



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

ANDERSON GOMES AGOSTINHO

EFEITO DA LECTINA DA ALGA MARINHA VERMELHA *Solieria filiformis*
(KÜTZING) P.W. Gabrielson NA REABSORÇÃO ÓSSEA EM MODELO
EXPERIMENTAL DE PERIODONTITE EM RATOS

FORTALEZA

2020

ANDERSON GOMES AGOSTINHO

EFEITO DA LECTINA DA ALGA MARINHA VERMELHA *Solieria filiformis*
(KÜTZING) P.W. Gabrielson NA REABSORÇÃO ÓSSEA EM MODELO
EXPERIMENTAL DE PERIODONTITE EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como dos requisitos para para obtenção do Título de Mestre em Bioquímica, área de concentração bioquímica vegetal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Norma Maria Barros Benevides

Coorientadora: Prof^a. Dra. Ticiane Monteiro Abreu

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A221e Agostinho, Anderson Gomes.

Efeito da lectina da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützting) P.W. Gabrielson na reabsorção óssea em modelo experimental de periodontite em ratos / Anderson Gomes

Agostinho. – 2020.

67 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides.

Coorientação: Profa. Dra. Ticiano Monteiro Abreu.

1. Doença periodontal. 2. Lectina. 3. Rodófitas. I. Título.

CDD 572

ANDERSON GOMES AGOSTINHO

EFEITO DA LECTINA DA ALGA MARINHA VERMELHA *Solieria filiformis*
(KÜTZING) P.W. Gabrielson NA REABSORÇÃO ÓSSEA EM MODELO
EXPERIMENTAL DE PERIODONTITE EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Bioquímica, área de concentração Bioquímica vegetal.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Norma Maria Barros Benevides (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Ticiane Monteiro Abreu (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Deborah Moura Rebouças
Centro Universitário UniGrande (UNIGRANDE)

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Norma Maria Barros Benevides, que me recebeu de braços abertos sem ao menos me conhecer. Sou grato pela confiança, dedicação e contribuição na minha formação.

À minha querida coorientadora Ticiane Abreu, pelos conselhos, dedicação, ensinamentos e principalmente por ter tido muita paciência. Você é maravilhosa.

À Prof^ª. Karuza, pela contribuição, dedicação neste trabalho e disponibilidade do seu laboratório e sua equipe.

Aos Professores do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, obrigada por todos os ensinamentos repassados ao longo desses anos.

Aos meus amigos do Laboratório de Carboidratos e Lectinas (Carbolec): Renata, Vitória, Cirlânio, Neto, Annyta, Lucas, Ticiane Lima, Ewerton, Pedro, Débora, Bosco, pelos ensinamentos repassados e por me proporcionarem momentos de descontração.

Um agradecimento especial ao Acrísio Bastos pelo apoio, amizade, me ajudou imensamente nos experimentos de purificação de lectina. Agradeço de coração. Aos dois alunos de iniciação científica do laboratório, Ariel e Rebeka, que se dedicaram a esta pesquisa até aos domingos, agradeço imensamente.

Aos colegas do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, principalmente ao meu grande amigo Brandon Ferraz, pela disposição em me ajudar e me erguer em momentos difíceis, obrigado por tudo.

Aos membros do Núcleo de Estudos em Microscopia e Processamento de Imagens (NEMPI), principalmente a Sthefane e Khalil, dedicaram seu tempo e me ajudaram muito na organização dos experimentos.

Ao Paulo Ricardo, por fazer parte da minha vida, pela paciência e pela motivação para seguir em frente.

Aos meus amigos, Thiany, Geovanio, Alba e Fernanda, por terem me apoiado e serem meus pilares durante todos esses anos de amizade.

Em especial, minha mãe, Maria José, por fazer acreditar mais no meu potencial, me ensinando sempre a agir com ética, verdade e a lutar pelos meus sonhos; as minhas irmãs Adriana e Kauanna, por todo apoio e amor; e a todos meus familiares.

Universidade Federal do Ceará – Laboratório de Carboidratos e Lectinas (CARBOLEC), (Coordenação da Profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides), Núcleo de Estudos em Microscopia e Processamento de Imagens (NEMPI) (Coordenação da Dra. Gerly

Anne de Castro Brito) e ao Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (UFC).

CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Desenvolvimento Pessoal e de Ensino Superior), através da concessão de bolsa de estudo e de auxílio financeiro para a realização do presente trabalho.

RESUMO

Lectinas são proteínas onipresente nos seres vivos, se ligam especificamente a carboidratos, esta interação é importante para diversos processos biológicos e faz das lectinas valiosas ferramentas para aplicações nas ciências biomédicas. A lectina da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (LSf) apresenta efeitos biológicos, tais como antidepressivo, antinociceptivo, antitumoral e anti-inflamatório. Uma vez que a referida lectina possui essa capacidade de modular a resposta inflamatória, a mesma mostra-se promissora para o controle de distúrbios de origem imunoinflamatória, tal como a periodontite. A periodontite é uma doença caracterizada por danos no periodonto de sustentação, devido a distúrbio imunoinflamatório desencadeado pelo acúmulo de biofilme dental. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar a eficácia da LSf em modelo experimental de periodontite em ratos. Para isso, ratos Wistar machos (n=6) foram submetidos à indução da periodontite por ligadura de fio de náilon e sob o uso diário de LSf (1, 3 ou 9 mg/kg) por via intraperitoneal (i.p.), durante 11 dias. Como controles, foram utilizados grupos de animais sem periodontite e sem tratamento (naïve), e ratos com periodontite e sob o uso de salina estéril (i.p.). Para a avaliação do referido efeito, foram realizados, estudo morfométrico e análise histopatológica das maxilas, e dosagem das interleucinas (IL)-1 β e 6 e do fator de necrose tumoral- α (TNF- α). Por fim, foram avaliados parâmetros sistêmicos, através de dosagens bioquímicas séricas, hemograma, variação de massa corpórea, alterações no peso e histopatologia de órgãos. O uso de LSf durante 11 dias em animais submetidos a periodontite, mostrou-se eficiente na redução da evolução da periodontite, como mostrado no estudo da análise macroscópica do osso alveolar, reduziu 60, 57 e 51%, com as respectivas doses 1, 3 e 9 mg/kg e nas análises da histologia do periodonto houve uma melhora significativa dos parâmetros avaliados, que foram infiltrado inflamatório, cemento e osso. Houve modulação de citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β , IL- 6 e TNF- α , sugerindo que a redução da evolução da periodontite sob o uso da LSf, esteja envolvido na capacidade de modular a inflamação desta lectina, além disso, LSf mostrou-se atóxica, por não alterar os parâmetros sistêmicos avaliados. Assim, essa lectina mostrou-se promissora como adjuvante na periodontite. Esse é o primeiro relato na literatura de uma lectina algal com efeito de redução da evolução da periodontite.

Palavras-chave: Doença periodontal. Lectina. Rodófitas.

ABSTRACT

Lectins are omnipresent proteins in living beings, they bind specifically to carbohydrates, this interaction is important for several biological processes and makes lectins valuable tools for applications in biomedical sciences. The red marine alga lectin *Solieria filiformis* (SfL) presents biological effects such as antidepressant, antinociceptive, antitumor and anti-inflammatory. Since this lectin has this ability to modulate the inflammatory response, it is promising for the control of disorders of immunoinflammatory origin, such as periodontitis. Periodontitis is a disease characterized by damage to the supporting periodontitis due to an immunoinflammatory disorder triggered by the accumulation of dental biofilm. In view of the above, this study aimed at investigating the efficacy of the SfL in an experimental model of periodontitis in rats. For this, male Wistar rats (n=6) were ligature-induced by nylon and under daily use of LSf (1, 3 or 9 mg/kg) intraperitoneally (i.p.) for 11 days. As controls, groups of animals without periodontitis and without treatment (naive) were used, and rats with periodontitis and under the use of sterile saline (i.p.). For the evaluation of this effect, morphometric study and histopathological analysis of the maxilla, interleukin (IL)-1 β and 6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were performed. For the evaluation of this effect, morphometric study and histopathological analysis of the maxilla, interleukin (IL)-1 β and 6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were performed. Finally, systemic parameters were evaluated using serum biochemical dosages, hemogram, body mass variation, weight changes and organ histopathology. The use of LSf during 11 days in animals submitted to periodontitis proved to be efficient in reducing the evolution of periodontitis, as shown in the study of macroscopic analysis of the alveolar bone, reduced 60, 57 and 51%, with the respective doses 1, 3 and 9 mg/kg and in the analysis of the histology of the periodontitis there was a significant improvement in the parameters evaluated, which were inflammatory infiltrate, cemento and bone. There was modulation of pro-inflammatory cytokines, IL-1 β , IL- 6 and TNF- α , suggesting that the reduction in the evolution of periodontitis under the use of LSf is involved in the ability to modulate the inflammation of this lectin, moreover, LSf proved to be non-toxic, because it does not alter the systemic parameters evaluated. Thus, this lectin proved promising as an adjuvant in periodontitis. This is the first report in the literature of an algal lectin with the effect of reducing the evolution of periodontitis.

Keywords: Periodontal disease. Lectin. Rhodophytes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Lectinas de algas vermelhas e seu potencial biomédico.....	13
Figura 2 – Macroalga marinha vermelha <i>Solieria filiformis</i> (Kützing) P.W. Gabrielson.....	14
Figura 3 – Sequências de aminoácidos de SfL-1 (A) e SfL-2 (B).....	15
Figura 4 – A estrutura geral de SfL-1 (A) e SfL-2 (B). I, II, III e IV representam os locais de ligação aos carboidratos.....	16
Figura 5 – Ilustração da reabsorção óssea através do eixo RANK/RANKL/OPG.....	21
Figura 6 – Esquema de extração e purificação da lectina da alga marinha vermelha <i>Solieria filiformis</i> (LSf).....	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Algas marinhas.....	11
1.2	Lectinas.....	12
1.2.1	<i>Lectinas de algas marinhas.....</i>	12
1.2.2	<i>Lectina da alga marinha vermelha Solieria filiformis.....</i>	14
1.3	Periodontite.....	17
1.3.1	<i>Etiopatogenia e fisiopatologia.....</i>	17
1.3.2	<i>Diagnóstico e tratamento.....</i>	22
1.3.3	<i>Modelos animais utilizados na periodontite.....</i>	24
2	OBJETIVOS	25
2.1	Geral.....	25
2.2	Específico.....	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1	Alga marinha.....	26
3.2	Extração e isolamento da lectina da alga marinha vermelha <i>Solieria filiformis</i>.....	26
3.3	Animais, grupos e doses.....	29
3.4	Indução da periodontite e tratamento dos animais com a LSf.....	29
3.5	Estudo morfométrico do tecido ósseo maxilar.....	30
3.6	Análise histopatológica do osso alveolar.....	30
3.7	Avaliação do perfil de citocinas.....	31
3.8	Avaliação sistêmica da LSf.....	31
3.8.1	<i>Análise da variação de massa corpórea.....</i>	31
3.8.2	<i>Perda de massa corpórea, alterações no peso dos órgãos e análise histopatológica dos órgãos.....</i>	32
3.8.3	<i>Avaliação do hemograma.....</i>	32
3.8.4	<i>Análises bioquímicas enzimáticas do soro.....</i>	32
3.8.4.1	<i>Dosagem de Ureia.....</i>	32
3.8.4.2	<i>Dosagem de Fosfatase Alcalina.....</i>	32
3.8.4.3	<i>Dosagens da Aspartato Aminotransferase (AST/TGO) e Alanina Aminotransferase (ALT/TGP).....</i>	33
3.9	Análises estatísticas.....	34

4	ARTIGO	35
5	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS	61
	ANEXO A – CERTIDÃO DO CADASTRO DA ALGA <i>Solieria filiformis</i> NO SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO (SISGen).....	66
	ANEXO B – CERTIFICADO DE AUTORIZAÇÃO PARA O USO DE ANIMAIS PELO COMITÊ DE ÉTICA DE USO DE ANIMAIS DA UFC (CEUA-UFC).....	67