por 4 tipos de flavonoides, pela via de sinalização de IL-33, mas apenas por um, através de TNF α ; logo, o complexo de resposta inflamatória é inibido dependendo da presença de um determinado tipo de flavonoides na constituição do própolis (Funakoshi-Tago *et al.*, 2015).

Wang *et al.* (2013) também constataram que o própolis desencadeou uma inibição da fosforilação de IKK, mas não conseguiu evitar a sua degradação. À semelhança da cascata de NF- κ B, onde se enquadra a IKK, a via de sinalização de Proteína Activadora-1 (AP-1) foi notoriamente alvo do efeito inibitório do extrato, sendo ambas importantes fatores de transcrição pertencentes à cascata da Proteína Quinase Ativadas por Mitógenos (MAPK).

3.1.5 Atividade antimicrobiana

3.1.5.1 Atividade antibacteriana

Foi confirmada a capacidade antibacteriana do própolis, sendo predominante a sua ação sobre bactérias Gram positivas e não tanto em Gram negativas (Tanasiewicz *et al.*, 2012), mostrando-se mais eficaz numas que noutras e, por essa razão, espécie-dependente (Mirzoeva, Grishanin & Calder, 1997). Apesar disto, está longe de se verificar totalmente eficaz quanto a todas as bactérias, sendo a *Listeria monocytogenes* o seu epíteto, dado que é resistente, chegando mesmo o própolis a ser usado como meio seletivo para o seu crescimento (Tanasiewicz *et al.*, 2012). Admite-se que o extrato de própolis tem atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, cocos Gram positivos e estirpes anaeróbias facultativas, impedindo, em parte, a formação de placa dentária e das suas consequências (Morawiec *et al.*, 2013).

S. mutans e *Lactobacillus spp.* são os principais responsáveis pela cárie dentária e segundo Dziedzic *et al.* (2013) têm, respetivamente, valores da Concentração Inibitória Mínima (MIC) na ordem dos $1,10 \pm 0,45$ mg/mL e dos $0,7 \pm 0,29$ mg/mL e da Concentração Bactericida Mínima (MBC) na ordem dos $9,01 \pm 3,85$ mg/mL e dos $5,91 \pm 3,62$ mg/mL, sendo garantida a segurança da utilização destas concentrações *in vivo*, pelos autores.

Referente às espécies *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Rhodobacter sphaeroides*, a MBC rondou os 0,2 mg/mL, 0,45 mg/mL e 0,2 mg/mL, respetivamente. No caso de *S. subtilis*, quando as concentrações de própolis eram inferiores (0,05 e 0,1 mg/mL), o tempo de adaptação ao meio despendido pelas bactérias prolongou-se 3 a 7 horas. Esta bactéria foi inibida irreversivelmente, na concentração bactericida, ao matar todas as células viáveis, após 15 min de incubação da solução, mas reversivelmente em concentrações inferiores, indicando a existência de um mecanismo de latência na desintoxicação, desencadeada pelo própolis. Paralelamente, não se desenrolou nenhuma adaptação da bactéria, durante as sucessivas exposições ao meio com própolis, o que quer dizer que não houve uma seleção de formas resistentes (Mirzoeva *et al.*, 1997). Apesar destes números, deve-se ter em conta a variabilidade do perfil genético da microflora oral específica de cada pessoa (Dziedzic *et al.*, 2013).

Ao misturar própolis em doses bacteriostáticas com diversos antibióticos, Mirzoeva *et al.* (1997) repararam que apenas se aferiu uma ténue, mas significativa sinergia; não obstante, não se denotou nenhuma sensibilidade acrescida aos antibióticos em *E. coli* resistente, quer em concentrações bacteriostáticas quer em bactericidas.

Orsi *et al.* (2006) testaram a coligação entre dois tipos de própolis e antibióticos beta-lactâmicos (Amoxicilina, Ampicilina e Cefalexina), que inibem as proteínas de ligação à penicilina (PBP) envolvidas na síntese de peptidoglicanos da parede celular, e depararam-se com uma sinergia entre eles, de modo a reduzir a população de *Salmonella enterica Typhi*, causadora de tifoide.

Mirzoeva *et al.* (1997) identificaram uma mudança na permeabilidade iónica, que causou a dissipação do potencial de ação das membranas bacterianas. À semelhança disto, a quercitina e o CAPE dificultaram significativamente a motilidade bacteriana associada aos flagelos, amainado a sua patogénese e o desenvolvimento da infeção.

Mais tarde, Orsi *et al.* (2012a) não obtiveram qualquer sinergia entre essas amostras de própolis e antibióticos (Ciprofloxacina, Norfloxacina e Cotrimoxazole) que operam no ácido fólico e no DNA, exibindo apenas um carácter bacteriostático em *S. Typhi*.

Orsi *et al.* (2012b) voltaram a testá-los com antibióticos (Ciprofloxacina, Tetraciclina e Neomicina) cuja ação celular vai de encontro à síntese proteica, devido à interferência no funcionamento ribossomal. Um dos tipos de própolis utilizados evidenciou um ligeiro sinergismo, mostrando um efeito bacteriostático. O outro tipo de própolis teve um efeito bactericida, o que provavelmente ocorreu devido a discrepâncias entre as composições químicas. Dias *et al.* (2012) corroboram este facto ao declarar que a atividade antimicrobiana está diretamente relacionada com o teor em polifenóis e flavonoides e com a dose conferida.

3.1.5.2 Atividade antifúngica

A *Candida albicans* é afetada pela adição do extrato etanólico de própolis e, presentemente, acredita-se que estes efeitos sejam derivados da presença de flavonoides, estilbenos, ácidos fenólicos e respetivos ésteres no própolis (Niedzielska *et al.*, 2016).

Num estudo onde se isolou *C. albicans* da cavidade oral, da vagina e das unhas foram registados valores médios de 0,36 mg/mL para a MIC e de 1,25mg/mL para a Concentração Fungicida Mínima (MFC). A germinação é o processo em que se formam tubos germinativos para a libertação de esporos e verificou-se que foi impedida de desenrolar-se livremente, uma vez sob o efeito do própolis em concentrações inferiores à inibitória ($\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$), como retratado na Fig. 5. Assim, a redução na formação de tubos germinativos em relação ao grupo controlo foi de $36,7\pm 11,1$ e $22\pm 10,1\%$, respetivamente (Haghdoost, Salehi, Khosravi & Sharifzadeh, 2016).

Da mesma forma, Mutlu Sariguzel, Berk, Koc, Sav e Demir (2016) constataram que o própolis foi proveitoso no combate das várias cepas de *Candida* do estudo, com o interesse de ter valores médios para MIC, inferiores aos de Fluconazol e de Itraconazol e que não se alteraram após 24 e 48h de incubação. Os autores dizem, então, que o própolis mostrou uma atividade antifúngica comparável com a dos medicamentos utilizados e que estabelece sinergias com eles por baixarem os valores de MIC, de modo dose-dependente, em espécies resistentes como *C. galbrata*.

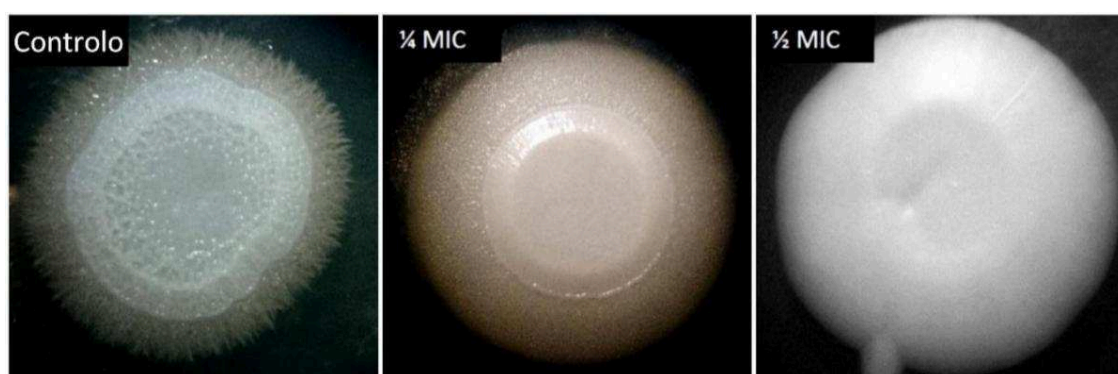


Fig. 5 – Efeito de $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ de MIC na germinação de *C. albicans* (x400). (Adaptado de Haghdoost *et al.*, 2016)

Não obstante, nem todos os autores estão de acordo e, como tal, os resultados de um estudo feito por Morawiec *et al.* (2015) mostraram que, entre 14 pacientes, não houve

alterações significativas em relação à presença de *C. albicans*, pois foi observado o mesmo número de pacientes com este fungo, tanto no início como no fim do tratamento (no grupo placebo e noutro com administração de gel enriquecido com própolis). Verificou-se que os pacientes portadores de *Candida* a mantiveram, com exceção de dois pacientes: num eliminou-se o fungo, noutro apareceu de novo.

3.1.5.3 Atividade antiviral

O *Herpes simplex* é um vírus muito comum que ataca mucosas e que é altamente suscetível à ação dos componentes presentes na resina das abelhas como um conjunto, pois, de acordo com Schnitzler *et al.*, (2010) os seus constituintes separadamente não possuem a mesma competência (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Shimizu *et al.* (2011) adianta que em estágios iniciais da infeção, as alterações virais a nível dermatológico são delongadas pela ação do própolis, sem que este se mostre citotóxico (10 mg/kg, oralmente). O desenvolvimento das lesões cutâneas foi moderado e significativamente limitado, no espaço temporal de 3,3 a 6,3 dias após a infeção. No entanto, das diversas amostras de própolis nem todas reagiram da mesma forma: umas amostras revelaram-se eficazes como anti-herpéticos *in vivo*, mas ineficazes *in vitro* e noutras aconteceu exatamente o oposto, aparentando terem necessidade de recorrerem à atividade imunomoduladora, socorrendo-se da hipersensibilidade do tipo retardada e do Interferão (IFN- γ) gama para combater intracelularmente, de modo a aliviarem os sintomas víricos. Os primeiros tipos de própolis atacaram diretamente por serem anti-herpéticos.

De acordo com Hayakari *et al.* (2013), o própolis interfere no principal passo da defesa do hospedeiro nas invasões virais, a ativação do IFN e dos genes associados. Para confirmar esta suspeita, foi utilizada uma cadeia dupla de RNA, análoga à viral (Poli I:C), que na célula hospedeira produziu um aumento dos RNA mensageiros de IFN- β , recetores (RIG-I e MDA5), quimioquinas (IL8, CCL2 e CCL5), genes (MX1, G1P3 e OAS) e aumentou a quimiotaxia de granulócitos. Por outro lado, depois de 1h a seguir à aplicação de própolis, verificou-se uma redução de todos os intervenientes antivirais

anteriores, à exceção de uma subida na quantidade de RNA mensageiro dos genes (MX1 e OAS) e da pouca ou nenhuma influência nos níveis dos RNA mensageiros dos recetores (RIG-I e MDA5), quimioquina CCL2 e do gene G1P3. Aparentemente, estas alterações seriam nefastas para o hospedeiro, mas a conclusão a que os autores chegaram foi a de que o própolis modula a expressão dos genes induzidos pelo Poli I:C por uma via independente da de IFN tipo 1, ou seja, não por uma regulação autócrina e dependente de IFN. Deste modo, suprime sim a produção de IFN- β , mas poupa outros genes antivirais ou estimula-os por outro mecanismo. Consequentemente, ao inibir os intervenientes antivirais referidos, está a diminuir a resposta imunitária, pois um excesso de neutrófilos prejudica o mecanismo de defesa, podendo gerar danos nos órgãos. Ao mesmo tempo, promove os recetores (RIG-I e MDA5) por uma via não dependente de IFN, uma vez que a inibe, assegurando o reconhecimento da infeção viral. Por fim, ao estimular os genes (MX1 e OAS) inibe a replicação do vírus, devido à ativação de ribonucleases latentes, conduzindo à degradação do RNA viral.

Segundo um estudo de Yildirim *et al.* (2016), a grande diferença entre o própolis e o Aciclovir encontrou-se na viabilidade celular, uma vez que o primeiro se manteve perto dos valores obtidos pelo grupo controlo, desde que abaixo da concentração 0,2 mg/mL, ao passo que o Aciclovir mostrou sempre baixos valores de viabilidade celular. Por esta razão, foram escolhidas concentrações inferiores ou iguais a 0,1 mg/mL de própolis para serem usadas na investigação. De um modo dose-dependente e especificamente para a concentração de 0,1 mg/mL de própolis, não se verificaram alterações citopatológicas em células que se encontravam em contacto com *H. simplex* tipo 1 e 2, mantendo uma morfologia inalterada. Quando comparado o própolis com o antivírico Aciclovir, depararam-se com efeitos muito semelhantes entre ambos, inibindo a replicação do tipo 1 após 24h de incubação, de forma tempo-dependente. No caso do tipo 2, o própolis reagiu mais lentamente ao diminuir o número de cópias virais, apenas após 48h. Também a sinergia entre os dois produtos foi avaliada, mostrando resultados promissores, uma vez que a mistura foi mais eficaz que o Aciclovir isoladamente.

3.1.6 Ação antinociceptiva

Um estudo realizado em ratos analisou a ação do ácido cafeico, administrado oralmente, 30 minutos antes de cada teste nociceptivo, numa concentração de 10 mg/kg, na atenuação da dor, mas sem efeito se administrado 60 ou 120 minutos antes. Tanto no teste induzido pelo ácido acético como no do formol, o ácido cafeico, componente do própolis, reduziu em 60% a resposta à dor dos ratos (avaliada por se contorcerem) em comparação com o grupo controle, sendo dose-dependente. No teste induzido pela substância P, a dor diminuiu 58% e no do glutamato, 56%. A redução presente no teste induzido pelo formol decorreu apenas no período entre 20 e 40 min após a injeção de 5% de formol, indicando que a ação do ácido cafeico se restringe à segunda fase, tónica, atuando na resposta nociceptiva inflamatória tónica e não sendo eficaz na primeira fase ou fase aguda, (5 minutos), logo não tendo qualquer efeito direto sobre os nociceptores periféricos, não ativando as fibras eferentes primárias. Os recetores antagonistas opioidérgico e adrenérgico pré-tratados com Naloxona e Yohimbina, respetivamente, aboliram a ação antinociceptiva do ácido cafeico. Por outro lado, o recetor serotoninérgico pré-tratado com Metisergida não afetou a inibição das contorções induzida pelo ácido cafeico, aparentando ser o único recetor não relacionado com a atividade antinociceptiva do ácido cafeico, oralmente administrado (Park *et al.*, 2011). É importante realçar que nenhum dos três medicamentos acima referidos produz efeitos sobre as contorções dos ratos, portanto, não fazendo suscitar dor.

Em Medicina Dentária, esta característica tem sido utilizada nos casos de eletrocoagulação da papila interdentária hipertrófica e noutros pequenos procedimentos cirúrgicos, tal como na hipersensibilidade da dentina (Tanasiewicz *et al.*, 2012). Conforme é detalhado mais adiante, na Medicina Dentária Preventiva e Comunitária há uma redução da hipersensibilidade porque o própolis ajuda a ocluir parcialmente os túbulos dentinários.

3.1.7 Atividade antioxidante

Foram testadas várias amostras de própolis comercializado, apurando quais seriam os valores dos conteúdos fenólicos e dos flavonoides. Esses números confirmaram uma relação direta entre a eliminação de radicais livres e o poder redutor. Assim, a amostra mais rica em flavonoides e polifenóis foi a que teve maior poder redutor e eliminou maiores quantidades de radicais livres de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) e de ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfónico) (ABTS•+), enquanto que a amostra com valores baixos em fenóis e os mais baixos em flavonoides não correspondeu totalmente ao esperado, pois apesar de ter sido a que apresentou menor eliminação de radicais livres de DPPH• e menor poder redutor, não foi a que provou eliminar menos radicais de ABTS•+. Esta diferença de ação perante os radicais DPPH• e ABTS•+ pode resultar de composições químicas diferentes entre as amostras de própolis, bem como de distintos mecanismos de ação na eliminação dos radicais livres (Socha, Gałkowska, Bugaj & Juszczak, 2015).

Seguindo a mesma linha de pensamento, também Rodríguez *et al.*, (2012) relacionam a elevada quantidade de flavonoides com a eliminação de radicais livres, mediante um mecanismo de transferência de prótons, medidos através do índice ORAC (acrónimo para Capacidade de Absorção de Radicais Oxigenados), não se aplicando a mesma analogia à quantidade de fenóis por não ser estatisticamente significativo.

Como alguns extratos de própolis na sua composição têm elevadas concentrações de flavonoides e polifenóis, constatou-se que têm uma forte atividade de eliminação de radicais livres e grande poder redutor sem, contudo, serem citotóxicos, pelo menos até uma concentração de 5 µg/mL. De forma a explicar o mecanismo de ação, investigou-se que peróxido de hidrogénio produzia significativamente menos espécies reativas de oxigénio intracelulares, em macrófagos, aquando da presença do extrato de própolis, podendo, inclusive, diminuir os níveis de radicais livres em células normais, em ambos os casos de modo dose-dependente. Mais pormenorizadamente, conclui-se que o extrato promove a expressão de genes antioxidantes, tempo e dose-dependente, ativando a fosforilação da clássica MAPK (Zhang *et al.*, 2015).

Sabendo que os pesticidas podem provocar *stress* oxidativo e alterar o sistema enzimático de eliminação de radicais livres, alterando a estrutura membranar, um estudo com 100 ratos foi ao encontro das possíveis consequências de Clorpirifós e do extrato de própolis, se com ele conjugado. Este inseticida, quando utilizado sozinho, por um lado, fez disparar os níveis da peroxidação lipídica, por outro, reduziu drasticamente os de Glutathiona reduzida (GSH), os das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathiona Peroxidase (GPx), glutathiona-S-Transferase (GST) e os das proteínas totais, nos testículos dos ratos. Tal, provavelmente, deve-se ao aumento de peróxido de hidrogénio e de ROS, que provocam o *stress* oxidativo. Contrariamente, no grupo em que se administrou oralmente extrato de própolis (50mg/kg) obtiveram-se teores próximos aos do grupo controlo, em todos os parâmetros analisados, o que pode ser consequência de uma indução de genes antioxidantes e da sua expressão proteica. E, quando aplicado juntamente com o pesticida, o extrato contrariou os efeitos nefastos daquele, indicando reduzir ou suprimir a libertação de radicais livres (Attia, ElMazoudy & El-Shenawy, 2012).

3.1.8 Atividade hepatoprotetora

Como esquematizado na Fig. 6, a atividade hepatoprotetora do própolis decorre da presença de flavonoides e ácidos fenólicos pelos seguintes mecanismos: diminuição dos níveis de marcadores hepáticos, peroxidação de lípidos, repressão do *stress* oxidativo pela eliminação direta de radicais livres, quelação de metais e indução de enzimas antioxidantes e de desintoxicação (Citado por Wali *et al.*, 2015).



Fig. 6 – Atividade hepatoprotetora concedida pela ação dos flavonoides e ácidos fenólicos. (Baseado em Wali *et al.*, 2015)

Testou-se em ratos expostos a Rifampicina e Isoniazida, fármacos de primeira linha no tratamento da tuberculose, o papel protagonizado pelo extrato etanólico de própolis e pela Silimarina, que é tido como um hepatoprotetor, regenerando hepatócitos e restabelecendo a atividade normal do fígado. Assim, verificou-se que houve uma total recuperação instigada pela Silimarina, à semelhança de uma significativa, mas não total, regeneração induzida pelo extrato etanólico, estabelecendo a cura de esteatoses, necroses e inflamações (Wali *et al.*, 2015).

À semelhança do estudo anterior, Badr (2016) decidiu avaliar a eficácia do extrato aquoso de própolis e de própolis antes ou depois da aplicação de Metotrexato, medicamento para cancro e doenças autoimunes pouco prescrito devido à sua hepatotoxicidade, que opera no metabolismo do ácido fólico, conduzindo à necrose. Atestou-se que o grupo do extrato aquoso de própolis foi o que mais contrariou os efeitos deste medicamento, seguido de perto pelo grupo do extrato aplicado antes do Metotrexato e, por fim, o menos vantajoso que foi o grupo do extrato aplicado depois do medicamento. Por mérito da inibição da permeabilidade dos hepatócitos, o própolis evitou concentrações séricas elevadas de enzimas do fígado, estimulando ao mesmo tempo a produção de enzimas antioxidantes específicas, como a superóxido dismutase e a catalase.

Babatunde *et al.* (2015) apresentam valores idênticos, atestando que os níveis séricos de enzimas do fígado (Aspartato Transaminase – AST e Alanina Transaminase – ALT) reduziram significativamente em 25 ratos diabéticos tratados com própolis, mas não nos tratados com Metformina, que só foi capaz de atuar na concentração de AST. Relativamente ao *stress* oxidativo, a concentração da superóxido dismutase nos grupos medicados manteve-se similar à do grupo dos ratos normais, contrariando a sua descida e conseguindo até subir no grupo do própolis. Já o Malondialdeído (MDA), marcador de *stress* oxidativo, disparou no grupo de ratos diabéticos não tratados, mantendo-se baixo com Metformina ou própolis. Na Fig. 7 pode observar-se cortes histológicos do fígado de ratos de cada grupo deste estudo.

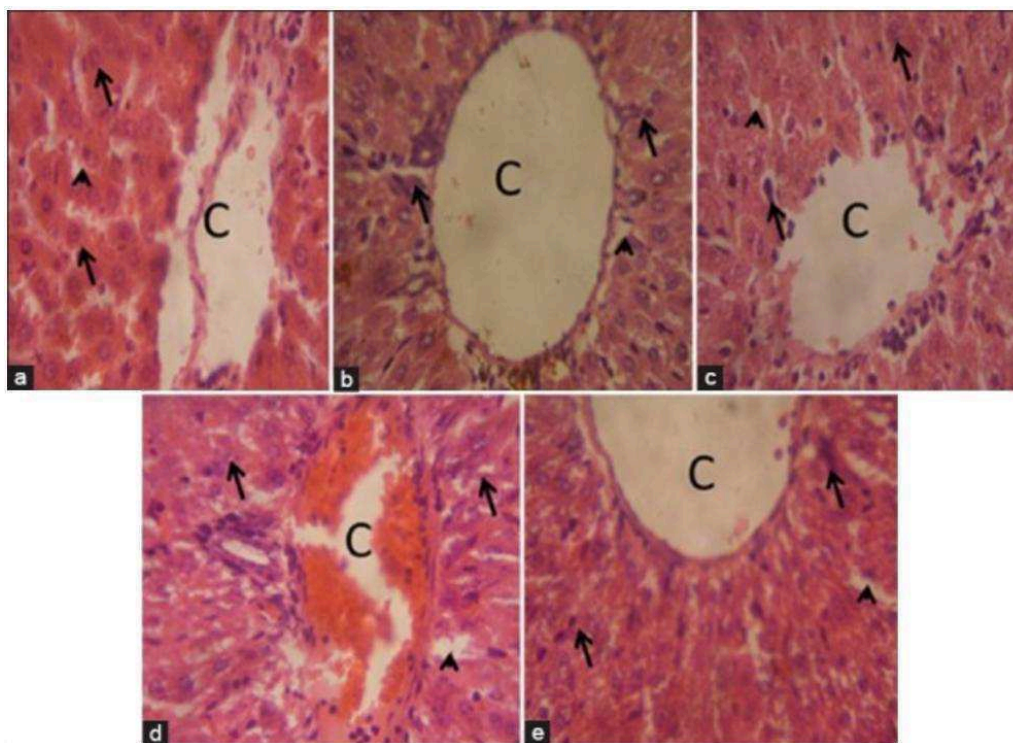


Fig. 7 – Fígado de ratos após 28 dias do tratamento (x400). (a) grupo controlo: morfologia normal; (b) grupo diabético: sinusoides ocluídos, hepatócitos inchados e veia central congestionada; (c) grupo diabético + metformina: morfologia normal; (d) grupo diabético + 200 mg/kg de própolis: morfologia normal; (e) grupo diabético + 300 mg/kg de própolis: morfologia normal. Seta - hepatócitos; triângulo - sinusoides; C - veia centro-lobular. (Adaptado de Babatunde *et al.* 2015)

3.1.9 Atividade imunomoduladora

A ação do extrato etanólico de própolis foi testada em 56 coelhos, adicionado, oralmente ou subcutaneamente, aquando da vacinação com a bactéria inativa que mais afeta esta espécie, de forma a imunizá-los. Conclui-se que estimula fatores imunológicos específicos e não-específicos e que é adjuvante da vacina, atuando no sentido da proliferação de IL-1 e IL-2 que ativam linfócitos B e T, da estimulação da síntese de anticorpos. A administração de própolis + vacina não revelou efeitos tóxicos e reduziu a gravidade de sinais clínicos adversos e taxa de mortalidade (Nassar, Mohamed, Soufy, Nasr & Mahran, 2012).

De acordo com outro estudo, em ratos normais, o própolis promovia a proliferação de linfócitos T ativos. No caso de ratos com diabetes mellitus, a proliferação de linfócitos T ativos era inibida e a de linfócitos T de memória e T reguladores era incentivada, prevenindo assim a cascata de ativação de outras proteínas que conduziriam a distúrbios da homeostase sistémica. Em ratos normais verificou-se que o IFN- γ aumentava com a aplicação de própolis, não alterando a homeostasia normal, mas melhorando a qualidade do sistema imunitário. A apoptose é outro mecanismo que pode ser desencadeado pelo própolis: em ratos saudáveis acontecia na população de linfócitos T para manter um balanço do seu número total. Em ratos com diabetes mellitus as células do baço eram forçadas a entrarem no processo de apoptose, de forma a evitar mais danos decorrentes da atividade de linfócitos T ativados. No entanto, esta apoptose diminuiu, uma vez que o própolis previne a ativação excessiva de células (Rifa'i & Widodo, 2014).

3.1.10 Atividade radioprotetora

Analisaram-se 21 ratos distribuídos por três grupos: um grupo ao qual injetaram uma solução salina, outro, ao qual deram a mesma injeção seguida de radiação, e o grupo no qual foi utilizada uma injeção intraperitoneal de própolis (400 mg/kg) seguida de radiação. As injeções diárias de todos os grupos foram administradas 3 dias antes do

início da radioterapia, como meio profilático. Nos 10 dias seguintes, detetou-se uma diminuição da intensidade de mucosite no grupo do própolis. Até 70 dias após o tratamento, realizaram-se cintilografias que demonstraram que o grupo do própolis conseguiu manter uma função glandular regular semelhante ao grupo não exposto à radiação, ao contrário do outro. Histologicamente, detetou-se uma homogeneidade entre os grupos radioafetados, visto que houve uma acentuada redução de ácinos e um elevado acréscimo de tecido conjuntivo em relação ao grupo não exposto. A produção salivar por parte da parótida foi mantida devido à proteção da membrana celular (assegurando a transdução do sinal intracelular) por parte do própolis e não se revelando a ausência acinar essencial para o decréscimo de produção (Motallebnejad *et al.*, 2014).

A radioterapia é genotóxica e, nesse sentido, num estudo com 180 mulheres das quais 135 tinham cancro da mama, verificou-se através do teste cometa ou Electroforese em Gel de Célula Única (SCGE), que em doentes expostos a este tratamento os danos no DNA aumentaram exponencialmente. O grupo que recebeu diariamente um cápsula de 400 mg de própolis, 3 vezes por dia, antes, durante e após a radioterapia, conseguiu fazer decrescer os danos no DNA para níveis próximos do grupo controlo (Ebeid, Moneim, El-Benhawy, Hussain & Hussain, 2016). Valores indicados na Tab. 1.

Análise		Grupos				
		Controlo (valores médios)	Radioterapia apenas (valores médios)		Radioterapia + Própolis (valores médios)	
			Antes	Depois	Antes	Depois
Teste Cometa	Comprimento residual (μm)	20,69 \pm 6,01	38,99 \pm 4,50	78,55 \pm 18,88	40,59 \pm 4,9	27,73 \pm 3,95
	% de DNA residual	4,83 \pm 2,03	15,19 \pm 6,77	39,87 \pm 12,27	17,37 \pm 6,13	6,14 \pm 3,19
Sérica	RRM2 (pg/mL)	167,48 \pm 67,49	714,4 \pm 224,7	477,80 \pm 114	661,2 \pm 268,27	186,4 \pm 79,86

Sérica	TAC (mmol/L)	1,34±0,26	0,49±0,15	0,30±0,10	0,43±0,14	0,89±0,24
	MDA (nmol/mL)	1,59±0,60	11,77±2,97	16,12±6,27	11,37±3,03	6,48±2,32
	Ferro (µg/dL)	140,38±47,85	87,53±22,14	65,11±20,73	72,92±17,84	137,8±43,24
Hematológicos	Hemoglobina (g/dL)	12,50±1,13	12,13±1,04	10,21±0,93	11,88±1,12	11,92±1,42
	Leucócitos (10 ⁹ /L)	6,3±0,84	5,98±1,60	4,01±1,50	6,01±1,66	5,88±1,81
	Plaquetas (10 ⁹ /L)	323,3±60,1	307,4±72,5	268,1±54,1	300,6±79,6	355,9±115,3

Tab. 1 – Valores médios dos testes/análises feitos em pacientes dos grupos controlo, radioterapia apenas e radioterapia + própolis. (Adaptado de Ebeid *et al.*, 2016)

Um dos mecanismos de reparação do DNA passa pela catalisação de radicais livres, com posterior perda da função enzimática, por parte da subunidade Ribonucleótido-difosfato-Redutase M2 (RRM2). Em doentes expostos a radioterapia, os valores RRM2 subiram, tendo possivelmente propriedades oncogénicas, uma vez que a Sobrevivência Livre de Doença (DFS) foi de apenas 23 semanas, até aparecerem 44% de doentes com metástases. No grupo do própolis, este promoveu a sub-produção de RRM2 até chegar a níveis quase normais e estendendo a DFS para 27 semanas, obtendo apenas 16% de casos com metástases às 30 semanas. Procedeu-se a testes no soro, como a Capacidade Total Antioxidante (TAC), em que no grupo sujeito a apenas radioterapia mostrou valores muito inferiores que o grupo de controlo e ainda baixaram mais, depois do tratamento. Por sua vez, formam-se radicais livres como OH• que reagem com componentes celulares, criando diversas moléculas, nomeadamente MDA, que podem piorar ainda mais o funcionamento da célula e que estava muito aumentada no grupo

exposto à terapia. O própolis, na medição feita após a radioterapia, diminuiu a discrepância de TAC e de MDA em relação ao grupo controle, demonstrando capacidade antioxidante e de eliminação de radicais livres, mas, ainda assim, foram valores que ficaram significativamente aquém do ideal. A radiação também fez decrescer a contagem de leucócitos, plaquetas e da concentração de hemoglobina e ferro, alterações que são atenuadas com o tratamento com própolis (Ebeid *et al.*, 2016).

3.2. Aplicações terapêuticas orais

3.2.1 Cirurgia / Maxilo-Facial

De acordo com o estudo de Morawiec *et al.* (2015), confirmou-se clinicamente que a regeneração dos tecidos lesados é assistida pela aplicação tópica de própolis, ajudando este a diminuir a inflamação e a dor e promovendo a regeneração. Sabe-se, ainda, que o própolis acelera a formação de tecido de granulação e epitelial, de acordo com a pesquisa de Więckiewicz *et al.*, (2013). Lopes-Rocha *et al.* (2012) também perceberam que o própolis acelerava a regeneração tecidular após cirurgias, tal como Magro-Filho e Carvalho (1994), que ainda acrescentaram que a resina diminuía a inflamação e funcionava como analgésico (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

A resina das abelhas é empregada na regeneração tecidular e os dados recolhidos por Akhavan-Karbassi *et al.* (2016) confirmam os seus benefícios por promover esse processo e auxiliar na formação de tecido de granulação. Dos 40 pacientes, os que bochecharam com um desinfetante bucal com própolis viram diminuir a incidência e o tamanho das feridas na cavidade oral mais rapidamente que os que bochecharam com um placebo.

Em 42 ratos, dispostos num grupo controle e noutro em que era administrada um injeção intraperitoneal de CAPE (10µmol/kg), diariamente, procedeu-se à extração de um molar e a uma incisão na mucosa do palato duro. Com isto, Günay *et al.* (2014) constataram que o CAPE acelerou substancialmente a regeneração de osso alveolar, após a extração dentária e influenciou a diminuição de fibrina, ao longo dos 30 dias do

estudo, em relação ao grupo controlo. Não obstante o CAPE ter melhorado a cicatrização no palato, não se destacou significativamente do grupo controlo.

Jacob, Parolia, Pau e Davamani Amalraj (2015) afirmam que a ação sobre a migração e proliferação de fibroblastos depende do tipo de própolis, devido a diferentes composições. Para o afirmar, basearam-se em dois tipos de própolis. O primeiro teve um efeito positivo nos dois testes, comparado com o grupo controlo, sendo concentração-dependente e indicando que 250 µg/mL era a concentração ótima para a migração de fibroblastos e 500 µg/mL para a proliferação. Contrariamente, o segundo tipo de própolis induziu apenas um ligeiro aumento na migração e proliferação de fibroblastos, numa concentração de 10 e 100 µg/mL, respetivamente, tendo um efeito quase semelhante ao grupo controlo. Para concentrações mais elevadas que as referidas e também de modo concentração-dependente, observaram um efeito inibitório da migração e proliferação.

Por forma a perceber o efeito do própolis na regeneração de fraturas ósseas, recorreu-se ao alongamento ósseo mandibular de 21 coelhos, através da técnica de osteodistração. Após 1 e 4 semanas do início do tratamento, o grupo a quem se deu própolis, numa concentração de 200 mg/kg por dia, oralmente, reagiu melhor por ter uma densidade e conteúdo mineral ósseo superiores ao do grupo controlo e ao do grupo ao qual foi facultado apenas 100 mg/kg de própolis. Este último grupo só se mostrou diferente do grupo controlo, na 4ª semana. Como mostra a Fig. 8, o grupo com maior concentração, na 4ª semana, também se destacou dos demais num parâmetro que analisava o osso neoformado, por ter valores mais baixos, o que não quer dizer que se tenha formado menos, mas sim que a maturação do mesmo foi acelerada. Isto possibilitou diminuir a duração da fase de consolidação, o que permitiu evitar complicações associadas a um longo período de consolidação e encurtou o tempo de distração (Bereket *et al.*, 2014).

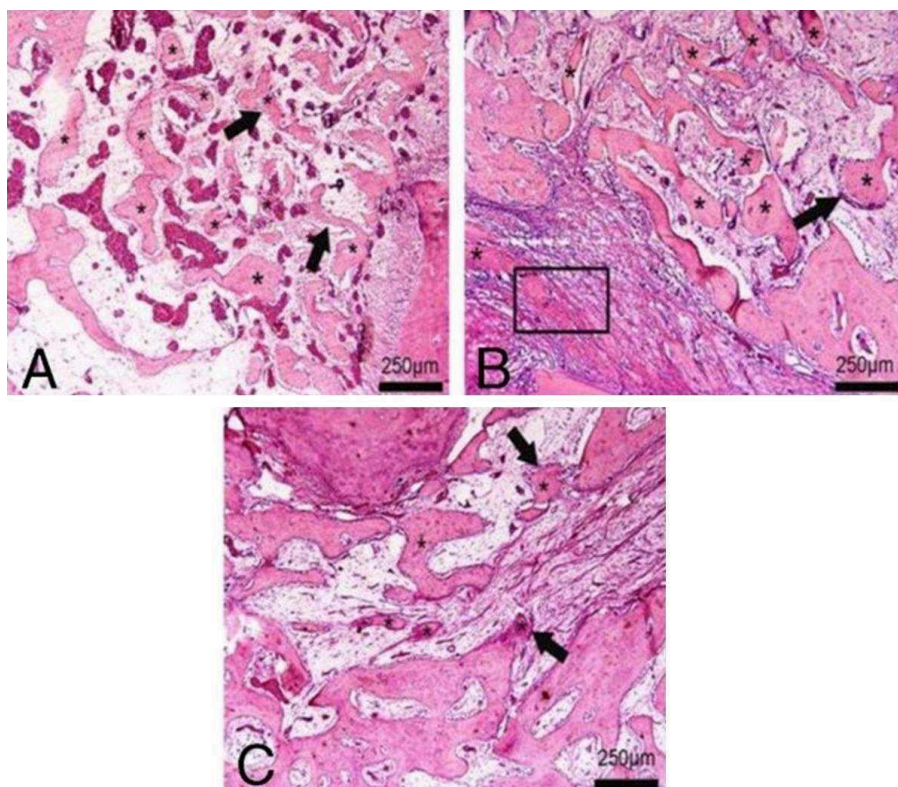


Fig. 8 – Osteodistração no grupo controlo (A), no de própolis menor (B) e maior (C) concentração (ampliação x5). * - osso neoformado; seta - osteoblastos na linha junto ao novo osso; retângulo - área de osso neoformado com infiltrado. (Adaptado de Bereket *et al.*, 2014)

Tentou-se perceber de que forma o osso era estimulado e, pegando na crisina, entendeu-se que esta estimulava a diferenciação e maturação de osteoblastos em ossos parietais. O mecanismo pelo qual o fez foi a ativação da cascata de MAPK, mais especificamente, de Quinase Regulada por sinais Extracelulares (ERK 1/2), que promoveu a expressão de genes marcadores de formação óssea e a de fatores de transcrição osteogénicos e aumentou a formação de nódulos mineralizados nos osteoblastos. Percebeu-se que a via ERK 1/2 foi ativada pela crisina, na medida em que esta é um fitoestrogénio, atuando nos recetores de estrogénio necessários para a diferenciação de pré-odontoblastos (Zeng, Yan, Zhang, Zhang & Liang 2013).

Para além disso, Morawiec *et al.* (2015) constataram que em 14 doentes sujeitos a extração de dentes do siso ou colocação de implantes endósseos curtos, em dois momentos distintos, a quantidade de microrganismos presentes na cavidade oral variou. Com isto, no grupo placebo, aumentou tanto o número de bactérias como o número de espécies, ao passo que, no grupo em que foi aplicado o gel contendo extrato de própolis, o número de bactérias reduziu e o número de espécies aumentou muito pouco,

alterando-se algumas espécies substituídas por espécies menos cariogénicas, ou seja, melhorando qualitativamente a microflora.

O mesmo se passou num estudo realizado por Niedzielska *et al.* (2016) que explicaram que o extrato etanólico de própolis pode ser muito benéfico como adjuvante, num gel, em relação a outro gel placebo, quando administrado após fraturas mandibulares, corrigidas por fixação interna oral. Ou seja, através de avaliação da higiene oral, da placa e do periodonto, em 31 pacientes, em três momentos diferentes, concluíram que se verificou uma melhoria mais significativa, no grupo que utilizou o extrato de própolis, do que no grupo placebo e que, no primeiro, a quantidade de microrganismos diminuiu, substituindo-se algumas espécies por outras, ao passo que, no grupo placebo, o número de microrganismos simplesmente se amplificou. Estes dados são relevantes, na medida em que o número de fraturas tem vindo a aumentar ao longo dos tempos, com o desenvolvimento da civilização e consequente evolução de transportes motorizados, associando ainda a celeridade do quotidiano, *stress* e agressividade.

3.2.2 Dentisteria

A cárie é uma doença provocada por bactérias como *S. mutans* e, em segundo plano, por *Lactobacillus spp.* E, em terceiro, por *Enterococcus* e *Actinomyces*. A primeira espécie vai provir da adesão ao esmalte, da capacidade de criar um meio ácido e de ser resistente a ele. Segundo Ikeno *et al.* (1991), o própolis não apenas tem a competência de diminuir o número de microrganismos patogénicos, como também diminui a síntese de glucanos insolúveis e a atividade da glicosiltransferase (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013). A maior eficácia desta resina das abelhas revelou ser no combate a *S. mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, sendo assim eficaz contra a formação de novas cáries (Skaba *et al.*, 2013).

Num estudo com 80 molares decíduos sujeitos à Técnica de Restauração Atraumática (ART), procedeu-se à recolha de dentina, antes e depois da desinfeção cavitária e incubaram-se os microrganismos presentes nela, dando enfoque a *S. mutans* e

Lactobacillus. Mohan, Uloopi, Vinay e Rao (2016) constataram que o laser de diodo foi o que mostrou uma redução maior na percentagem bacteriana, seguido do própolis, da clorexidina a 2% e do gel de Fluoreto de Fosfato Acidulado (APF), que mostrou grande redução na contagem viável total, sugerindo ser mais eficaz contra bactérias anaeróbias do que contra os principais microrganismos cariogênicos. Destacam-se, portanto, o laser e o própolis, ao manifestarem elevadas reduções nas percentagens de *S. mutans* (99,49%/99,3%), de *Lactobacillus* (99,1%/98,49%) e da contagem viável total (99,27%/97,77%), respetivamente. Na Fig. 9 é possível observar a presença/ausência de das bactérias presentes na dentina, antes e depois da desinfecção cavitária com própolis.

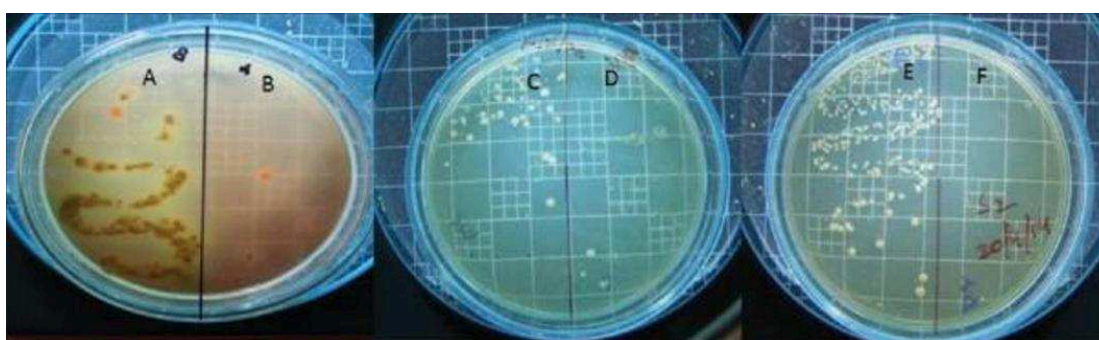


Fig. 9 – Contagem total viável em meio agar de sangue (A) antes e (B) depois da desinfecção cavitária com própolis. Contagem de *S. mutans* em meio agar de manitol salgado (C) antes e (D) depois da desinfecção cavitária com própolis. Contagem de *Lactobacillus* em meio agar rogosa (E) antes e (F) depois da desinfecção cavitária com própolis. (Adaptado de Mohan *et al.*, 2016)

Oznurhan, Ozturk e Ekci (2015) quiseram testar as forças de adesão à dentina primária, em 12 dentes, quando previamente se aplicaram diversos produtos na forma de desinfetantes cavitários, que combateriam microrganismos residuais, após a extração de tecido cariado. A água ozonizada e o laser Fosfato de Potássio Titanilo (KTP) mostraram-se como os mais promissores, descartando o própolis para o mesmo nível de eficácia do grupo de controlo.

Vários desinfetantes cavitários foram utilizados para serem testados em relação à microtração, quando aplicados antes ou depois do ácido entrar em contato com os 22 dentes manuseados. Öznurhan *et al.* (2015) valeram-se dos valores de microtração para colocar por ordem decrescente de sucesso cada desinfetante empregado antes do ácido: KTP > controlo > água ozonizada > própolis > clorexidina > ozono gasoso, tendo-se destacado pela positiva o KTP. Já quando o ácido foi colocado antes dos desinfetantes obtiveram: KTP > controlo > própolis > água ozonizada > clorexidina > ozono gasoso,

não se observando diferenças significativas entre o KTP, controle e própolis. Recorrendo aos mesmos valores, entenderam que o KTP, a água ozonizada e o ozono gasoso, quando ou se usados, devem ser aplicados antes do ácido e que o própolis e a clorexidina podem ser antes ou depois, uma vez que os valores de microtração não se alteraram.

Arslan *et al.* (2011) não obtiveram evidência científica a partir de 36 sisos de que o própolis, como desinfetante cavitário, seja mais eficaz; ao aplicar a técnica *self-etch*, tal como os outros produtos utilizados, não se destacou, não melhorando nem piorando as forças de adesão (14,51 MPa).

Estes resultados estão de acordo com os de Arslan *et al.* (2012) em que, mais tarde, numa amostra de 30 dentes extraídos, uma solução de extrato de própolis a 30% mostrou-se tão fraca como o grupo de controle, chegando até a ocorrer mais microinfiltração na dentina com grupo do própolis, aquando da aplicação da técnica *self-etch*. Já quando a técnica selecionada foi a *etch and rinse*, não se verificou qualquer alteração a este nível, tanto no esmalte como na dentina, a par dos outros grupos (2% de clorexidina; ozono em gás; laser Er, Cr:YSGG e controle).

De acordo com Bretz *et al.* (1998) não há grande diferença entre a ação da resina das abelhas e a ação do hidróxido de cálcio, no que toca à formação de dentina reparadora bem organizada e sem incremento da vascularização, após exposição pulpar direta, através de procedimentos invasivos mecânicos ou químicos. Como resultado deste estudo realizado em 25 ratos, 5 dias após o procedimento, constatou-se ser preferível a utilização de própolis do que de hidróxido de cálcio, no que concerne a reação inflamatória inicial, contaminação pulpar, formação de dentina reparadora e presença de fibroblastos, sendo só mais fraco ao demonstrar respostas coronais. Nas avaliações que se sucederam, nos dias 7 e 10, houve uma tendência para o própolis se mostrar melhor em todos os parâmetros, invertendo-se no dia 14, em que a formação de dentina e a reorganização dos tecidos moles foi idêntica em ambos; todavia, o hidróxido de cálcio demonstrou ser ligeira, mas não significativamente superior, por manter reduzida a inflamação e a população microbiana, mas igual ao própolis na formação da ponte dentinária e na reorganização dos tecidos moles.

Por outro lado, Ahangari *et al.* (2012) recorrendo a 60 dentes extraídos, comprovaram que o própolis é mais eficaz no tratamento da exposição pulpar que o hidróxido de

cálcio, agindo a nível da redução da inflamação e infeção. Além disto, a necrose pulpar, característica do hidróxido de cálcio, foi identificada em 25%, ao passo que, no grupo do própolis, a polpa manteve-se 100% vital ao longo do período experimental. Quanto à presença de células, em ambos os grupos, encontraram-se mais células tronco perivasculares que células tronco na dentina e, em maior quantidade, no grupo do hidróxido de cálcio, não transpondo tal facto para os odontoblastos, nos quais não houve diferenças significativas. Porém, a quantidade de dentina formada foi igual nos dois grupos, mas o do própolis registou uma qualidade muito superior, sendo uma dentina tubular, sem poros nem tecido conjuntivo, idêntica à dentina primária. No 10.º dia não se observaram diferenças, mas no 15.º, o grupo do própolis apresentava 70% de dentina tubular, contrastando com os 90% de dentina irregular do hidróxido de cálcio; a diferença atenuou-se no 30.º dia, com 100% contra os 86% de dentina tubular do segundo grupo. Estes resultados são explicados pela longevidade do própolis *in situ*: no 15.º dia os restos de hidróxido de cálcio atingiam os 40%, destoando dos 20% de própolis e, no 30.º, exibiam-se 0% e 17%, respetivamente. Estes remanescentes foram possibilitando a constante diferenciação das células tronco.

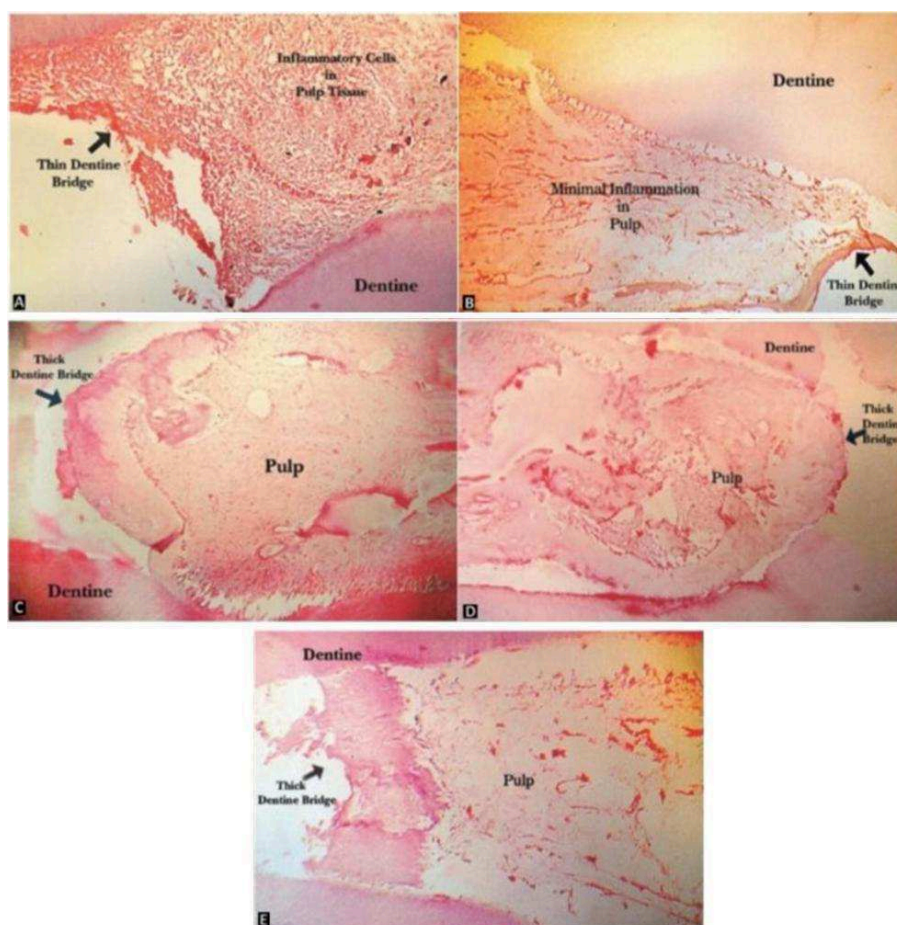


Fig. 10 – Formação da ponte dentinária (x10). Extrato de própolis aos 15 (A) e 45 (C) dias; MTA aos 15 (B) e 45 (D) dias; Dycal aos 45 dias (E). (Adaptado de Parolia *et al.*, 2010)

Parolia *et al.* (2010) e Ozório *et al.* (2012) alegam semelhança no resultado da indução da formação de dentina, em produtos como o própolis, hidróxido de cálcio ou Agregado Trióxido Mineral (MTA). Parolia *et al.* (2010) anotaram as percentagens à resposta inflamatória presente em 36 dentes, havendo muito poucas células inflamatórias espalhadas na polpa, no grupo do extrato de própolis (33%/83%), do MTA (83%/83%) e do Dycal (17%/33%) e, ao mesmo tempo, um infiltrado inflamatório moderado no grupo do extrato (67%/17%), MTA (17%/17%) e Dycal (83%/67%), aos 15 e aos 45 dias, respetivamente, após a aplicação de cada produto. Da mesma forma, também avaliaram as percentagens correspondentes à formação da ponte dentinária, obtendo para o própolis 33% e 100%, MTA 67% e 100% e Dycal 33% e 83%, aos 15 e aos 45 dias, respetivamente, traduzidas em imagens representadas na Fig. 10. Quanto à qualidade da dentina, tanto no extrato como no MTA, 4 dentes exibiram uma dentina bem organizada e tubular e 2 dentes um padrão de túbulos irregular. O Dycal revelou piores resultados, pois alcançou os mesmos 2 dentes com padrão de túbulos irregular, mas os restantes 4 dentes tinham uma estrutura densa com dentina amorfa e não tubular.

Ao fim de 7 dias da aplicação de extrato aquoso de própolis, MTA e Plasma Rico em Plaquetas (PRP), em 52 dentes de cães com exposição pulpar direta, Moradi, Saghravanian, Moushekhian, Fatemi e Forghani (2015) verificaram que os dois primeiros componentes fizeram aparecer áreas calcificadas difusas, mas que só se manifestaram passados 30 dias, com PRP. Porém, debaixo do extrato e de MTA, ao fim de 30 dias, existia uma barreira de tecido duro calcificada. A fibronectina e a tenascina são glicoproteínas não colagêneas presentes na matriz extracelular da polpa, cuja expressão ocorre durante a dentinogénese e que podem induzir a diferenciação de odontoblastos. Sabendo isto, também os seus níveis foram avaliados, mostrando maior produção com MTA do que com os outros grupos. Apesar de o extrato ter ostentado um fraco resultado, no incremento da expressão de fibronectina, destacou-se do grupo de PRP e controlo, na síntese de tenascina, embora não se possa equiparar ao MTA.

Num estudo realizado em 30 amostras de dente, por Prabhakar, Balehosur e Basappa (2016), estes comparam um grupo em que se usou Cimento Ionómero de Vidro (CIV) apenas, para restaurar dentes, após eliminação de cárie, e outro em que se usou o mesmo material restaurador, mas reforçado com um extrato etanólico de própolis a 1%. Não se

verificou qualquer alteração significativa em termos de forças de adesão entre os dois grupos; no entanto, no grupo reforçado, a própolis amplificou a libertação de flúor, propriedade já por si intrínseca do CIV. Assim sendo, a técnica ART encontra-se mais indicada quando empregado este material impregnado de própolis, uma vez que não apresenta alterações na adesão, confere características antibacterianas e aumenta a libertação de flúor.

Para comprovar que a incorporação de própolis em CIV era benéfica contra *S. mutans*, Topcuoglu, Ozan, Ozyurt e Kulekci (2012) socorreram-se do teste da difusão com discos, num processo *in vitro*. Perceberam que a atividade antibacteriana era muito superior à que ocorria no CIV sem própolis, mas que o diâmetro do halo de inibição não dependeu da concentração de própolis na mistura. Ao testarem a formação de biofilme, registaram que a formação de biomassa, mais uma vez, não oscilou consoante as concentrações de própolis e foi significativamente menor do que no grupo do CIV convencional. Também mediram, através da densidade ótica, a formação de biofilme e, neste caso, o número de bactérias viáveis foi menor para uma concentração de 50%, em detrimento de 25% ou de 0% de própolis no CIV, demonstrando que a redução de *S. mutans* em biofilmes é concentração-dependente.

Altunsoy, Tanriver, Türkan, Uslu e Silici (2016) muniram-se de 60 dentes e repararam que não houve alterações significativas na microinfiltração, entre os grupos de CIV apenas e CIV misturado com extrato etanólico de própolis a 10%, 25% e 50%. Para além disso, tendo em vista a resistência ao desgaste e a durabilidade dos materiais, realizaram o teste de Vickers, percebendo que havia uma proporcionalidade directa entre a microdureza e a concentração de própolis em CIV.

Subramaniam, Girish Babu, Neeraja e Pillai (2016) testaram outras características do CIV e do CIV com própolis a 1%, em 40 dentes. Assim, conseguiram entender que quando adicionado própolis, o cimento fica mais propenso a fraturas, quando sujeito a forças de compressão, e que a solubilidade em água destilada foi aumentando com o tempo. A solubilidade acrescida deve-se ao facto de os componentes resinosos do própolis, em contacto com o líquido, não favorecerem a disseminação de moléculas de água na estrutura do cimento, impedindo a sua maturação.

Apesar de Altunsoy et al. (2016) terem descrito pontos neutros ou positivos da mistura de CIV com própolis e de Subramaniam et al. (2016) pontos negativos, concordam que

o própolis alterou a cor do CIV, amarelecendo-o e incompatibilizando-o com restaurações anteriores mais estéticas.

3.2.3 Endodontia

O grande objetivo dos tratamentos nesta área visa a eliminação de bactérias nos canais dentários, especificamente de *Enterococcus faecalis*, eliminando a inflamação periapical e mantendo saudáveis as células do periodonto. Diversos autores estão de acordo ao dizer que a resina das abelhas limita a existência desta bactéria nos canais. Autores como Kayaoglu *et al.* (2011) e Mattigati *et al.* (2012) afirmam que a efetividade da resina das abelhas é igual ou inferior à da clorexidina, ao desinfetar canais. Já Cuevas-Guajardo *et al.* (2011) depararam-se com o facto de que até às 24h, a clorexidina era a escolha correta, mas depois das 48-72h passava a ser a mistura de hidróxido de cálcio com o própolis, numa proporção de 1:3, respetivamente (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Tendo em vista estes factos, num estudo em 70 dentes *in vivo*, confrontou-se a diferença na ação do extrato aquoso de própolis a 25% contra uma solução salina (controlo). Com cones de papel, retiraram-se bactérias dos canais, antes e depois de irrigar com cada solução, e incubaram-se de modo a proceder à contagem das colónias. Verificou-se que, após a irrigação, em ambos os grupos, o número de colónias de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *E. faecalis* e *E. coli* decresceram. Como se pode constatar na Fig. 11, para cada espécie (respetivamente), o grupo do própolis foi 59,2%, 68,2%, 52,3% e 37,4% mais eficaz do que o grupo controlo, na eliminação destas bactérias (Verma, Pandey & Agarwal, 2014).

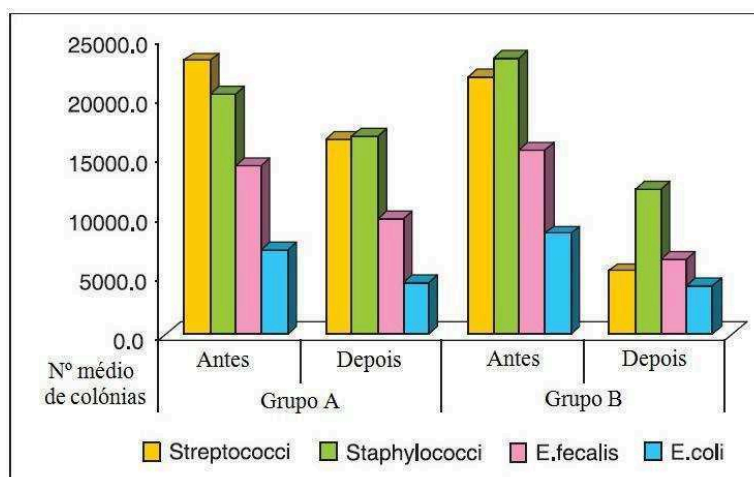


Fig. 11 – Número médio de colônias antes e depois da irrigação com a solução salina (A) ou própolis (B). (Adaptado de Verma et al., 2014)

Contrariamente, Mattigatti *et al.* (2012) declararam que o efeito inibitório máximo (após 48h) contra *E. faecalis* foi conquistado pela Mistura de Ácido cítrico, cloridrato de doxiciclina e Detergente (MTAD) e seguido pela clorexidina, própolis, hipoclorito de sódio, Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA) e hidróxido de cálcio. A atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* foi mais inibida pela clorexidina, seguida de hipoclorito de sódio, MTAD, EDTA, própolis e hidróxido de cálcio. Já para a *C. albicans*, a máxima zona inibitória foi alcançada pela clorexidina, seguida pelo MTAD, hipoclorito de sódio, EDTA e sendo menos competentes o própolis e o hidróxido de cálcio. Ou seja, neste estudo o própolis revelou ser das substâncias com menos eficácia.

A resina foi também posta à prova, juntamente com outros irrigantes, de forma a avaliar as forças de adesão à dentina. Após uma primeira irrigação com hipoclorito de sódio em 126 sisos, Kalyoncuoğlu *et al.* (2015) aperceberam-se de que, no topo da lista, os irrigantes de segunda linha que tiveram mais sucesso foram: MTAD, seguido do própolis e de outros e, no fundo da mesma lista, apareceu o hipoclorito de sódio. Extrapolou-se daqui que os flavonoides têm a capacidade de atenuar a inibição da polimerização, por parte do hipoclorito de sódio, uma vez que todos os grupos estudados, primeiramente, utilizaram o hipoclorito de sódio e só depois o irrigante distintivo, transformando, assim, o própolis num dos melhores irrigantes finais usados no tratamento canal.

Outro fator importante para o sucesso dos tratamentos endodônticos, por aumentar a área de contacto entre a dentina e o cimento e, conseqüentemente, melhorar o selamento

e a retenção mecânica, é a desobstrução dos túbulos dentinários. Foi apurado, após a remoção dos medicamentos intracanales com irrigantes em 40 dentes extraídos, que não se obtiveram diferenças entre a resina das abelhas e o hidróxido de cálcio. Logo, a remoção de própolis e hidróxido de cálcio para que se desobstruíssem os túbulos foi semelhante em ambos pois, os túbulos ficaram livres nos terços coronal e médio e preenchidos no terço apical nos dois grupos (Üstün, Arslan & Aslan, 2013).

Awawdeh *et al.* (2009) defendem que o própolis é um excelente medicamento intracanal, na medida em que elimina eficazmente *E. faecalis* (Citado por Oznurhan *et al.*, 2015). Outros estudos comparam-no com o hidróxido de cálcio, sendo a resina mais promissora como antibacteriana. Recorrendo a 90 dentes monorradiculares extraídos, Saha, Nair e Asrani (2015) compararam *Curcuma Longa*, hidróxido de cálcio, própolis e a mistura sinérgica de clorexina com metronidazol e repararam que, com o passar dos dias, a efetividade contra *E. faecalis* aumentava. O própolis foi o que conseguiu um valor de densidade ótica menor, o que significa que foi o melhor medicamento antibacteriano.

Bhandari, T.S. e Patil (2014) recorreram a 120 dentes monorradiculares, extraídos para estudarem a eficácia dos medicamentos intracanales contra *E. faecalis*. Tanto no dia 1, como no dia 3 ou 5, os grupos com própolis, hidróxido de cálcio e gel de clorexidina a 2%, reduziram o número de colónias, em comparação com o grupo controlo. A clorexidina foi a que se destacou dos demais, sendo 100% eficaz contra *E. faecalis*, a uma profundidade de 400 µm nos túbulos dentinários, em qualquer um dos dias da avaliação.

Em ambos os estudos, o hidróxido de cálcio foi o que obteve pior desempenho, provavelmente devido à sua inabilidade de penetrar profundamente nos túbulos, mas igualando o própolis, no segundo estudo, apenas no 3.º e 5.º dias (Bhandari *et al.*, 2014; Saha *et al.*, 2015). Bhandari *et al.* (2014) admitem que é complicado confrontar os resultados de diferentes estudos antibacterianos sobre a *E. faecalis*, uma vez que a composição química do própolis é tão variável.

Dados indicam que o extrato de própolis é menos citotóxico que o hidróxido de cálcio, como medicamento intracanal, uma vez que o primeiro tem capacidade anti-inflamatória, inibindo células imunitárias e promovendo a formação de colagénio, entre outras funções, e o segundo atua devido ao seu elevado pH, que provoca necrose e

apoptose. Confirmou-se, assim, a diferença na viabilidade celular de fibroblastos pulpares retirados de 2 dentes saudáveis, dado que se aplicou a concentração de 1mg/mL de hidróxido de cálcio e de extrato de própolis que, respetivamente, resultaram em 11,34% e 75,20% de viabilidade celular (Zare Jahromi *et al.*, 2014).

Durante as infeções dentárias que provocam pulpopatias, as bactérias libertam lipopolissacáridos que provocam a libertação de citoquinas e quimioquinas inflamatórias, por parte dos macrófagos, odontoclastos e células-tipo odontoblastos (*odontoblast-like cells*). Investigou-se, *in vitro*, qual o efeito do própolis nestes mediadores inflamatórios e constatou-se que na ausência de lipopolissacáridos não houve alterações, ao passo que, na presença dos mesmos, a tendência foi baixá-los significativamente. Na cultura de células-tipo odontoblastos, a indução da expressão de IL-1 α , Proteína Inflamatória de Macrófagos (MIP-1 α), IL-12 e IL-15 foi reduzida. Na cultura de macrófagos, 6h após o tratamento com própolis e lipopolissacáridos, a MIP-1 α , o Fator Estimulante de Colónia de Macrófagos (G-CSF), o TNF- α e a IL-6 e 24h após o tratamento, a Proteína Quimioatrativa Monócito 1 (MCP-1) foram significativamente inibidos em comparação com o tratamento de apenas lipopolissacáridos. Por fim, na cultura de osteoclastos, a expressão de MIP-1 α , IL-6, Proteína induzida por Interferão gama 10 (IP-10) e MCP-1 foi parcial, mas significativamente interrompida 24h após o tratamento. Esta atenuação do processo inflamatório é benéfica, na medida em que diminui a inflamação pulpar e periapical e antecipa a regeneração, evitando danos maiores (Neiva, Catalfamo, Holliday, Wallet & Pileggi (2014).

Üstün *et al.* (2013) constataram, em 40 dentes extraídos, que o própolis em pasta, como medicamento intracanal, demonstrou melhorar as forças de adesão à dentina, no terço apical, e igualar o efeito do hidróxido de cálcio e do grupo de controlo, nos terços médio e coronal, por causa da melhor irrigação nos terços superiores, levando a uma grande remoção de *smear layer* e dos medicamentos intracanales. Sugeriram também que a elevada adesão, tanto à dentina como ao cimento endodôntico, se deve a componentes aromáticos e a ácidos gordos presentes no própolis, por serem hidrofílicos. Na Tab. 2 estão apresentados os números obtidos de falhas na adesão (quando há separação total entre o cimento endodôntico e a dentina), coesão (quando há fratura no meio do cimento) e mistura dos anteriores (quando se verificam as duas falhas simultaneamente). O predomínio de falhas coesivas e de mistura pode ser explicado pelo tamanho do

êmbolo, indêntico ao do canal, que, ao colocar a gutta-persha, deixou apenas cimento junto das paredes da raiz.

Tipo de falha (%)	Grupo do própolis			Grupo do hidróxido de cálcio			Grupo controlo		
	C	M	A	C	M	A	C	M	A
Adesão	0	0	0	0	0	20	0	0	30
Coesão	70	40	60	60	60	10	60	50	10
Mistura	30	60	40	40	40	70	40	50	60

Tab. 2 – Distribuição do modo de falha pelos grupos de acordo com a região canalár. (C) coronal; (M) médio; (A) apical. (Adaptado de Üstün *et al.*, 2013)

Quando é necessário fazer pulpectomias de dentes decíduos, previamente, tem de se fazer o selamento com materiais que possam ser reabsorvidos durante a rizálise. Portanto, Al-Ostwani, Al-Monaqel e Al-Tinawi (2016) utilizaram a pasta de óxido de zinco com própolis, a de óxido de zinco com eugenol, Endoflas sem clorofenol e Metapex, em 64 molares decíduos. A percentagem de sucesso clínico nos *follow-up* de 6 e 12 meses, obtida para cada material acima descrito foi, respectivamente, de 100/93,8%, 93,8/87,5%, 100/87,5% e 93,8/87,5%. Em termos de sucesso radiográfico, para os mesmos materiais e momentos de avaliação, as percentagens revelaram ser: 75/62,5%, 56,3/56,3%, 81,3/81,3% e 75/75%, respetivamente. Por fim, analisaram as velocidades de reabsorção de cada material e perceberam que era mais rápida ou igual à velocidade da rizálise, nas seguintes percentagens: 37,5/62,5%, 6,3/62,5%, 56,3/43,8% e 56,3/43,8, respetivamente. Nenhum dos materiais foi absorvido mais lentamente do que a raiz, exceto o óxido de zino com eugenol, acontecendo em 31,3% dos casos. Entende-se, portanto, que o própolis é um promissor material de preenchimento canalár, antes da esfoliação.

Em endodontia, não se realizam apenas pulpectomias, mas também pulpotomias e, neste campo, é muito importante perceber a citotoxicidade dos materiais a utilizar. Assim, Al-Haj Ali (2016) comparou a viabilidade celular em fibroblastos do ligamento periodontal humano, quando expostos a MTA cinzento (por ser menos citotóxico do que o branco), formocresol a 20%, solução de sulfato férrico a 15,5% e extrato etanólico de própolis a 10%. O extrato (numa concentração de 0,005 µg/mL, 0,05 µg/mL e 0,5 µg/mL) teve resultados semelhantes aos do MTA para as mesmas concentrações, e quase

comparáveis com os do grupo controle. As outras duas substâncias mostraram-se mais citotóxicas; porém, foi transversal a todos, uma diminuição da viabilidade celular, consoante o incremento de concentração dos materiais. O autor acredita que o própolis pode vir a ter mais destaque neste tipo de tratamentos, tendo em conta a similitude com o MTA, exceto no preço, sendo consideravelmente mais acessível.

Ozório *et al.* (2012) compararam o hidróxido de cálcio com o extrato de própolis e com a mistura de ambos, numa proporção de 1:1, como protetores pulparem na pulpotomia de 36 dentes decíduos de porcos. No dia 7, o grupo do extrato e o da mistura de pastas revelaram ser potentes anti-inflamatórios, ganhando pontos ao grupo do hidróxido de cálcio. No entanto, este último formou uma dura ponte dentinária mais rapidamente (dia 21) do que os outros dois (dia 42). Pela altura do fim do estudo, no dia 42, não se descobriram diferenças entre qualquer um dos grupos.

No entanto, há quem discorde de o própolis ser uma boa opção. Kusun, Rakesh e Richa (2015) fundamentam a sua opinião nos resultados por si obtidos, ao compararem a aplicação direta de MTA, com a de Biodentine e a de pó de própolis a 100% misturado em polietilenoglicol na polpa, seguidos de óxido de zinco eugenol e CIV, *in vivo*, em 90 dentes decíduos. Aos 9 meses, o sucesso clínico para cada material foi de 100%, 100% e 84%, respetivamente. Já para o sucesso radiológico, em que não era possível observar qualquer tipo de alteração nefasta, as percentagens rondaram os 68, 56 e 72%, respetivamente. Apesar de parecer uma boa percentagem, uma avaliação mais pormenorizada revelou que a percentagem para as alterações internas mínimas foi de 20% para o MTA e 16% para o Biodentine e a percentagem para as alterações realmente patológicas, observadas na radiografia, foi de 28% para o própolis. Adicionalmente, o MTA e o Biodentine tiveram apenas em 4% dos casos reabsorção interna, sem perfuração, e o própolis, 12%, ao passo que, para a reabsorção externa, os valores foram 4, 8 e 12%, respetivamente. Por fim, ainda repararam que a destruição de osso periapical foi de 4% para o MTA e Biodentine e de alarmantes 48% para o própolis.

3.2.4 Medicina dentária preventiva e comunitária

Morawiec *et al.* (2013) apuraram que, a partir de 16 pacientes, divididos por dois grupos, que usaram a pasta dentífrica, com e sem extrato de própolis, em ambos, os valores dos índices que avaliavam a quantidade de placa e de tártaro diminuíram, admitindo só ser significativo no grupo que utilizou a pasta modificada. Todavia, arguiram ser a instrução das técnicas corretas e a dedicação dos participantes aquando da escovagem dos dentes, no decorrer do estudo, um fator preponderante no desaparecimento da placa e do tártaro dentários. Murray (1997) não partilhou da mesma opinião, pois concluiu que a placa dentária não sofria alterações expressivas, quando exposta ao própolis, sendo desprezível a diferença comparada com o grupo de controlo (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Em conformidade com os dados recolhidos num questionário, a pasta dentífrica alterada com própolis fica sempre aquém da pasta normal, dando mais ênfase na cor, na espuma (Morawiec *et al.*, 2013; Machorowska-Pieniążek *et al.*, 2016) e no sabor (Tanasiewicz *et al.*, 2012; Machorowska-Pieniążek *et al.*, 2016), pois foram os parâmetros pior classificados (Morawiec *et al.*, 2013). Seis pacientes do estudo de Machorowska-Pieniążek *et al.*, 2016 também mostraram descontentamento com a descoloração da escova de dentes, decorrente da utilização de pasta com própolis.

Peker, Akca, Sarikir, Alkurt e Celik (2014) decidiram testar algumas soluções para a desinfecção de 280 escovas de dentes que tinham sido previamente expostas a bactérias. Para *Lactobacillus rhamnosus*, as escovas sujeitas a micro-ondas foram as que obtiveram melhores resultados, seguidas dos grupos 100% de vinagre de vinho branco, 1% de NaOCl, 50% de vinagre de vinho branco, luz ultra-violeta e colutório com própolis. Mergulhar as escovas em 100% de vinagre de vinho branco também se revelou como o melhor método contra *S. mutans* e *S. aureus*, ao passo que contra *E. coli* foi o melhor foi 1% de NaOCl. Embora tenham sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controlo e o grupo do colutório com própolis, constatou-se que este foi o método mais fraco na eliminação de bactérias e, consequentemente, de desinfecção das escovas de dentes.

Ercan, Erdemir, Ozkan e Hendek (2015) compararam a eficácia entre veículos diferentes de própolis, colutório ou pastilha, em 10 pessoas que se abstiveram de escovar os dentes durante 5 dias. Tanto para o índice de placa como para o gengival, foram encontrados valores mais elevados no grupo da pastilha, o que se pode explicar pelo facto de a libertação de própolis ser mais lenta e demorar mais tempo do que o período estipulado neste estudo para a mastigação das pastilhas.

No campo dos vernizes, De Luca *et al.* (2014) promoveram testes antimicrobianos, citotóxicos e de libertação de substância ativa em vernizes de quitosano e própolis. As diferentes concentrações deste verniz e o extrato etanólico de própolis puro inibiram *S. mutans*, *S. sanguinis*, *S. salivarius* e *L. casei*, sem variações significativas entre cada grupo, o que significa que a incorporação no quitosano não alterou a capacidade antimicrobiana do própolis. O quitosano apenas e a clorexidina não obtiveram uma área de inibição tão grande como os grupos com própolis. A citotoxicidade revelou ser de 0% para o quitosano e de 20% para os vernizes de quitosano e própolis, demonstrando estar de acordo com as normas ISO 10993-5. Já na libertação prolongada, quase 100% de quercitina foi libertada em 24h no extrato puro. O verniz com concentração de 5% libertou 10% de quercitina, mas só a partir das 8h e terminando após 24h. O verniz com concentração de 10% libertou 30% de quercitina, só a partir das 2h, parando 7h depois e recomeçando outras 72h volvidas, estabilizando até 3 semanas decorridas. O verniz de concentração de 15% libertou 20% de quercitina, até às 8h, interrompendo até às 24h e retomando durante 8 semanas, permitindo uma libertação mais constante, que asseguraria uma atividade antimicrobiana eficaz e prolongada, quando aplicado clinicamente – características relevantes para o controlo do biofilme.

No que toca a hemorragia, o grupo que utilizou pasta com própolis beneficiou muito mais do que o de controlo, posto que houve uma total eliminação de hemorragia à sondagem (Morawiec *et al.*, 2013). Este resultado está de acordo com o Machorowska-Pieniżek *et al.* (2013), pois a hemorragia diminuiu drasticamente apenas no grupo em análise, não no de controlo. Por outro lado, Tanasiewicz *et al.* (2012) concluíram que não houve uma melhoria estatisticamente significativa na hemorragia, no grupo que usufruiu da pasta com própolis, mas sim no grupo que utilizou o análogo em gel, dando a entender que é um melhor veículo.

Morawiec *et al.* (2013) descreveram que Dodwad e Jha Kukreja (2001) aferiram que em 5 dias, em participantes que interromperam a escovagem dos dentes, o índice de placa subiu 68% com o própolis e 16% com a clorexidina, já no índice hemorrágico obtiveram 7% e 9%, respectivamente. Como resultado, o própolis mostrou ser mais fraco que a clorexidina na eliminação de placa, mas mais forte na supressão de hemorragia. Özan *et al.* (2007) e Arslan *et al.* (2012) dizem não ser tão eficaz quanto a clorexidina, embora seja significativamente mais proveitoso por não ter nenhuma medida preventiva (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Sales-Peres *et al.* (2011) comprovaram que o própolis tem a capacidade de diminuir a permeabilidade dentinária e, conseqüentemente, a sua sensibilidade, por se infiltrar moderadamente nos túbulos dentinários, selando-os (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013). A hipersensibilidade dentinária afeta, dependendo dos estudos, de 9-30% a 50% da população adulta, escalando para 100% dos pacientes com periodontite, que em algum momento da sua doença a referem (Torwane *et al.* 2013). Já Purra, Mushtaq, Acharva e Saraswati (2014) avançam que atinge apenas 15% da população mundial, sendo, apesar de tudo, um número suficientemente elevado para justificar a procura de um método mais eficaz de tratamento.

Conseqüentemente, Purra *et al.* (2014) ao analisarem 10 doentes com 154 dentes com hipersensibilidade, depararam-se com repercussões positivas em relação ao própolis, aplicado com um *micro-brush*; provou ser mais favorável do que o Nitrato de Potássio (KNO₃), sendo que, logo após os primeiros 5 minutos, a hipersensibilidade foi aliviada e, após 3 meses, esta se encontrava ainda mais reduzida, em muitos casos sem qualquer sensibilidade à água fria. Como teoria, supõe-se que o alívio imediato seja devido à capacidade de penetrar nos túbulos, impedindo o normal fluxo dentinário, e, a longo prazo, como consequência da estabilidade dos depósitos formados.

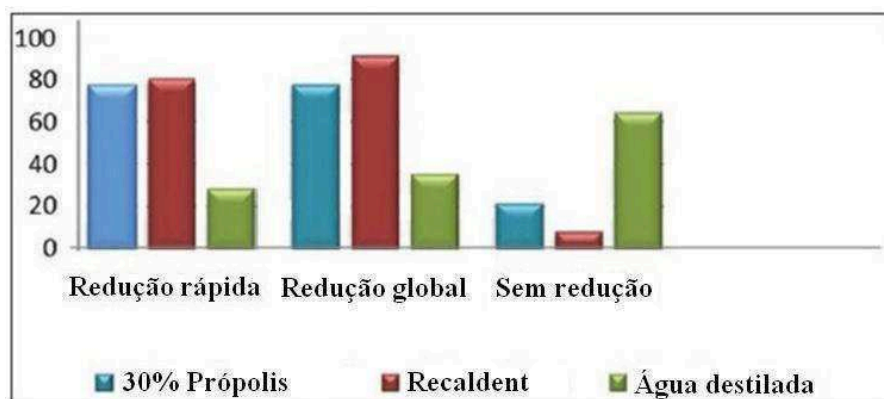


Fig. 12 – Diminuição percentual da hipersensibilidade à sondagem e jatos de água. (Adaptado de Torwane *et al.*, 2013)

Torwane *et al.* (2013) aferiram que há uma diferença entre a eficácia do extrato de própolis a 30% e de Recaldent™, após uma dupla avaliação, recorrendo à sondagem e a jatos de água, tal como representa o gráfico da Fig. 12. A dessensibilização por parte do Recaldent™ atingiu 92% dos dentes em questão, o extrato 78% e a água destilada ficou-se pelos 35,4%. À semelhança da eficácia, a velocidade de ação na rápida redução de hipersensibilidade também foi diferente entre ambos, sendo 78% para o extrato e 81% para o Recaldent™. Torwane *et al.* (2013) acreditam que este facto se deve aos flavonoides, por bloquearem os túbulos e promoverem a ligação de metais pesados aos radicais livres, que iriam despoletar a inflamação e, por sua vez, a dor.

Hongal, Torwane, Goele e Chandrashekar (2014) revelaram microscopicamente (Fig. 13) a cobertura da dentina de 30 dentes extraídos com extrato de própolis a 30% e com *GC tooth mousse*. Quando confrontados os resultados, constataram que a camada de extrato era de apenas 1 µm de espessura, contra os 2-3 µm do outro produto. A superfície era regular e homogênea, ao contrário da aparência granular da outra, e via-se maior quantidade de túbulos parcialmente tapados e de túbulos completamente desobstruídos e, portanto, menos túbulos totalmente obstruídos. Portanto, concluíram que ambos reduzem a hipersensibilidade mas por meios diferentes: o *GC tooth mousse* ocluiu os túbulos por depositar cristais no lúmen dos túbulos e o própolis por criar uma fina camada na superfície da dentina.

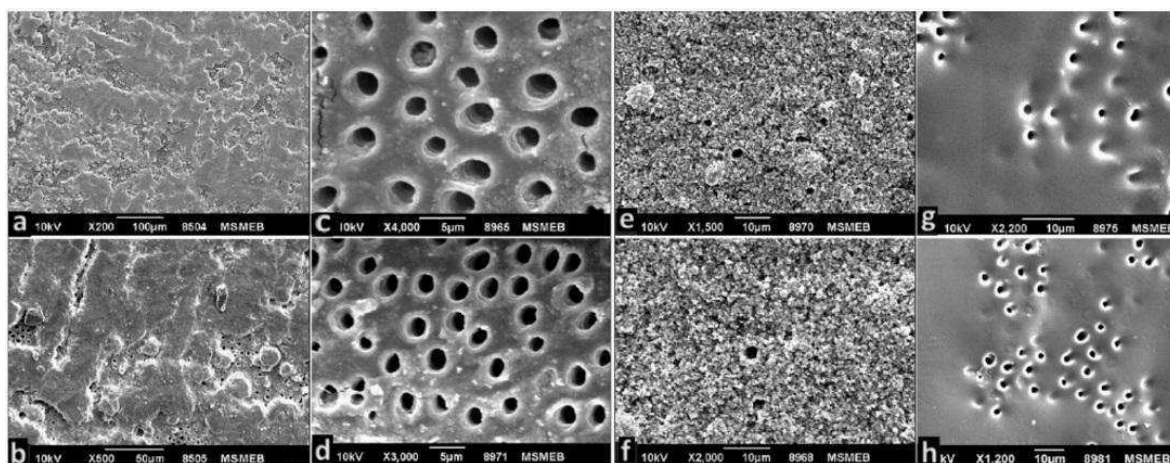


Fig. 13 – (a) Superfície dentinária não tratada; (b) Superfície com *smear-layer*; (c e d) Superfície tratada com ácido cítrico a 6%; (e e f) Superfície tratada com *GC tooth mousse*; (g e h) Superfície tratada com extrato de própolis a 30% (a-x200; b-x500; c-x4000; d-x3000; e-x1500; f-x2000; g-x2200; h-x1200). (Adaptado de Hongal *et al.*, 2014)

Ainda referente à hipersensibilidade e à dor, mas desta vez desencadada em 41 pacientes, pelos branqueamentos dentários, Hussain, Dannan, Al-Ahmad e Al-Aswad (2016) alegam ser benéfico esfregar própolis nas coroas dos dentes, após este procedimento. Baseiam-se no facto de o grupo controlo ter apresentado dor intensa em 44,4% dos pacientes e de no grupo com própolis ser apenas 21,7%. Adicionalmente, decorridas 24h, 100% dos pacientes não apresentaram qualquer nível de dor contra os 77,7% do grupo controlo.

A halitose é um problema que pode ter várias origens, sendo uma delas a existência de subprodutos bacterianos, e é avaliada pela quantificação dos compostos sulfurosos voláteis. Os principais responsáveis são a *Prevotella intermedia*, a *Porphyromonas endodontalis* e a *Eubacterium*. Tanto no estudo conduzido por Sterer e Rubinstein (2006) como no de Barack e Katz (2012), a resina das abelhas demonstrou reduzir o mau hálito. Apesar de tudo não é tão eficaz como produtos feitos à base de echinacea, lavanda ou zinco (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Kim, Kang e Park (2014) destacaram o sulfeto de hidrogénio, de dimetilo e o mercaptano, pois perfazem cerca de 90% dos compostos sulfurosos voláteis. Em 60 pessoas, que fizeram 2 bochechos diários durante 3 meses, perceberam que os níveis de sulfeto de hidrogénio baixaram 97,1% com o colutório com própolis, contra os 96,14% com Listerine Zero®. A concentração de mercaptano decresceu 92,61% e 98,46% e a de

sulfeto de dimetilo 90,63% e 93,54%, com os mesmos grupos, respetivamente. Em nenhuma destas avaliações, os resultados diferiram uns dos outros significativamente.

3.2.5 Ortodontia

Uma experiência em que se realizaram osteotomias nos ossos parietais de 63 ratos, revelou haver uma diferença na regeneração óssea e cicatrização fibrótica, entre o grupo controlo, o grupo em que diariamente se administrava uma injeção intraperitoneal de CAPE (10 μ mol/kg) e o grupo que se sujeitava à mesma injeção, que, adicionalmente, tinha um substituto de enxerto ósseo de fosfato B-tricálcio / hidroxiapatita (Uçan *et al.* 2013). Tanto no 7.º dia, como no 15.º após a cirurgia, não ocorreram diferenças, mas no 30.º dia, o grupo controlo revelou-se muito mais atrasado no processo de regeneração, porém sem alterações significativas entre os outros dois grupos. O aumento da velocidade de regeneração deve-se provavelmente, segundo os autores, à capacidade de eliminação de radicais livres e à propriedade anti-oxidante do CAPE, inibindo a inflamação, tão prejudicial à formação de novo tecido.

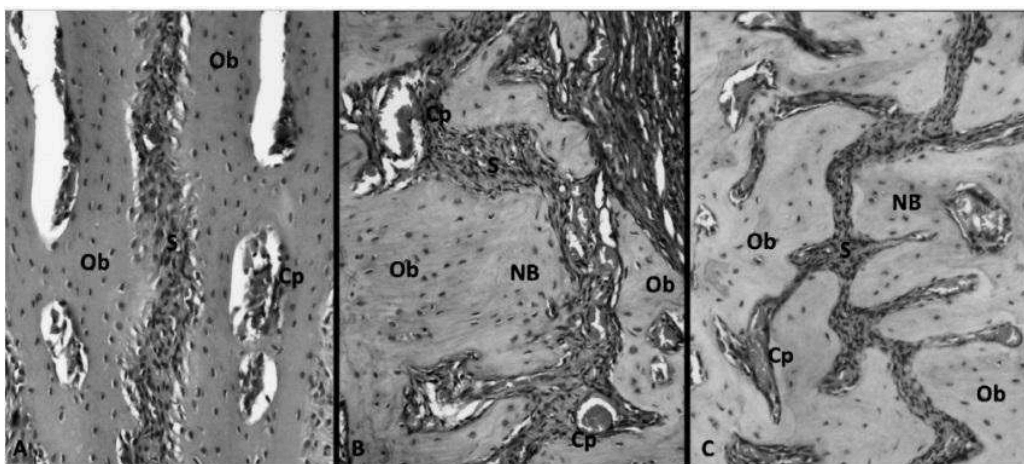


Fig. 14 – (A) Grupo controlo, sem expansão; (B) Grupo com expansão convencional; (C) Grupo com expansão e própolis. Ob - osteoblastos; NB – osso neoformado; Cp - capilares; S - sutura palatina (x200). (Adaptado de Altan *et al.*, 2013)

Aplicando este conhecimento à ortodontia, Altan *et al.* (2013) descobriram que a proliferação de osteoblastos, num processo de rápida expansão maxilar, através da

sutura, se encontrou acelerada, quando administrada sistemicamente pela cavidade oral, uma solução de própolis (100 mg/kg) aos 24 ratos em estudo. Como se observa na Fig. 14, a formação de osso foi significativamente mais evidente neste grupo, do que no de expansão convencional ou que no de controlo. Devido ao elevado turnover foram encontrados mais osteoclastos, irrigação sanguínea e células inflamatórias, que no caso da expansão convencional.

À semelhança deste estudo, também Kazancioglu *et al.* (2015) se valeram de 20 ratos para porem em prática o processo de rápida expansão mandibular, mas administrando CAPE numa concentração de 10 mmol/kg por dia, com injeções intraperitoneais. Da mesma forma, concluíram que o grupo com CAPE despoletou uma osteogénese mais rápida do que o grupo controlo, sendo a área de expansão 155,39 μm^2 e 132,24 μm^2 , respetivamente, o que corresponde a um aumento de 5,06% por parte do CAPE em relação ao controlo, como mostra a Fig. 15.

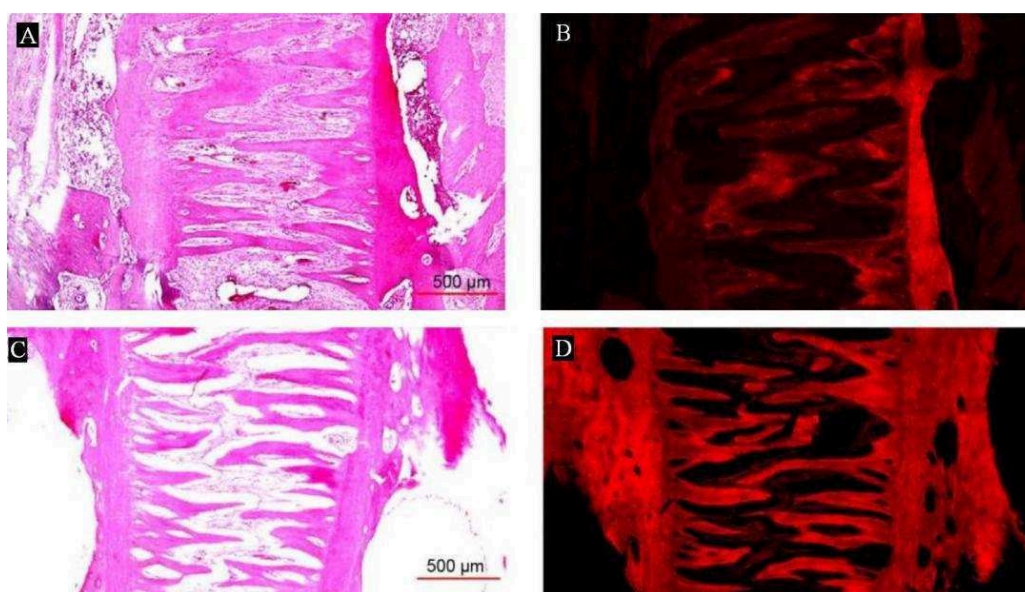


Fig. 15 – Secção na área de expansão no grupo com CAPE (A) e controlo (C), mostrando mais osso trabecular (x40). Análise de imunofluorescência dos tecidos no grupo com CAPE (B) e controlo (D). (Adaptado de Kazancioglu *et al.*, 2015)

Hatunoğlu, Oztürk, Bilenler, Aksakallı e Simşek (2014) usaram 80 dentes e constataram que contra *S. mutans*, os valores de MIC variaram, dependendo do grupo, demonstrando que a incorporação de maiores concentrações de extrato etanólico de própolis no CIV aumentava a capacidade antibacteriana do mesmo. Paralelamente, repararam que não apenas potenciava a ação do CIV, como, separadamente, o própolis puro era mais eficaz

do que o CIV. No entanto, os resultados dos testes mecânicos não foram tão promissores, porque, apesar do CIV com própolis a 50% e a 25% terem melhorado a adesão dos brackets ao esmalte (1,6 e 1,7 MPa, respetivamente), em relação ao CIV com própolis a 10% e ao CIV apenas, estatisticamente, não foi significativo. Prabhakar *et al.*, (2016) chegaram a conclusões idênticas, ao utilizar o CIV como material restaurador, percebendo que o própolis amplificava a distribuição de flúor, mas não influenciava a adesão.

Sabe-se que a higiene oral em pacientes com aparelhos ortodônticos, especialmente os fixos, é mais difícil de manter. Com base nisso, num estudo em que se avaliou a existência de placa dentária junto à base de brackets de 41 pacientes, constatou-se que após a utilização de pasta enriquecida com extrato etanólico de própolis, este viu diminuir significativamente os valores de placa circundante à base dos brackets. E quando comparados com os valores do grupo de controlo, aperceberam-se de que eram notoriamente superiores. No entanto, os resultados quantitativos da placa dentária, distante dos brackets, não se modificaram substancialmente entre os grupos apesar de, ao longo do tempo, o índice gengival ter caído com a utilização do própolis (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013).

Mais tarde, quiseram voltar a testar e confirmar qual o efeito da utilização de uma pasta dentífrica enriquecida com extrato de própolis a 3%, recorrendo a 85 pacientes. Assim, verificaram que no grupo do própolis, tanto os pacientes com aparelhos fixos como removíveis, os valores do índice de placa e gengival decresceram, na avaliação decorrida após 5 semanas, comparando com a avaliação inicial. Identificaram também que o tipo de aparelho em questão não afetou a quantidade final de placa dentária e a inflamação gengival no grupo do própolis regrediu (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2016).

3.2.6 Patologia oral

O cancro da cabeça e pescoço aparece como sendo o 6.º mais comum a nível mundial. Tendo em conta este facto, estudou-se o efeito do flavonoide CAPE, nas células orais cancerígenas, obtendo-se a supressão da proliferação, sobrevivência e metástases destas células, de um modo dose-dependente e cumulativo. Como mecanismo de ação, o CAPE inibe o complexo proteico NF- κ B, em concentrações mais elevadas, ao contrário do que acontece quando as concentrações são leves, pois estimula este complexo. Paralelamente, também desregula o ciclo celular, incitando uma proteína inibitória do ciclo celular e inibindo outras que o despoletavam, e para uma concentração ainda mais elevada do que para o caso anterior, pode passar a ser um poderoso fator desencadeante de apoptose de células malignas. Apurou-se, ainda, que o CAPE é benéfico no tratamento de cancros com Fluorouracila, ao apresentar um poder aditivo como um adjuvante na supressão, possibilitando dosagens significativamente menores e redução de efeitos secundários antes obtidos (Kuo *et al.*, 2013).

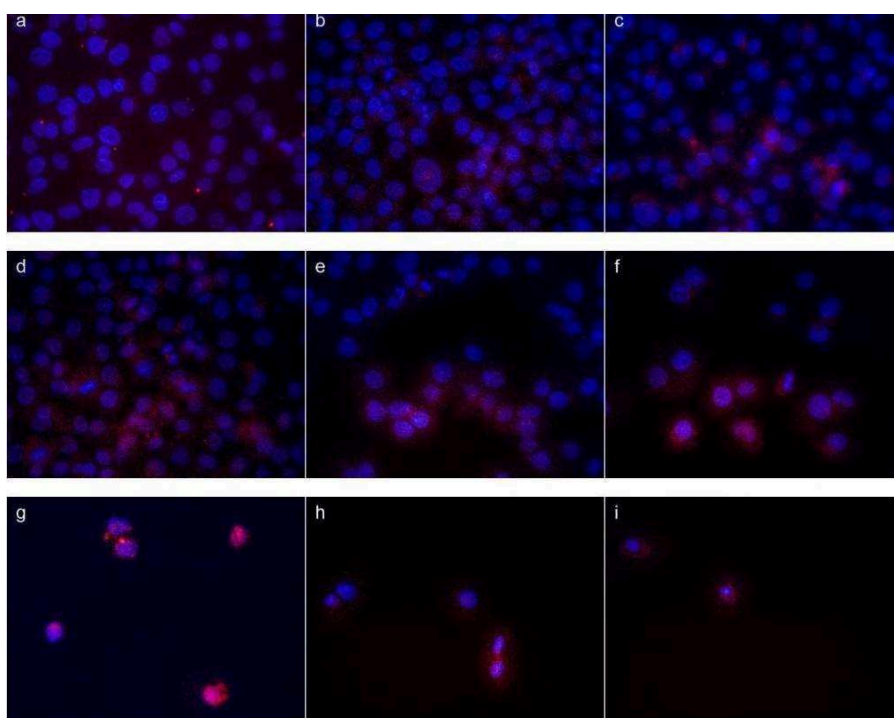


Fig. 16 – Apoptose induzida pelas caspases 3, 8 e 9, em células CAL-27, tratadas durante 24h com extrato etanólico de própolis a 200 μ g/ml (a, b, c), com mistura de polifenóis a 12,5 μ g/ml (d, e, f) e a 25 μ g/ml (g, h, i). (Adaptado de Czyżewska *et al.*, 2016)

O extrato etanólico de própolis também pode ser considerado como um quimiopreventivo, ou seja, pode reduzir o risco de ocorrência, atrasar o desenvolvimento ou ainda o reaparecimento de cancro. Para suportar esta afirmação, os dados de um estudo (Czyżewska *et al.*, 2016) afirmam que, em detrimento do extrato de própolis ou dos seus componentes químicos separados, a mistura de polifenóis (crisina, galangina, pinocembrina, ácido cafeico, cumárico e ferúlico) demonstrou ser o agente inibitório mais eficaz no crescimento das células da linha celular do carcinoma espinocelular duma língua humana. Tal facto, sugere que a sinergia dos efeitos dos polifenóis seja a responsável pela característica citotóxica de um modo concentração-dependente e, porventura, também dependente do número total de grupos hidroxilo, e assim confirmando o resultado da galangina ser o componente isolado com mais potencial. A par da competência na inibição celular, a capacidade de apoptose em células cancerígenas foi observada no extrato de própolis, nos componentes químicos separados e, em especial na mistura de polifenóis, retratado na Fig. 16. O processo de apoptose foi induzido pela sinalização das caspases 3, 8 e 9, o que significa que tanto a via intrínseca (mitocondrial) como a extrínseca (recetor de morte) foram ativadas.

Eslami *et al.* (2016) aplicaram um questionário a 72 doentes com leucemia e dividiram-nos por 3 grupos, que desde o início da quimioterapia fizeram 3 bochechos diários com as seguintes misturas: controlo - clorexidina e Fluconazol; própolis - com a mesma mistura e extrato aquoso de própolis; e Hypozalix - com a mesma mistura e este substituto salivar. Então, após 14 dias, 50%, 50% e 95,8% dos pacientes, nos grupos controlo, própolis e Hypozalix, respetivamente, mostraram sinais de atenuação da xerostomia. 16,67%, 25% e 62,5% dos pacientes para os mesmos grupos, dormiam sem acordar e, conseqüentemente, 8,33%, 25% e 91,67% sentiram diminuir a sensação de queimadura. Por estas razões, 62,5%, 62,5% e 95,8% dos pacientes sentiram-se mais confortáveis.

A mucosite oral é uma consequência comum da terapia (químico e radioterapia) de cancros, especialmente se forem localizados na área da cabeça e pescoço. Como tal, Akhavan-Karbassi *et al.* (2016) decidiram investigar quais os efeitos de sujeitar estes pacientes, tratados com quimioterapia, a um teste com bochechos de própolis. Assim sendo, constatou-se uma redução significativa da mucosite e, simultaneamente, de ferida e eritema no grupo que usou o desinfetante bucal. No entanto, este grupo mostrou resultados semelhantes aos do grupo de controlo, relativamente à habilidade de comer e

beber, sem grandes benefícios, o que pode ser explicado pelas diferentes terapias químicas empregadas.

Eslami *et al.* (2016), após 14 dias do início da quimioterapia, perceberam que 29,17%, 87,5% e 70,83% dos 72 pacientes nos grupos controle, própolis e Hypozalix, respectivamente, não tiveram dificuldade mastigatória e que 33,3%, 63,3% e 87,5% dos pacientes, para os mesmos grupos, engoliam sem sacrifício. Após 10 dias do início do tratamento, constataram que 25%, 33,3% e 50% dos pacientes nos mesmos grupos, ficaram livres de mucosite. Os pacientes presentes neste estudo também foram inquiridos sobre se teriam interesse em continuar o tratamento e, 33,3%, no grupo controle, 58,3% no grupo do própolis e 91,6% no grupo do Hypozalix responderam que sim.

Javadzadeh Bolouri *et al.* (2015) analisaram que em mucosite derivada da radioterapia, em 20 doentes que bochecharam com uma solução salina ou com extrato aquoso de própolis a 3%, durante 5 semanas, este último diminuiu drasticamente a gravidade dos casos de mucosite, como retratado na Fig. 17, ou aboliu mesmo a mucosite, em 8 dos 10 pacientes.

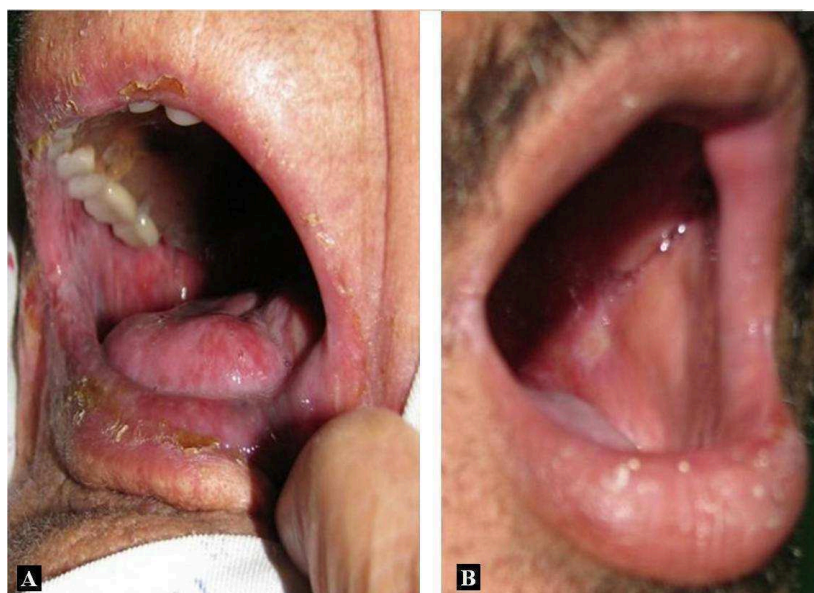


Fig. 17 – Gravidade da mucosite em doentes sujeitos a radioterapia, após 4 semanas do início dos bochechos com (A) uma solução salina ou com (B) extrato aquoso de própolis a 3%. (Adaptado de Javadzadeh Bolouri *et al.* 2015)

Tendo em conta a elevada incidência de candidíase, Szweda *et al.* (2015) decidiram investigar a eficácia de diferentes métodos antifúngicos em *Candida albicans*, *Candida*

glabrata e *Candida krusei* resistentes a Fluconazol. Um deles, o própolis, confirmou alta atividade fungicida contra 48 estirpes destes fungos, dependendo da amostra de própolis utilizada, pois eliminou 25 dessas estirpes com uma MFC baixa. *C. glabrata* e especialmente *C. krusei* apresentaram maior resistência à ação dos componentes do própolis, em comparação com *C. albicans*; ainda assim, o própolis ultrapassa o Fluconazol, na medida em que, para MFC mais elevados, foi fungicida em relação a todas as estirpes.

Estomatite aftosa é uma patologia cuja etiologia ainda não está claramente explicada; como tal, o tratamento adequado é difícil de obter. A resina das abelhas é utilizada para melhorar as condições de vida dos doentes portadores desta doença, já que reduz a frequência e recorrência desta doença (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

3.2.7 Periodontologia

A acumulação de placa dentária por cima e por baixo da gengiva dá azo à gênese inflamatória em tecidos periodontais/perimplantares, conduzindo à sua destruição por perda óssea alveolar e por perda de inserção. Uma vez que associado a este processo se encontram microrganismos, progredir face à diminuição e/ou eliminação de bactérias (particularmente a *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola* e em segunda linha *P. intermedia* e *Fusobacterium nucleatum*) é um método a ser estudado nas mais variadas vertentes, com o intuito de aprimorar a higiene oral e, por conseguinte, diminuir a incidência e a prevalência características desta doença (Morawiec *et al.*, 2013; citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Através da avaliação quantitativa de bactérias presentes no sulco gengival de 32 pacientes que fizeram parte de um estudo realizado por Skaba *et al.* (2013), registou-se que o número de microrganismos era inferior nos pacientes que utilizaram pasta dentífrica enriquecida com própolis, em detrimento dos pacientes que usaram a pasta análoga sem própolis. Este decréscimo indicou ser tempo-dependente para uma concentração de 50 mg/L, afetando claramente leveduras, bactérias Gram-positivas

como: *S. aureus*, *S. sanguinis*; Gram-negativos como: *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycescomitans*; fungos como: *C. albicans*.

Outros autores (Machorowska-Pieniżek *et al.*, 2013) constataram que o grupo que usou a pasta com própolis viu diminuir o nível de *Actinomyces spp.*, *Actinomyces israelii* e *Capnocytophaga spp.*. E no outro grupo (controle), *A. israelii* reduziu, dando espaço ao desenvolvimento de mais *Actinomyces spp.*, considerável patógeno para o periodonto. Quanto à *C. albicans* não houve qualquer alteração.

Por sua vez, há quem defenda resultados microbiológicos diferentes, referindo-se igualmente a grupos de teste com e sem pasta enriquecida com própolis. Em pacientes que não tenham uma higiene oral adequada ou que possuam pequenos problemas, a pasta modificada demonstrou ser um impulsionador da higiene oral, ao passo que em pacientes portadores de periodontite não houve melhorias estatisticamente significativas (Tanasiewicz *et al.*, 2012).

Mas, os investigadores não se ficaram pela pasta modificada, e, como tal, Bruschi *et al.* (2007) optaram por colocar um gel hidrofílico e mucoadesivo para libertação de própolis nas bolsas periodontais, sendo benéfico para o tratamento da periodontite (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013). Num estudo realizado por Sanghani, Bm. e S. (2014), 40 localizações foram tratadas com alisamento radicular, das quais 20 incorporaram o grupo experimental, de própolis em gel, colocado subgingivalmente. Verificou-se sinergia entre o própolis e o alisamento, na medida em que o grupo do própolis apresentou resultados mais benéficos do que o grupo controle, no que toca a índice gengival, hemorragia, profundidade à sondagem e inserção clínica. Apesar de o alisamento radicular ser um bom meio de eliminação das bactérias *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *F. nucleatum*, quando confrontadas também com a presença de própolis, o número de colónias diminuiu ainda mais.

Coutinho (2012) analisou irrigantes subgingivais com própolis (3 mL por dente) que chegaram a ser considerados mais eficazes que a curetagem ou o alisamento radicular. Neste estudo com 20 pessoas, a quantidade de sítios com baixos níveis de bactérias, e em especial de *P. gingivalis* ($\leq 10^5$ cfu/mL), aumentou ao longo das várias avaliações, diminuindo as localizações com grandes quantidades de bactérias, sendo a última passadas 8 semanas da irrigação subgingival, o que quer dizer que o efeito do própolis é de longa duração. Da mesma forma, os sítios com hemorragia à sondagem diminuíram e

as bolsas com profundidades entre 5 e 8 mm reduziram para ≤ 3 mm, em 6 semanas. Em qualquer destes parâmetros, o grupo do própolis destacou-se do grupo com irrigação etanólica e do grupo controlo. Por esta razão, Coutinho (2012) concluiu que a irrigação com extratos de própolis é benéfica, pois estes devem ser adjuvantes no tratamento convencional do alisamento radicular.

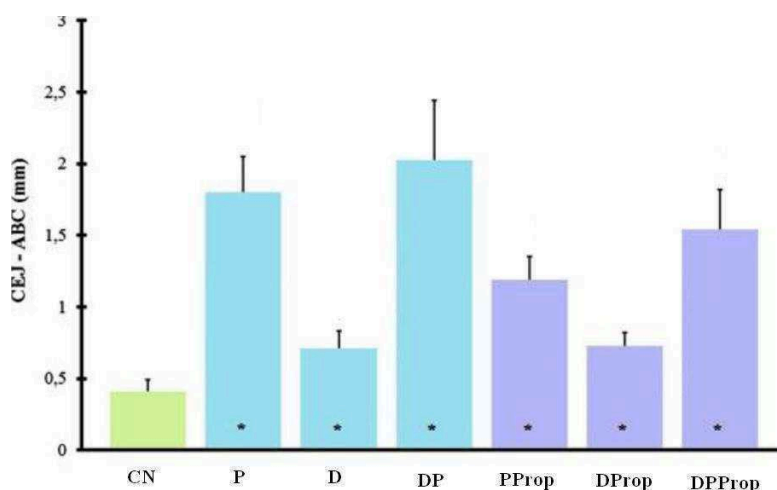


Fig. 18 – Medições entre a Junção Cimento-Esmalte e a Crista Óssea Alveolar (CEJ-ABC). Grupos: controlo negativo (CN); diabetes (P); diabetes + periodontite (DP); periodontite + própolis (PProp); diabetes + própolis (DProp); diabetes + periodontite + própolis (DPProp). (Adaptado de Aral *et al.*, 2015)

Aral *et al.* (2015) analisaram o nível ósseo alveolar, em 56 ratos, e constataram que o grupo de controlo negativo não sofreu perda óssea, ao contrário de todos os outros grupos. O grupo diabetes + periodontite apresentou maior perda óssea, quando comparado com o grupo diabetes ou com o grupo periodontite, o que quer dizer que a coexistência das duas doenças provoca uma perda óssea maior do que quando ocorrem isoladamente. Quando introduzido o própolis, no grupo periodontite, a perda óssea foi significativamente atenuada e o mesmo aconteceu quando se adicionou ao grupo diabetes + periodontite. Contrariamente, não houve grandes alterações entre os grupos diabetes e diabetes + própolis. A Fig. 18 mostra a perda óssea de cada grupo.

Num estudo com 50 pessoas que tinham diabetes mellitus tipo 2 e periodontite, El-Sharkawy, Anees e Dyke (2016) dividiram-nos em dois grupos: um controlo, em que davam um placebo e fizeram alisamento radicular e outro, em que tomavam cápsulas de 400g de própolis, para além do alisamento radicular. As cápsulas com os dois conteúdos foram ingeridas diariamente e os pacientes avaliados após 3 e 6 meses do alisamento. Constataram que, no grupo experimental, a inserção clínica melhorou e a profundidade

das bolsas, o índice de placa, o índice gengival e a hemorragia diminuíram, comparando com o grupo controle. Da mesma forma, teve um impacto positivo nos níveis séricos de hemoglobina glicada, glucose em jejum e Nε-(carboximetil) lisina, o que confirma que o própolis tem uma ação antidiabética.

Outra preocupação dos profissionais de saúde é a resistência de bactérias adquirida a certos antibióticos. Shabbir, Rashid e Tipu (2016) analisaram a MIC de Tetraciclina, Metronidazol, Amoxicilina com ácido clavulânico e extrato etanólico de própolis a 15 e 30% contra bactérias anaeróbias patogênicas para o periodonto. *Porphyromonas asaccharolytica* e *Prevotella melaninogenica* demonstraram uma resistência intermédia à ação de Tetraciclina, ao passo que 69,2% de *P. gingivalis* e 100% de *P. intermedia* indicaram resistência completa. Por outro lado, nenhum destes microrganismos manifestou resistência ao própolis ou aos outros medicamentos. A sinergia entre os diversos componentes do própolis parece ser o fator mais importante na atividade antibacteriana, não havendo, segundo Shabbir *et al.* (2016), nenhum relato documentado de resistência ao própolis.

Num estudo em que se induziu gengivite em 21 pares de gémeos, dividiram-se os irmãos por dois grupos: um que, durante 21 dias, fazia dois bochechos com colutório com própolis a 2% e outro cuja solução utilizada era 0,05% de fluoreto de sódio + 0,05% de cloreto de cetilpiridínio. No que diz respeito à vermelhidão e à hemorragia nas papilas interdentárias, não se aferiram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Bretz Bretz, Paulino, Nör e Moreira (2014) concluíram que os resultados dos bochechos com colutório, com 2% de própolis, se equipararam com o grupo de controle positivo, mostrando-se, assim, promissor.

3.2.8 Reabilitação oral

Estomatite protética tem algumas causas e dentro delas destaca-se a presença de *C. albicans*. Diversos estudos foram realizados, de modo a analisar a longevidade das colónias de *Candida* na presença de própolis, com muitos autores a adotarem uma

posição em defesa do uso do mesmo (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013), como previamente referido (Niedzielska *et al.*, 2016).

Também já citada foi a posição de Morawiec *et al.* (2015) que alegam não terem sentido diferenças quanto à presença de *Candida* no seu estudo. Silva *et al.* (2008) assumem uma posição semelhante, na medida em que afirmam que a presença de um gel de própolis, no tratamento da estomatite, é danosa para as próteses acrílicas, tornando a sua superfície rugosa e mais propensa à adesão de microrganismos (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Sendo um tema em que não existe consenso, Karakis *et al.* (2016) defende que o extrato etanólico de própolis tem a capacidade de restringir a adesão de *Candida* à superfície de próteses acrílicas (72 pedaços foram alisados), quer polidas quer rugosas; uma vez aderida, não tem a mesma competência de a eliminar completamente, tal como o hipoclorito de sódio e o gluconato de clorexidina a 4%.

Yildirim-Bicer, Peker, Akca e Celik (2014) expuseram *Candida* a 160 amostras de resina acrílica de dois tipos: uma menos rugosa – resina activada termicamente – e outra mais rugosa – resina autopolimerizável. Posteriormente, usaram diferentes métodos para desinfetar próteses e chegaram à conclusão de que, em amostras de resina activada termicamente, a eficácia contra este fungo descrescia pela seguinte ordem: 100% de vinagre de vinho branco > 50% de vinagre de vinho branco > microondas > Corega Tabs > luz ultravioleta > colutório com própolis > 1% de hipoclorito de sódio > controlo. Não se verificaram muitas alterações na ordem de eficácia, em resinas autopolimerizáveis, obtendo-se: 100% de vinagre de vinho branco > 1% de hipoclorito de sódio > microondas > 50% de vinagre de vinho branco > Corega Tabs > luz ultravioleta > colutório com própolis > controlo. Portanto, apesar de Yildirim-Bicer *et al.* (2014) terem encontrado uma diferença estatisticamente significativa entre o colutório com própolis e o controlo, este método foi o menos eficaz contra a *C. albicans*, neste estudo.

3.2.9 Outras aplicações

No caso de avulsão dentária, existem diversos meios de transporte para o dente se manter nas melhores condições possíveis, até ser reimplantado. Özan *et al.* (2007) defendem que a resina das abelhas é mais benéfica que o leite ou que uma solução salina. Não obstante, Gulinelli *et al.* (2008) averiguaram que não havia diferença significativa no armazenamento de dentes que foram reimplantados tardiamente, entre o própolis ou outros meios, como soluções salinas fisiológicas ou flureto de sódio. Por outro lado, investigou-se que a resina das abelhas mantinha mais células do periodonto vivas do que o leite de coco, podendo ter mais funções, como Gjersten *et al.* (2011) descrevem: reduz a apoptose celular do periodonto e aumenta a atividade metabólica e de proliferação (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Ahangari *et al.* (2013) anotaram o número de células vivas do ligamento periodontal de 60 dentes extraídos que, após 30 min de secagem, permaneceram nos meios experimentais e foram analisados 1 e 3h depois de imersos em cada solução experimental. Apuraram que, 1h decorrida, o número decrescia consoante os meios: controlo positivo > extrato etanólico de própolis a 10% > extrato a 50% > leite > Solução Salina Equilibrada de Hank (HBSS) > clara de ovo > controlo negativo, correspondendo o controlo positivo a dentes não expostos a secagem e o controlo negativo a dentes expostos durante 12h, ambos tratados com dispase e colagenase. Salienta-se que, decorridas 3h, em todos os grupos, o número de células viáveis diminuiu, excepto no grupo do extrato de própolis a 10%.

Sanghavi, Shah, Parekh e Singbal (2013) depararam-se com resultados ligeiramente diferentes, munindo-se de 40 dentes extraídos, na medida em que a água de coco foi melhor na manutenção das células viáveis do ligamento periodontal do que o extrato etanólico de própolis a 50%, que, por sua vez, foi mais eficaz do que a solução de reidratação oral. Todos os meios experimentais manipulados no estudo de Ahangari *et al.* (2013) e de Sanghavi *et al.* (2013) revelaram valores significativamente diferentes dos ostentados pelos grupos de controlo negativo e positivo.

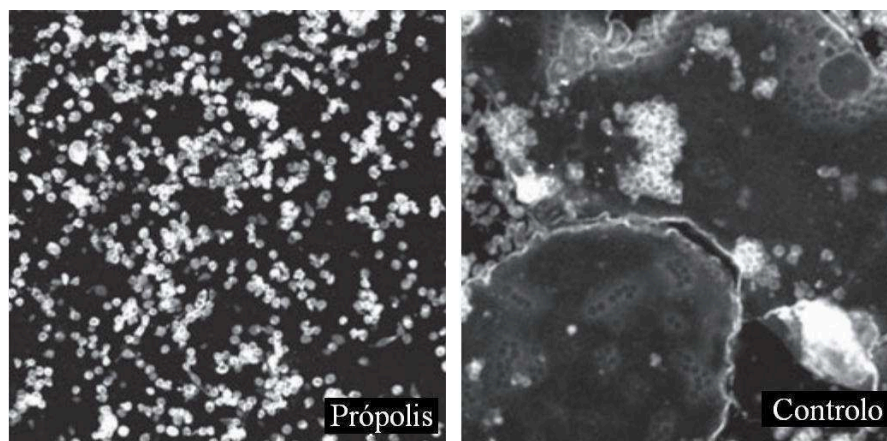


Fig. 19 – Formação de anéis de actina no grupo controlo devido a RANKL e inibição da mesma no grupo do própolis. (Adaptado de Pileggi *et al.*, 2009)

Quando ocorrem traumatismos dentários, um dos problemas a ser enfrentado é o da reabsorção da raiz e foram feitas investigações neste sentido. Demonstrou-se que num meio que contém osteoblastos e osteoclastos recolhidos da medula óssea de ratos, a aplicação de extrato de própolis a 45% reduziu, de modo dose-dependente, as células Fosfatase Ácida Resistente a Tartarato (TRAP+) gigantes e multinucleares, para dar lugar a uma maior quantidade de mononucleares. Estes resultados refletem uma inibição na formação de osteoclastos, pois os precursores mononucleares não se fundiram. Seguidamente, numa cultura com osteoclastos e com o seu estimulante Receptor Ativador para o Fator Nuclear κ B Ligando (RANKL), contaram o número de anéis de actina, marcadores característicos do citoesqueleto. Como consta na Fig. 19, notou-se que a formação destes anéis de actina, induzida por RANKL, foi completamente bloqueada, o que expressa a inibição da maturação e ativação dos osteoclastos, suportando a hipótese de o própolis ser um bom medicamento para a reabsorção radicular traumática (Pileggi, Antony, Johnson, Zuo & Shannon Holliday, 2009).

3.3 Efeitos secundários

Como seria de esperar, apesar de ser um produto natural, existem alguns efeitos adversos. Os mais descritos são as alergias (Tanasiewicz *et al.*, 2012), decorrentes de componentes alergénicos como 3-metil-2-butileno cafeato, cafeato fenil-acetato

(Wimardhani & Soegyanto, 2014), isoferrulato, ácidos aromáticos livres e flavonoides, dependendo da sua concentração (Budimir, Brailo, Alajberg, Boras & Budimir, 2012).

Nestes casos, as ocorrências variam entre edema das mucosas e conjuntivas, hipotensão e arritmias (Tanasiewicz *et al.*, 2012), ostentando os primeiros sinais geralmente após 2,5 dias, mas podendo aparecer num qualquer intervalo entre os 0 e os 15 dias (Budimir *et al.*, 2012; Wimardhani & Soegyanto, 2014). Porém, já foram associadas como efeitos secundários situações potencialmente mortais, como edema da laringe, choque anafilático e insuficiência renal aguda (Budimir *et al.*, 2012).

Num estudo-caso foi reportado o aparecimento de úlceras com diâmetro entre 0,3 a 1,5 cm, 8 horas após aplicação tópica contínua de um rolo de algodão embebido num extrato de própolis. Wimardhani e Soegyanto (2014) acreditam que estas queimaduras da mucosa se deveram à concentração etanólica (50 a 70%) e não a uma reação ao própolis em si, uma vez que a paciente bebia regularmente própolis diluído em água.

À semelhança destes, Budimir *et al.*, (2012) expõem a possibilidade de ter sido o componente alcoólico do extrato de própolis que causou algumas das reações alérgicas no seu estudo relativo a 22 pessoas, sendo as mais frequentes a estomatite erosiva e lesões, localizadas principalmente nos lábios (Fig. 20), que foram curadas com a aplicação tópica e sistémica, apenas em casos esporádicos, de corticosteroides, num período decorrido entre 6 e 20 dias.

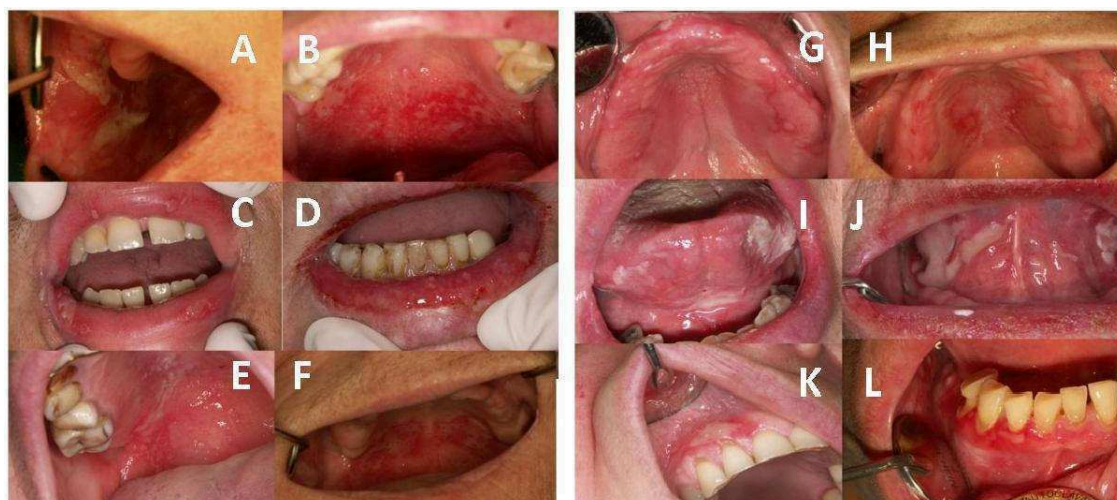


Fig. 20 – Lesões erosivas cobertas por pseudomembrana induzidas pela aplicação tópica de própolis, localizadas em toda a cavidade oral (A), no palato mole (B,E,F), nos lábios (C,D), no palato duro (G,H), na mucosa sublingual (I,J) e na gengiva (K,L). (Adaptado de Budimir *et al.*, 2012)

Özan *et al.* (2007) mostraram que o própolis tem menos efeitos citotóxicos que a clorexidina e, por essa razão, tem entrado na composição de colutórios. Sonmez *et al.* (2005) demonstraram que, para prevenir periodontite, a concentração requerida era suficientemente elevada para ser citotóxica para os fibroblastos da gengiva (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013).

Rifa'i e Widodo (2014) alegam que o própolis não é tóxico para doses de 50 – 200 mg/kg de peso corporal, garantindo ser um agente antidiabético seguro para humanos. Altan *et al.*, (2013) afirmam ser comum o aparecimento de efeitos secundários em dosagens superiores a 15g/dia. Alguns autores declaram que a percentagem de casos alérgicos se cinge a 0,25% do total de aplicações. Outros avançam um número um pouco superior, passando a ser 0,8% (Tanasiewicz *et al.*, 2012).

Zirwas e Otto (2010) aperceberam-se que, nos últimos 10 anos, os casos de alergia ao própolis têm vindo a aumentar na ordem dos 0,5% para 1,4% (Citado por Więckiewicz *et al.*, 2013). Por outro lado, há quem defenda números mais preocupantes, na ordem dos 1,2 a 6,55% na população em geral, agravando-se em crianças com 2 a 13,7% de sensibilidade ao própolis, mas não afetando a população idosa acima dos 70 anos. A incidência deixou de ser maioritariamente em apicultores, alastrando-se a toda a população, com maior enfoque no sexo feminino, consequência da crescente difusão em produtos biofarmacêuticos e de biocosmética (Citado por Budimir *et al.*, 2012).

4. CONCLUSÕES

O própolis é de origem natural e tem vindo a ser estudado devido à bioatividade e consequentes aplicações. As formas de apresentação mais estudadas até ao momento referem a administração de extrato etanólico de própolis, nas mais variadas concentrações, através de veículos como as pastas de dentes, colutórios, géis, comprimidos ou até injetáveis.

A aplicação tópica de própolis diminui a inflamação dos tecidos, promovendo a formação de tecido de granulação e epitelial. O tecido ósseo também é intervencionado, na medida em que a densidade, o conteúdo mineral ósseo e a maturação do osso aumentam.

Quando usado como desinfetante cavitário, percebeu-se que o melhor método seria o *etch and rinse*, pois foi onde demonstrou menos problemas na adesão. Por outro lado, quando a polpa é exposta deve-se recorrer a procedimentos de proteção da mesma e, neste âmbito, não se destacou pela quantidade de dentina formada para construir a ponte dentinária, mas sim pela sua qualidade. Tendo em conta uma melhoria dos materiais restauradores, a incorporação de própolis no CIV levou a uma amplificação da libertação de flúor, não alterando a microinfiltração, mas prejudicando a estética e a durabilidade, pois o cimento tornou-se mais solúvel em água.

Na endodontia, cujo principal objetivo é a eliminação de bactérias, a resina mostrou-se eficaz tanto na forma de irrigante como na de medicamento intracanal apesar de haver outros materiais igualmente competentes. No entanto, aparentou ser melhor que o hidróxido de cálcio na eliminação de bactérias, por ser menos citotóxico. A resina destaca-se sim, pela positiva, por ter uma adesão mais adequada no terço apical do que o hidróxido de cálcio, e manteve resultados semelhantes aos deste, nos terços superiores. Parece igualmente vantajoso no preenchimento canal, em dentes decíduos por esfoliar, pois a velocidade de reabsorção esteve a par e passo com a da risálise.

Nos métodos de eliminação de bactérias e placa, encontramos o própolis sob diversas formas. As pastas são eficientes, mas podem dar azo a queixas por parte dos pacientes, no que concerne ao sabor e quantidade de espuma. Em colutório é mais fraco do que a clorexidina relativamente à eliminação de placa; no entanto, verificou-se o contrário ao

inibir a hemorragia. Constatou-se que obstruiu os túbulos dentinários, impedindo o fluxo dentinário e, desse modo, reduzindo a hipersensibilidade. Percebeu-se ser um razoável método de controlo da halitose.

O própolis tem a capacidade de desregular o ciclo celular e aumentar a apoptose, em caso de cancro, mas age igualmente como quimiopreventivo. Paralelamente, diminui a mucosite, mas não melhorou o conforto dos pacientes (facilidade de comer, beber), tal como não se destacou no tratamento da xerostomia. Na estomatite, conseguiu reduzir a incidência e a frequência de recorrência e, na candidíase, foi mais benéfico no combate a estirpes resistentes a Fluconazol, recorrendo a concentrações mais baixas para ser fungicida.

Outra importante característica é que esta resina não apenas tem a faculdade de reduzir os microrganismos que estão na base da periodontite, como também mostrou estabelecer sinergia com o alisamento radicular, ou seja, mais facilmente provoca reduções na profundidade de bolsas e aumentos do nível de inserção clínica. A resina atenua a perda óssea em doentes que possuam periodontite e diabetes.

Nos casos de avulsão dentária, é um bom meio de transporte até ao reimplante, apesar de não ser o melhor, embora tenha a vantagem de inibir a maturação e ativação de osteoclastos, que levariam a reabsorções radiculares indesejadas.

Apesar de todas estas características, é possível encontrar casos em que ocorrem efeitos adversos, sendo o mais comum a alergia, que, no entanto, também pode ser desencadeada pela elevada presença de álcool. Por ser cada vez mais divulgado e introduzido na composição de diversos produtos, o número de novos casos de alergia tem vindo a crescer, não se restringindo apenas a apicultores.

Concluindo, o própolis é de fácil acesso e preço acessível; não obstante, deve-se trabalhar, de modo a aprofundar o conhecimento e a obter uma standardização da composição química que é tão variável, para que este possa ser incorporado com confiança e segurança em produtos médicos ou cosméticos. Adicionalmente, o própolis requer mais investigação para se compreender quais as vantagens evidentes da sua utilização em Medicina Dentária.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahangari, Z., Alborzi, S., Yadegari, Z., Dehghani, F., Ahangari, L., & Naseri, M. (2013). The effect of propolis as a biological storage media on periodontal ligament cell survival in an avulsed tooth: an in vitro study. *Cell J*, 15(3), 244-249. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24027666>
- Ahangari, Z., Naseri, M., Jalili, M., Mansouri, Y., Mashhadiabbas, F., & Torkaman, A. (2012). Effect of propolis on dentin regeneration and the potential role of dental pulp stem cell in Guinea pigs. *Cell J*, 13(4), 223-228. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3584482/>
- Akhavan-Karbassi, M. H., Yazdi, M. F., Ahadian, H., & Sadr-Abad, M. J. (2016). Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Propolis for Oral Mucositis in Patients Receiving Chemotherapy for Head and Neck Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 17 (7), 3611-3614. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27510017>
- Al-Haj Ali, S. N. (2016). In vitro toxicity of propolis in comparison with other primary teeth pulpotomy agents on human fibroblasts. *J Investig Clin Dent*, 7(3), 308-313. doi:10.1111/jicd.12157
- Al-Ostwani, A. O., Al-Monaqel, B. M., & Al-Tinawi, M. K. (2016). A clinical and radiographic study of four different root canal fillings in primary molars. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 34(1), 55-59. doi:10.4103/0970-4388.175515
- Altan, B. A., Kara, I. M., Nalcaci, R., Ozan, F., Endorgan, S. M., Ozkut, M. M., & Inan, S. (2013). Systemic propolis stimulates new bone formation at the expanded suture: A histomorphometric study. *The Angle Orthodontist*, 83(2), 286-291. doi:10.2319/032612-253.1
- Altunsoy, M., Tanriver, M., Türkan, U., Uslu, M. E., & Silici, S. (2016). In Vitro Evaluation of Microleakage and Microhardness of Ethanolic Extracts of Propolis in Different Proportions Added to Glass Ionomer Cement. *J Clin Pediatr Dent*, 40(2), 136-140. doi:10.17796/1053-4628-40.2.136

- Aral, C. A., Kesim, S., Greenwell, H., Kara, M., Çetin, A., & Yakan, B. (2015). Alveolar bone protective and hypoglycemic effects of systemic propolis treatment in experimental periodontitis and diabetes mellitus. *J Med Food*, 18(2), 195-201. doi:10.1089/jmf.2013.3137
- Arslan, S., Yazici, A. R., Gorucu, J., Ertan, A., Pala, K., Ustun, Y., . . . Antonson, D. E. (2011). Effects of different cavity disinfectants on shear bond strength of a silorane-based resin composite. *J Contemp Dent Pract*, 12(4), 279-286. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22186863>
- Arslan, S., Yazici, A. R., Görücü, J., Pala, K., Antonson, D. E., Antonson, S. A., & Silici, S. (2012). Comparison of the effects of Er,Cr:YSGG laser and different cavity disinfection agents on microleakage of current adhesives. *Lasers Med Sci*, 27(4), 805-811. doi:10.1007/s10103-011-0980-4
- Attia, A. A., ElMazoudy, R. H., & El-Shenawy, N. S. (2012). Antioxidant role of propolis extract against oxidative damage of testicular tissue induced by insecticide chlorpyrifos in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(2), 87-93. doi:10.1016/j.pestbp.2012.04.002
- Babatunde, I. R., Abdulbasit, A., Oladayo, M. I., Olasile, O. I., Olamide, F. R., & Gbolahan, B. W. (2015). Hepatoprotective and Pancreatoprotective Properties of the Ethanolic Extract of Nigerian Propolis. *J Intercult Ethnopharmacol*, 4(2), 102-108. doi:10.5455/jice.20150202023615
- Badr, G. (2016). Ameliorative Effect of Propolis Extract on Hepatotoxicity Induced by Methotrexate in Mice. *Asian Journal of Applied Sciences*, 4, 963-970. Disponível em <http://ajouronline.com/index.php/AJAS/article/view/3804>
- Bell, C. (2014). Propolis: The Defender of the Hive. Disponível em http://www.backyardhive.com/articles_on_beekeeping/propolis_the_defender_of_the_hive/
- Bhandari, S., T. S., A., & Patil, C. R. (2014). An in Vitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy of 2% Chlorhexidine Gel, Propolis and Calcium Hydroxide Against Enterococcus faecalis in Human Root Dentin. *J Clin Diagn Res*, 8(11), ZC60-ZC63. doi:10.7860/JCDR/2014/10359.5144

- Bereket, C., Özkan, F., Şener, İ., Tek, M., Altunkaynak, B. Z., Semirgin, S. U., . . . Özdemir, M. (2014). Propolis accelerates the consolidation phase in distraction osteogenesis. *J Craniofac Surg*, 25(5), 1912-1916. doi:10.1097/SCS.0000000000000946
- Bretz, W. A., Chiego, D. J., Marcucci, M. C., Cunha, I., Custódio, A., & Schneider, L. G. (1998). Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp. *Z Naturforsch C*, 53(11-12), 1045-1048. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9933969>
- Bretz, W. A., Paulino, N., Nör, J. E., & Moreira, A. (2014). The effectiveness of propolis on gingivitis: a randomized controlled trial. *J Altern Complement Med*, 20(12), 943-948. doi:10.1089/acm.2013.0431
- Budimir, V., Brailo, V., Alajbeg, I., Boras, V. V., & Budimir, J. (2012). Clinical Characteristics of Topical Propolis Induced Oral Lesions. *Acta Stomatol Croat*, 46(4), 297-306. Disponível em <https://www.hindawi.com/journals/crid/2014/307646/>
- Coutinho, A. (2012). Honeybee propolis extract in periodontal treatment: a clinical and microbiological study of propolis in periodontal treatment. *Indian J Dent Res*, 23(2), 294. doi:10.4103/0970-9290.100449
- Czyżewska, U., Siemionow, K., Zaręba, I., & Miltik, W. (2016). Proapoptotic Activity of Propolis and Their Components on Human Tongue Squamous Cell Carcinoma Cell Line (CAL-27). *PLoS One*, 11(6), e0157091. doi:10.1371/journal.pone.0157091
- De Luca, M. P., Franca, J. R., Macedo, F. A., Grenho, L., Cortes, M. E., Faraco, A. A., . . . Santos, V. R. (2014). Propolis varnish: antimicrobial properties against cariogenic bacteria, cytotoxicity, and sustained-release profile. *Biomed Res Int*, 2014, 348647. doi:10.1155/2014/348647
- Dias, L. G., Pereira, A. P., & Estevinho, L. M. (2012). Comparative study of different Portuguese samples of propolis: pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. *Food Chem Toxicol*, 50(12), 4246-4253. doi:10.1016/j.fct.2012.08.056

- Dziedzic, A., Kubina, R., Wojtyczka, R. D., Kabała-Dzik, A., Tanasiewicz, M., & Morawiec, T. (2013). The antibacterial effect of ethanol extract of polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 681891. doi:10.1155/2013/681891
- Ebeid, S. A., Moneim, N. A., El-Benhawy, S. A., Hussain, N. G., & Hussain, M. I. (2016). Assessment of the radioprotective effect of propolis in breast cancer patients undergoing radiotherapy. New perspective for an old honey bee product. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(4), 431–440. doi:10.1016/j.jrras.2016.06.001
- El-Sharkawy, H. M., Anees, M. M., & Van Dyke, T. E. (2016). Propolis Improves Periodontal Status and Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol*, 87(12), 1418-1426. doi:10.1902/jop.2016.150694
- Ercan, N., Erdemir, E. O., Ozkan, S. Y., & Hendek, M. K. (2015). The comparative effect of propolis in two different vehicles; mouthwash and chewing-gum on plaque accumulation and gingival inflammation. *Eur J Dent*, 9(2), 272-276. doi:10.4103/1305-7456.156851
- Eslami, H., Pournalibaba, F., Falsafi, P., Bohluhi, S., Najati, B., Negahdari, R., & Ghanizadeh, M. (2016). Efficacy of Hypozalix spray and propolis mouthwash for prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in leukemic patients: A double-blind randomized clinical trial. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 10(4), 226-233. doi:10.15171/joddd.2016.036
- Fang, Y., Sang, H., Yuan, N., Sun, H., Yao, S., Wang, J., & Qin, S. (2013). Ethanolic extract of propolis inhibits atherosclerosis in ApoE-knockout mice. *Lipids Health Dis*, 12, 123. doi:10.1186/1476-511X-12-123
- Funakoshi-Tago, M., Okamoto, K., Izumi, R., Tago, K., Yanagisawa, K., Narukawa, Y., . . . Tamura, H. (2015). Anti-inflammatory activity of flavonoids in Nepalese propolis is attributed to inhibition of the IL-33 signaling pathway. *Int Immunopharmacol*, 25(1), 189-198. doi:10.1016/j.intimp.2015.01.012

- Günay, A., Arpağ, O. F., Atilgan, S., Yaman, F., Atalay, Y., & Acikan, I. (2014). Effects of caffeic acid phenethyl ester on palatal mucosal defects and tooth extraction sockets. *Drug Des Devel Ther*, 8, 2069-2074. doi:10.2147/DDDT.S67623
- Haghdoost, N. S., Salehi, T. Z., Khosravi, A., & Sharifzadeh, A. (2016). Antifungal activity and influence of propolis against germ tube formation as a critical virulence attribute by clinical isolates of *Candida albicans*. *J Mycol Med*, 26(4), 298-305. doi:10.1016/j.mycmed.2015.11.004
- Hatunoğlu, E., Oztürk, F., Bilenler, T., Aksakallı, S., & Simşek, N. (2014). Antibacterial and mechanical properties of propolis added to glass ionomer cement. *Angle Orthod*, 84(2), 368-373. doi:10.2319/020413-101.1
- Hayakari, R., Matsumiya, T., Xing, F., Tayone, J. C., Dempoya, J., Tatsuta, T., . . . Satoh, K. (2013). Effects of Brazilian green propolis on double-stranded RNA-mediated induction of interferon-inducible gene and inhibition of recruitment of polymorphonuclear cells. *J Sci Food Agric*, 93(3), 646-651. doi:10.1002/jsfa.5892
- Hongal, S., Torwane, N. A., Goel, P., & Chandrashekar, B. (2014). The effect of 30% ethanolic extract of Indian propolis on replica of human dentin compared against commercially available desensitizing agent: A methodological SEM study in vitro. *Pharmacognosy Res*, 6(2), 113-119. doi:10.4103/0974-8490.129026
- Horgan, F. (2016). Abelhas e a sua rainha na produção de mel. Fotografia tirada na Serra da Malcata. (Coleção privada).
- Hsu, T. H., Chu, C. C., Hung, M. W., Lee, H. J., Hsu, H. J., & Chang, T. C. (2013). Caffeic acid phenethyl ester induces E2F-1-mediated growth inhibition and cell-cycle arrest in human cervical cancer cells. *FEBS J*, 280(11), 2581-2593. doi:10.1111/febs.12242
- Hussain, R., Dannan, A., Al-Ahmad, M., & Al-Aswad, N. (2016). Propolis Treatment for Dental Sensitivity after Tooth Bleaching. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 2(5), 1436-1439. Disponível em <http://imperialjournals.com/index.php/IJIR/article/view/677>

- Jacob, A., Parolia, A., Pau, A., & Davamani Amalraj, F. (2015). The effects of Malaysian propolis and Brazilian red propolis on connective tissue fibroblasts in the wound healing process. *BMC Complement Altern Med*, 15, 294. doi:10.1186/s12906-015-0814-1
- Javadzadeh Bolouri, A., Pakfetrat, A., Tonkaboni, A., Aledavood, S. A., Fathi Najafi, M., Delavarian, Z., . . . Mohtashami, A. (2015). Preventing and Therapeutic Effect of Propolis in Radiotherapy Induced Mucositis of Head and Neck Cancers: A Triple-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Iran J Cancer Prev*, 8(5), e4019. doi:10.17795/ijcp-4019
- Kalyoncuoğlu, E., Gönülol, N., Özsezer Demiryürek, E., & Bodrumlu, E. (2015). Effect of propolis as a root canal irrigant on bond strength to dentin. *J Appl Biomater Funct Mater*, 13(4), e362-366. doi:10.5301/jabfm.5000240
- Karakis, D., Akay, C., Oncul, B., Rad, A. Y., & Dogan, A. (2016). Effectiveness of disinfectants on the adherence of *Candida albicans* to denture base resins with different surface textures. *J Oral Sci*, 58(3), 431-437. doi:10.2334/josnusd.15-0642
- Kazancioglu, H. O., Aksakalli, S., Ezirganli, S., Birlik, M., Esrefoglu, M., & Acar, A. H. (2015). Effect of caffeic acid phenethyl ester on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. *Drug Des Devel Ther*, 9, 6483-6488. doi:10.2147/DDDT.S97797
- Kim, K., Kang, J., & Park, Y. (2014). Effect of Mouthrinse Containing Propolis on Oral Malodor. *Int J Clin Prev Dent*, 10(3), 179-184. doi:10.15236/ijcpd.2014.10.3.179
- Kuo, Y., Lin, H., Huo, C., Su, L., Yang, J., Hsiao, P., . . . Chuu, C. (2013). Caffeic Acid Phenethyl Ester Suppresses Proliferation and Survival of TW2.6 Human Oral Cancer Cells via Inhibition of Akt Signaling. *Int J Mol Sci*, 14 (5), 8801-8817. doi: 10.3390/ijms14058801
- Kusum, B., Rakesh, K., & Richa, K. (2015). Clinical and radiographical evaluation of mineral trioxide aggregate, biodentine and propolis as pulpotomy medicaments

- in primary teeth. *Restor Dent Endod*, 40(4), 276-285. doi:10.5395/rde.2015.40.4.276
- Machorowska-Pieniążek, A., Morawiec, T., Mertas, A., Tanasiewicz, M., Dziedzic, A., & Król, W. (2013). Influence of propolis on hygiene, gingival condition, and oral microflora in patients with cleft lip and palate treated with fixed orthodontic appliances. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 183915. doi:10.1155/2013/183915
- Machorowska-Pieniążek, A., Skucha-Nowak, M., Mertas, A., Tanasiewicz, M., Niedzielska, I., Morawiec, T., & Baron, S. (2016). Effects of Brazilian Propolis on Dental Plaque and Gingiva in Patients with Oral Cleft Malformation Treated with Multibracket and Removable Appliances: A Comparative Study. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2038407. doi:10.1155/2016/2038407
- Mattigatti, S., Ratnakar, P., Moturi, S., Varma, S., & Rairam, S. (2012). Antimicrobial effect of conventional root canal medicaments vs propolis against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *J Contemp Dent Pract*, 13(3), 305-309. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22918001>
- Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., & Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol Res*, 152(3), 239-246. doi:10.1016/S0944-5013(97)80034-1
- Mohan, P. V., Uloopi, K. S., Vinay, C., & Rao, R. C. (2016). In vivo comparison of cavity disinfection efficacy with APF gel, Propolis, Diode Laser, and 2% chlorhexidine in primary teeth. *Contemp Clin Dent*, 7(1), 45-50. doi:10.4103/0976-237X.177110
- Moradi, S., Saghravanian, N., Moushekhian, S., Fatemi, S., & Forghani, M. (2015). Immunohistochemical Evaluation of Fibronectin and Tenascin Following Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate, Platelet-Rich Plasma and Propolis in Dogs' Teeth. *Iran Endod J*, 10(3), 188-192. doi:10.7508/iej.2015.03.009

- Morawiec, T., Dziejczak, A., Niedzielska, I., Mertas, A., Tanasiewicz, M., Skaba, D., . . . Więckiewicz, M. (2013). The biological activity of propolis-containing toothpaste on oral health environment in patients who underwent implant-supported prosthodontic rehabilitation. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 704947. doi:10.1155/2013/704947
- Morawiec, T., Mertas, A., Wojtyczka, R. D., Niedzielska, I., Dziejczak, A., Bubilek-Bogacz, A., . . . Król, W. (2015). The Assessment of Oral Microflora Exposed to 3% Ethanolic Extract of Brazilian Green Propolis Preparation Used for Hygiene Maintenance following Minor Oral Surgeries. *Biomed Res Int*, 2015, 869575. doi:10.1155/2015/869575
- Motallebnejad, M., Abedi, S. M., Seyedmajidi, M., Moghadamnia, A. A., Ashrafpour, M., Salehi, M., . . . Ghorbani, A. (2014). Evaluation of protective effect of propolis on parotid salivary glands in gamma-irradiated rats. *J Contemp Dent Pract*, 15(1), 8-11. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24939257>
- Mutlu Sariguzel, F., Berk, E., Koc, A. N., Sav, H., & Demir, G. (2016). Antifungal Activity of Propolis Against Yeasts Isolated From Blood Culture: In Vitro Evaluation. *J Clin Lab Anal*, 30(5), 513-516. doi:10.1002/jcla.21889
- Nassar, S. A., Mohamed, A. H., Soufy, H., Nasr, S. M., & Mahran, K. M. (2012). Immunostimulant effect of Egyptian propolis in rabbits. *ScientificWorld Journal*, 2012, 901516. doi:10.1100/2012/901516
- Neiva, K. G., Catalfamo, D. L., Holliday, S., Wallet, S. M., & Pileggi, R. (2014). Propolis decreases lipopolysaccharide induced inflammatory mediators in pulp cells and osteoclasts. *Dental Traumatology*, 30(5), 362-367. doi:10.1111/edt.12096
- Niedzielska, I., Puszczewicz, Z., Mertas, A., Niedzielski, D., Rózanowski, B., Baron, S., . . . Morawiec, T. (2016). The Influence of Ethanolic Extract of Brazilian Green Propolis Gel on Hygiene and Oral Microbiota in Patients after Mandible Fractures. *Biomed Res Int*, 2016, 9190814. doi:10.1155/2016/9190814

- Orsi, R. O., Fernandes, A., Bankova, V., & Sforcin, J. M. (2006). Synergistic effect of propolis and antibiotics on the Salmonella Typhi. *Braz J Microbiol*, 37(2), 108-112. doi:10.1590/S1517-83822006000200002
- Orsi, R. O., Fernandes, A., Bankova, V., & Sforcin, J. M. (2012a). Antibacterial effects of Brazilian and Bulgarian propolis and synergistic effects with antibiotics acting on the bacterial DNA and folic acid. *Nat Prod Res*, 26(4), 344-349. doi:10.1080/14786411003754355
- Orsi, R. O., Fernandes, A., Bankova, V., & Sforcin, J. M. (2012b). The effects of Brazilian and Bulgarian propolis in vitro against Salmonella Typhi and their synergism with antibiotics acting on the ribosome. *Nat Prod Res*, 26(5), 430-437. doi:10.1080/14786419.2010.498776
- Oznurhan, F., Ozturk, C., & Ekci, E. S. (2015). Effects of different cavity-disinfectants and potassium titanyl phosphate laser on microtensile bond strength to primary dentin. *Niger J Clin Pract*, 18(3), 400-404. doi:10.4103/1119-3077.151774
- Ozório, J. E., Carvalho, L. F., de Oliveira, D. A., de Sousa-Neto, M. D., & Perez, D. E. (2012). Standardized propolis extract and calcium hydroxide as pulpotomy agents in primary pig teeth. *J Dent Child (Chic)*, 79(2), 53-58. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22828758>
- Park, SH., Sim, YB., Kim, SM., Lee, JK., Jung, JS., & Suh, JW. (2011). The Effect of Caffeic Acid on the Antinociception and Mechanisms in Mouse. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 54 (2), 177-182. doi:10.3839/jksabc.2011.029
- Parolia, A., Kundabala, M., Rao, N. N., Acharya, S. R., Agrawal, P., Mohan, M., & Thomas, M. (2010). A comparative histological analysis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and Dycal. *Aust Dent J*, 55(1), 59-64. doi:10.1111/j.1834-7819.2009.01179.x
- Peker, I., Akca, G., Sarikir, C., Alkurt, M. T., & Celik, I. (2014). Effectiveness of alternative methods for toothbrush disinfection: an in vitro study. *ScientificWorldJournal*, 2014, 726190. doi:10.1155/2014/726190

- Pileggi, R., Antony, K., Johnson, K., Zuo, J., & Shannon Holliday, L. (2009). Propolis inhibits osteoclast maturation. *Dent Traumatol*, 25(6), 584-588. doi:10.1111/j.1600-9657.2009.00821.x
- Prabhakar, A. R., Balehosur, D. V., & Basappa, N. (2016). Comparative Evaluation of Shear Bond Strength and Fluoride Release of Conventional Glass Ionomer with 1% Ethanolic Extract of Propolis Incorporated Glass Ionomer Cement -Invitro Study. *J Clin Diagn Res*, 10(5), ZC88-ZC91. doi:10.7860/JCDR/2016/17056.7818
- Purra, A. R., Mushtaq, M., Acharya, S. R., & Saraswati, V. (2014). A comparative evaluation of propolis and 5.0% potassium nitrate as a dentine desensitizer: A clinical study. *J Indian Soc Periodontol*, 18(4), 466-471. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25210261>
- Rifa'i, M., & Widodo, N. (2014). Significance of propolis administration for homeostasis of CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells controlling hyperglycemia. *Springerplus*, 3, 526. doi:10.1186/2193-1801-3-526
- Rodríguez, Y., Sánchez-Catalán, F., Rojano, B., Durango, D., Gil, J., & Marín-Loaiza, J. (2012). Caracterización Fisicoquímica y Evaluación de la Actividad Antioxidante de Propóleos Recolectados en el Departamento del Atlántico, Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient*, 15(2), 303-311. Disponível em http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262012000200007
- Saha, S., Nair, R., & Asrani, H. (2015). Comparative Evaluation of Propolis, Metronidazole with Chlorhexidine, Calcium Hydroxide and Curcuma Longa Extract as Intracanal Medicament Against E.faecalis- An Invitro Study. *J Clin Diagn Res*, 9(11), ZC19-ZC21. doi:10.7860/JCDR/2015/14093.6734
- Sanghani, N. N., Bm, S., & S, S. (2014). Health from the hive: propolis as an adjuvant in the treatment of chronic periodontitis - a clinicomicrobiologic study. *J Clin Diagn Res*, 8(9), ZC41-44. doi:10.7860/JCDR/2014/8817.4856
- Sanghavi, T., Shah, N., Parekh, V., & Singbal, K. (2013). Evaluation and comparison of efficacy of three different storage media, coconut water, propolis, and oral

- rehydration solution, in maintaining the viability of periodontal ligament cells. *J Conserv Dent*, 16(1), 71-74. doi:10.4103/0972-0707.105303
- Satyanarayana, K., Sravanthi, K., Shaker, I. A., Ponnulakshmi, R., & Selvaraj, J. (2015). Role of chrysin on expression of insulin signaling molecules. *J Ayurveda Integr Med*, 6(4), 248-258. doi:10.4103/0975-9476.157951
- Shabbir, A., Rashid, M., & Tipu, H. N. (2016). Propolis, A Hope for the Future in Treating Resistant Periodontal Pathogens. *Cureus*, 8(7), e682. doi:10.7759/cureus.682
- Shimizu, T., Takeshita, Y., Takamori, Y., Kai, H., Sawamura, R., Yoshida, H., . . . Kurokawa, M. (2011). Efficacy of Brazilian Propolis against Herpes Simplex Virus Type 1 Infection in Mice and Their Modes of Antiherpetic Efficacies. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 976196. doi:10.1155/2011/976196
- Skaba, D., Morawiec, T., Tanasiewicz, M., Mertas, A., Bobela, E., Szliszka, E., . . . Król, W. (2013). Influence of the toothpaste with brazilian ethanol extract propolis on the oral cavity health. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 215391. doi:10.1155/2013/215391
- Socha, R., Gałkowska, D., Bugaj, M., & Juszcak, L. (2015). Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat Prod Res*, 29(5), 416-422. doi:10.1080/14786419.2014.949705
- Subramaniam, P., Girish Babu, K. L., Neeraja, G., & Pillai, S. (2016). Does Addition of Propolis to Glass Ionomer Cement Alter its Physicomechanical Properties? An in Vitro Study. *J Clin Pediatr Dent*, 40(5), 400-403. doi:10.17796/1053-4628-40.5.400
- Szliszka, E., Zydowicz, G., Janoszka, B., Dobosz, C., Kowalczyk-Ziomek, G., & Krol, W. (2011). Ethanollic extract of Brazilian green propolis sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis. *Int J Oncol*, 38(4), 941-953. doi:10.3892/ijo.2011.930
- Szweda, P., Gucwa, K., Kurzyk, E., Romanowska, E., Dzierżanowska-Fangrat, K., Zielińska Jurek, A., . . . Milewski, S. (2015). Essential Oils, Silver Nanoparticles and Propolis as Alternative Agents Against Fluconazole Resistant Candida

- albicans, *Candida glabrata* and *Candida krusei* Clinical Isolates. *Indian J Microbiol*, 55(2), 175-183. doi:10.1007/s12088-014-0508-2
- Tanasiewicz, M., Skucha-Nowak, M., Dawiec, M., Król, W., Skaba, D., & Twardawa, H. (2012). Influence of hygienic preparations with a 3% content of ethanol extract of Brazilian propolis on the state of the oral cavity. *Adv Clin Exp Med*, 21(1), 81-92. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23214304>
- Topcuoglu, N., Ozan, F., Ozyurt, M., & Kulekci, G. (2012). In vitro antibacterial effects of glass-ionomer cement containing ethanolic extract of propolis on *Streptococcus mutans*. *Eur J Dent*, 6(4), 428-433. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23077424>
- Torwane, N. A., Hongal, S., Goel, P., Chandrashekar, B. R., Jain, M., & Saxena, E. (2013). A clinical efficacy of 30% ethenolic extract of Indian propolis and Recaldent™ in management of dentinal hypersensitivity: A comparative randomized clinical trial. *Eur J Dent*, 7(4), 461-468. doi:10.4103/1305-7456.120675
- Uçan, M. C., Koparal, M., Ağaçayak, S., Gunay, A., Ozgoz, M., Atilgan, S., & Yaman, F. (2013). Influence of caffeic acid phenethyl ester on bone healing in a rat model. *J Int Med Res*, 41(5), 1648-1654. doi:10.1177/0300060513490613
- Verma, M. K., Pandey, R. K., Khanna, R., & Agarwal, J. (2014). The antimicrobial effectiveness of 25% propolis extract in root canal irrigation of primary teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 32(2), 120-124. doi:10.4103/0970-4388.130786
- Wali, A. F., Avula, B., Ali, Z., Khan, I. A., Mushtaq, A., Rehman, M. U., . . . Masoodi, M. H. (2015). Antioxidant, Hepatoprotective Potential and Chemical Profiling of Propolis Ethanolic Extract from Kashmir Himalaya Region Using UHPLC-DAD-QToF-MS. *Biomed Res Int*, 2015, 393462. doi:10.1155/2015/393462
- Wang, K., Ping, S., Huang, S., Hu, L., Xuan, H., Zhang, C., & Hu, F. (2013). Molecular mechanisms underlying the in vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from chinese propolis (poplar type). *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 127672. doi:10.1155/2013/127672

- Wimardhani, Y. S., & Soegyanto, A. I. (2014). Oral mucosal ulceration caused by the topical application of a concentrated propolis extract. *Case Rep Dent*, 2014, 307646. doi:10.1155/2014/307646
- Więckiewicz, W., Miernik, M., Więckiewicz, M., & Morawiec, T. (2013). Does propolis help to maintain oral health?. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 351062. doi:10.1155/2013/351062
- Yildirim, A., Duran, G. G., Duran, N., Jenedi, K., Bolgul, B. S., Miraloglu, M., & Muz, M. (2016). Antiviral Activity of Hatay Propolis Against Replication of Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2. *Med Sci Monit*, 22, 422-430. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26856414>
- Yildirim-Bicer, A. Z., Peker, I., Akca, G., & Celik, I. (2014). In vitro antifungal evaluation of seven different disinfectants on acrylic resins. *Biomed Res Int*, 2014, 519098. doi:10.1155/2014/519098
- Zare Jahromi, M., Ranjbarian, P., & Shiravi, S. (2014). Cytotoxicity evaluation of Iranian propolis and calcium hydroxide on dental pulp fibroblasts. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 8(3), 130-133. doi:10.5681/joddd.2014.024
- Zeng, W., Yan, Y., Zhang, F., Zhang, C., & Liang, W. (2013). Chrysin promotes osteogenic differentiation via ERK/MAPK activation. *Protein Cell*, 4(7), 539-547. doi:10.1007/s13238-013-3003-3
- Zhang, J., Cao, X., Ping, S., Wang, K., Shi, J., Zhang, C., . . . Hu, F. (2015). Comparisons of ethanol extracts of chinese propolis (poplar type) and poplar gums based on the antioxidant activities and molecular mechanism. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 307594. doi:10.1155/2015/307594
- Zirwas, M. J., & Otto, S. (2010). Toothpaste allergy diagnosis and management. *J Clin Aesthet Dermatol*, 3(5), 42-47. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2922711/>
- Öznurhan , F., Ozturk, C., & Ekci, E. S. (2015). Effects of different cavity-disinfectants and potassium titanyl phosphate laser on microtensile bond strength to primary dentin. *Niger J Clin Pract*, 18(3), 400-404. doi:10.4103/1119-3077.151774

Üstün, Y., Arslan, S., & Aslan, T. (2013). Effects of calcium hydroxide and propolis intracanal medicaments on bond strength of resin-based endodontic sealer as assessed by push-out test. *Dent Mater J*, 32(6), 913-919. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24240904>