



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA ODONTOLÓGICA
CURSO DE ODONTOLOGIA

NILSON ROMERO MENDES DIAS

**O PAPEL DA VIA WNT CANÔNICA NA PERDA ÓSSEA PERIODONTAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

FORTALEZA

2022

NILSON ROMERO MENDES DIAS

**O PAPEL DA VIA WNT CANÔNICA NA PERDA ÓSSEA PERIODONTAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Clínica odontológica do Curso de Odontologia da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientadora: Prof. Dra. Paula Goes Pinheiro
Dutra

FORTALEZA

2022

NILSON ROMERO MENDES DIAS

O PAPEL DA VIA WNT CANÔNICA NA PERDA ÓSSEA PERIODONTAL: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Clínica Odontológica do Curso de Odontologia da Faculdade de Farmácia Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Aprovado em: 08/02/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Paula Goes Pinheiro Dutra – Orientadora
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Raquel Felipe de Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Vanessa Costa de Sousa Ferreira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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)

D533p Dias, Nilson Romero Mendes.
O papel da via WNT canônica na perda óssea periodontal : Uma revisão sistemática / Nilson Romero Mendes Dias. – 2022.
34 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Paula Goes Pinheiro Dutra.

1. Via WNT beta-catenina. 2. Periodontite. 3. Modelo animal. I. Título.

CDD 617.6

A Deus.

À minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pela minha vida e por ajudar a ultrapassar todos os obstáculos ao longo dos anos, me sustentando e abençoando. À minha família, que em todos os momentos me deram suporte e ajudaram na minha formação pessoal e educacional. Especialmente aos meus pais, José Nilson e Laura, pelo apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações e conquistas até o presente momento.

Agradeço ainda à todos os professores e demais funcionários da Universidade Federal do Ceará, pela formação de qualidade e oportunidades únicas que pude desfrutar no ensino superior ao longo dos anos de curso.

À Profa. Dra. Paula Goes pela orientação, conhecimento repassado e por permitir-me fazer parte do grupo NEPDIO nesses três anos, onde pude ter a melhor experiência extra curricular da graduação. Bem como aos pós-graduandos, Vanessa, Anderson, Gisele e especialmente a Raquel, por toda a ajuda na confecção do trabalho. Agradeço também a minha dupla de iniciação científica, Sislana, que sempre esteve presente para ajudar e tornou-se uma grande amiga.

Aos meus colegas de curso, com quem convivi durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como formando, mas também como pessoa, representados por Maria Clara Estellita, Laís Sousa, Rafael Vidal, Karol Brasieliro, Rebeca Cravalho, Thays Allane e em especial minha dupla, Igor Carvalho, no qual pude me acompanhar mais intensamente durante os 5 anos de graduação, nunca falhando em prestar ajuda nos momentos mais difíceis do curso e que transformou essa jornada mais leve e divertida, sendo mais que um amigo, um novo irmão. Por fim, agradeço também aos meus amigos que conquistei durante a vida, particularmente à Brenda Sousa e Stênio Arrais, por me ampararem mesmo quando estavam longe, me estimulando a atingir meus objetivos, vibrando com minhas conquistas e prestando todo o apoio ao longo desta jornada.

RESUMO

Introdução: A periodontite se caracteriza por uma inflamação crônica iniciada por bactérias que atingem os tecidos periodontais, causando a destruição do periodonto. A via RANK-RANKL-OPG tem participação na remodelação óssea, porém foi observado que a via WNT estimula a liberação de promotores osteogênicos e podendo auxiliar na regeneração óssea alveolar. O objetivo desta pesquisa foi realizar uma revisão sistemática da literatura científica, buscando elucidar a participação da via WNT na redução da perda óssea por meio da sua ativação. **Materiais e métodos:** Dois revisores realizaram a busca, de forma cega, por meio da combinação de termos: (“Signal WNT” OR “Canonical WNT Pathway” OR “WNT beta Catenin Signaling Pathway” OR “WNT Signaling Pathway” OR “WNT Pathway”) AND (Periodontitis) AND (“Animal Model”), buscas direcionadas por critérios de seleção (PICO) em cinco bases de dados principais (PubMed, Cochrane Library, Science Direct, Scopus e Web of Science) e em duas bases de dados da literatura cinzenta (Google Scholar e Open Grey), além da busca manual. A ferramenta Rayyan foi utilizada para plotar as buscas bibliográficas e selecionar os artigos para a leitura na íntegra de acordo com o título e resumo. Para análise do risco de viés foi utilizado a ferramenta RoB da SYRCLE que é adaptada para estudos animais. **Resultados:** Foram incluídos seis estudos para a revisão sistemática. Todos os estudos analisados são ensaios de experimentação animal e avaliaram aspectos histológicos, imunohistoquímica e morfométricos do osso alveolar. Nos grupos controles foi observado a diminuição dos componentes da via WNT e constatou-se que ocorre a supressão dessa sinalização na fisiopatologia da periodontite. Os grupos tratados com intervenções a fim de ativar a via WNT, demonstraram regeneração e/ou redução da perda óssea alveolar, principalmente ao observar a diminuição de osteoclastos e aumento de volume ósseo durante a progressão da doença. **Conclusão:** A ativação da via WNT, seja por uso de agonistas ou bloqueio dos inibidores da via, permite a expressão de genes promotores da osteogênese em animais submetidos à periodontite experimental, sendo um possível tratamento adjuvante desta doença em humanos após mais estudos relacionados à esta sinalização.

Palavras-chave: Via WNT beta-catenina; periodontite; modelo animal.

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is characterized by a chronic inflammation initiated by bacteria that reach the periodontal tissues, causing the destruction of the periodontium. The RANK-RANKL-OPG pathway participates in bone remodeling, however it was observed that the WNT pathway stimulates the release of osteogenic promoters and may help in alveolar bone regeneration. The objective of this research was to carry out a systematic review of the scientific literature, seeking to elucidate the participation of the WNT pathway in the reduction of bone loss through its activation. **Materials and methods:** Two reviewers performed the search, blindly, through the combination of terms: (“Signal WNT” OR “Canonical WNT Pathway” OR “WNT beta Catenin Signaling Pathway” OR “WNT Signaling Pathway” OR “WNT Pathway”) AND (Periodontitis) AND (“Animal Model”), targeted searches by selection criteria (PICO) in five main databases (PubMed, Cochrane Library, Science Direct, Scopus and Web of Science) and in two databases gray literature (Google Scholar and Open Grey), in addition to manual search. The Rayyan tool was used to plot the bibliographic searches and select the articles for full reading according to the title and abstract. To analyze the risk of bias, the SYRCLE RoB tool was used, which is adapted for animal studies. **Results:** Six studies were included for the systematic review. All studies analyzed are animal experiments and evaluated histological, immunohistochemical and morphometric aspects of the alveolar bone. In the control groups, a decrease in the components of the WNT pathway was observed and it was found that the suppression of this signal occurs in the pathophysiology of periodontitis. The groups treated with interventions to activate the WNT pathway demonstrated regeneration and/or reduction in alveolar bone loss, mainly when observing the decrease in osteoclasts and increase in bone volume during disease progression. **Conclusion:** Activation of the WNT pathway, either by using agonists or blocking the pathway inhibitors, allows the expression of genes that promote osteogenesis in animals submitted to experimental periodontitis, being a possible adjuvant treatment of this disease in humans after further studies related to this disease. signaling.

Keywords: WNT beta-catenin pathway; periodontitis; animal model.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
2	MATERIAIS E MÉTODOS	10
2.1	Protocolo e Registro	19
2.2	Pergunta Foco.....	10
2.3	Estratégia de Busca	11
2.4	Crterios de Elegibilidade e Resultados de Interesse.....	11
2.5	Extração de Dados e Avaliação do Risco de Viés.....	12
3	RESULTADOS	13
3.1	Seleção de Estudos	13
3.2	Características dos Estudos Incluídos	14
3.3	Principais Variáveis de Resultados de Estudos	17
3.4	Resultados Primários: Efeitos das intervenções na Via WNT	17
3.5	Resultados Secundários.....	21
3.6	Avaliação do Risco de Viés.....	24
4	DISCUSSÃO.....	25
5	REFERÊNCIAS	29
	APÊNDICES	33
	Apêndice A - Checklist PRISMA 2020.....	33
	Apêndice B - RoB por SYRCLE.....	34

1 INTRODUÇÃO

A Periodontite é um problema de saúde global, afetando cerca de 20% a 50% da população mundial, atingindo principalmente os indivíduos adultos e idosos de países em desenvolvimento [1]. Ela é caracterizada por uma inflamação crônica com progressiva destruição dos tecidos de suporte dentário: ligamento periodontal, cemento e osso alveolar. Apesar de ser bastante associada ao biofilme bacteriano aderido à superfície dentária [2], a periodontite é entendida como sendo uma doença de etiologia multifatorial, uma vez que fatores ambientais e genéticos podem alterar a resposta do hospedeiro promovendo destruição dos tecidos periodontais [3].

A fisiopatologia da periodontite é bastante complexa. A disbiose estimula uma resposta inflamatória do hospedeiro marcada pela produção de células fagocitárias, liberação de proteases, radicais livres e citocinas que em conjunto promovem a perda de estruturas periodontais [4,5]. A inflamação, apesar de necessária, quando se cronifica, resulta na destruição do tecido periodontal. Durante a resposta inflamatória são secretadas citocinas, principalmente fator de necrose tumoral (TNF-alfa) e interleucinas (IL), que ativam osteoclastos e inativam osteoblastos, células com função de reabsorver e de produzir a matriz óssea, respectivamente [6]. A interação entre resposta inflamatória e perda óssea tem sido amplamente estudada através de uma nova área de pesquisa chamada Osteoimunologia, que ganhou bastante destaque após o melhor entendimento do eixo RANK-RANKL-OPG.

Fisiologicamente, a via RANK-RANKL-OPG regula a remodelação óssea, pois o ligante do receptor ativador do fator nuclear-kappa B (RANKL) e seu receptor RANK estimulam a osteoclastogênese, enquanto a osteoprotegerina (OPG) bloqueia a interação RANK-RANKL e, conseqüentemente, diminui a ativação dos osteoclastos, promovendo a ação dos osteoblastos. No entanto, quando há um processo inflamatório, citocinas pró-inflamatórias aumentam a expressão de RANKL tanto em osteoblastos e osteócitos, quanto em outras células, tais como linfócitos e fibroblastos, havendo assim um desequilíbrio a favor de osteoclastos e, assim, reabsorção óssea [7]. Apesar do seu importante papel na fisiologia do tecido ósseo, estudos mais recentes vêm demonstrando a participação de outras vias de sinalização no metabolismo ósseo, dentre elas se destaca a via WNT.

A sinalização WNT possui três principais vias: a via de polaridade da célula plana, a via WNT/Ca²⁺ e a via canônica ou via dependente de Beta-catenina, sendo esta última a via mais estudada com relação no reparo do tecido ósseo [8]. A via dependente de beta-catenina é regularizada pelas proteínas WNT e os receptores de lipoproteína de baixa densidade LRP5/6

e o receptor de sinalização Frizzled (FZD). Quando estes receptores não estão ligados às proteínas WNT ou estão inibidos com inibidores diretos como o Dickkopf-like 1 (DKK-1) e esclerostina (ECT), isto resulta por ativar o complexo de destruição composta por axina, caseína quinase 1 (CK1), polipose adenomatosa coli (APC) e glicogênio sintase quinase 3 (GSK3), sendo esta última a enzima responsável por fosforilar a beta-catenina, que fica disponível no citoplasma, seguindo para destruição, e com isso, a via é inibida. Entretanto, quando há associação de proteínas WNT com o FZD e LRP, a via é ativada, acarretando na inativação do complexo de destruição, permitindo que a beta-catenina se acumule no citosol e seja translocada para o núcleo, onde irá permitir a transcrição de genes, tais como Runx2, SSP1, DLX5, BMP2, COL1 e BGLAP [9,10]. No tecido ósseo, estudos anteriores demonstraram que esses genes são responsáveis pela formação óssea por estimular a produção e diferenciação das células precursoras de osteoblastos, além de inibir a apoptose de osteoblastos e osteócitos [11]. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática (RS) sobre a participação da via WNT canônica na perda óssea periodontal em animais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Protocolo e registro

Foi realizado uma revisão sistemática (RS) para identificar artigos publicados sobre a relação da via WNT (canônica) com a perda óssea alveolar em animais acometidos com periodontite experimental (PE), seguindo “The Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA)” e registrado na plataforma International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) com registro: CRD42022301878.

2.2 Pergunta foco

A pergunta norteadora foi “A ativação da via WNT exerce função regenerativa da perda óssea alveolar em modelos animais induzidos à periodontite em comparação aos animais que têm essa via inativada?”. A estratégia de busca foi construída de acordo com o Princípio de Populações, Intervenções, Comparação e Resultados (PICO). População (P): animais com periodontite induzida; Intervenções (I): Utilização de ativadores ou bloqueios dos inibidores da via WNT; Intervenção controle (C): animais com periodontite tratados com veículo; e Resultado medido (O): Redução da perda óssea pela ativação da via WNT.

2.3 Estratégia de Busca

Esta RS foi conduzida de acordo com o checklist PRISMA [12], sendo utilizada as seguintes bases de dados eletrônicas foram utilizadas: *PubMed*, *Cochrane Library*, *Science Direct*, *Scopus* e *Web of Science*. Também foram realizadas buscas complementares nas bases de dados de literatura cinzenta: *Google Scholar* e *OpenGrey*. Além disso, também realizou-se uma pesquisa manual de bibliografias e listas de referência dos estudos incluídos para localizar qualquer potencial estudo não identificado durante as pesquisas nas bases de dados. Nos bancos de dados eletrônicos foram pesquisados estudos relevantes publicados até setembro de 2021, período da pesquisa. As publicações pesquisadas foram consideradas sem restrição de data e idioma.

Para a busca de dados foi realizada uma consulta prévia nos Descritores em Ciências da Saúde (*DeCS/Mesh*) para definir os termos em inglês e a combinação a serem utilizados nas bases de dados. Nas bases de dados foram utilizados os operadores booleanos combinados “OR” e “AND”: (“*Signal WNT*” OR “*Canonical WNT Pathway*” OR “*WNT beta Catenin Signaling Pathway*” OR “*WNT Signaling Pathway*” OR “*WNT Pathway*”) AND (*Periodontitis*) AND (“*Animal Model*”). Sendo estes adaptados conforme a configuração exigida por cada base de dados.

2.4 Critérios de Elegibilidade e Resultados de Interesse

Nesta RS foram incluídos estudos de experimentação animal *in vivo* em ratos ou camundongos, que tenham sido induzidos à PE, independente do sexo e idade. Como critérios de inclusão, foram considerados o modelo de indução à periodontite por ligadura ou por defeito ósseo local produzido; estudos que analisam a relação da via WNT na perda óssea alveolar, utilizando agonistas ou bloqueadores dos antagonistas da via WNT independente de protocolos; assim como, artigos nos idiomas em português, inglês ou espanhol e sem restrição de data de publicação.

Neste estudo, foram excluídos todos os artigos de revisão de literatura, ensaios clínicos, relatos de caso e artigos de opinião; estudos com modelos *in vitro* ou *ex vivo*; estudos que utilizaram animais que não fossem ratos ou camundongos; estudos que não fizeram indução de periodontite ou que não induziu por meio de ligadura ou defeito local produzido; estudos em

que os animais apresentassem anomalias dentárias; e, ainda, aqueles que não analisaram a via WNT canônica de modo a verificar suas consequências no tecido ósseo alveolar.

2.5 Extração, Síntese, Análise de Dados e Avaliação do Risco de Viés

Para a realização da seleção dos estudos foi utilizado o *software online Rayyan*, ferramenta que permite a migração de informações das buscas realizadas em cada base de dados, por dois revisores independentes. Assim, foi realizada uma leitura crítica dos títulos e resumos, sendo os artigos selecionados como potencialmente elegíveis de acordo com os critérios de inclusão anteriormente descritos. Os estudos selecionados foram avaliados na íntegra por dois revisores cegamente e, em caso de discordância, houve a avaliação por um terceiro investigador.

Os dados obtidos em cada estudo foram: (1) características gerais de cada estudo: título, resumo, autores, localização e ano de publicação; (2) método: desenho do estudo e grupos experimentais; (3) protocolos de indução da periodontite; (4) detalhes a respeito da intervenção relacionada a via WNT.

Dos modelos animais, foram extraídos a espécie, tamanho da amostra, idade, peso e sexo. A respeito do modo de intervenção, também foram extraídos informações sobre o meio de deleção genética ou que utilizasse substâncias, seja injeção intraperitoneal, injeção local ou gavagem, que tivesse repercussão na via WNT. Também foram extraídas informações sobre exames realizados tais como microtomografia computadorizada (micro-CT); análise histológica em tecido ósseo alveolar; imunohistoquímica para avaliar Dickkopf-1 (DKK1), Esclerostina (ECT), Beta-catenina, RUNX-2, Osteocalcina (OCN), proteínas WNT e qualquer outra substância relacionada com a sinalização WNT. Os dados foram tabulados e resumidos no *Microsoft Word Office* com informações de: autor, ano, país, desenho do estudo, número da amostra, os métodos de indução da periodontite experimental, bem como os resultados da alteração óssea alveolar devido à ativação ou inibição da via WNT dependente de beta-catenina resumidos na tabela 1.

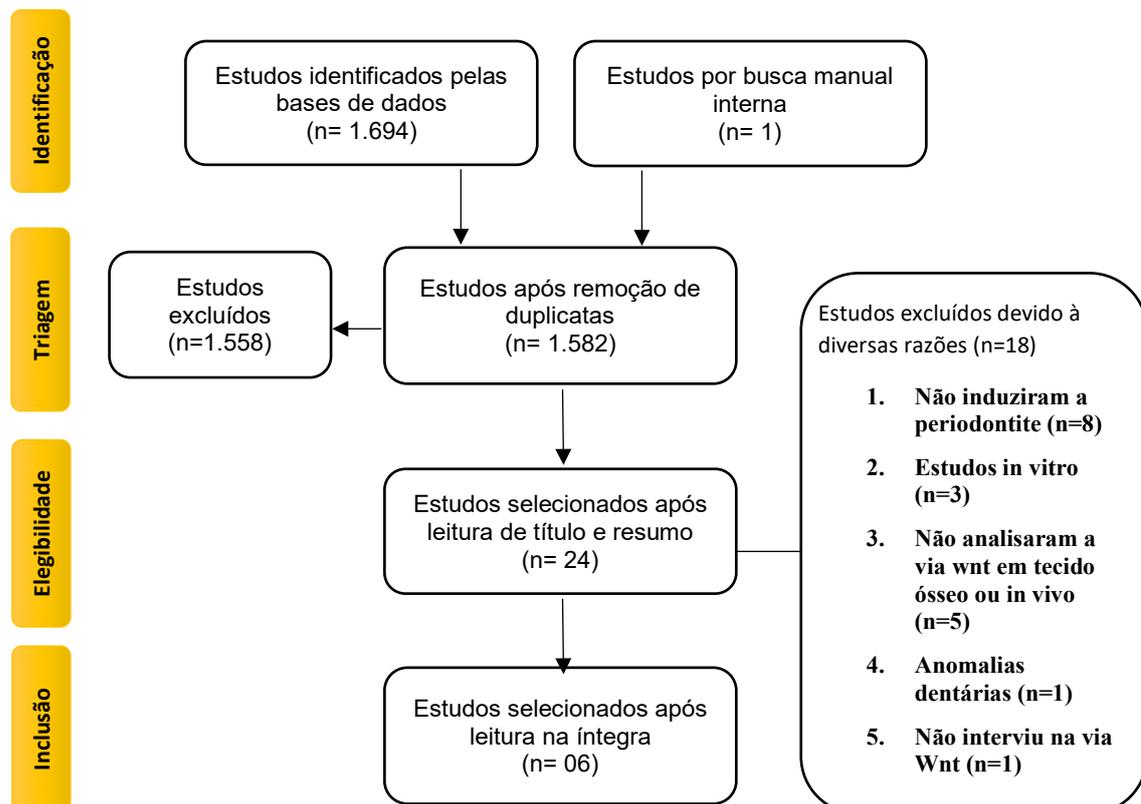
Para a avaliação da qualidade dos estudos de experimentação animal, utilizou-se de uma ferramenta de riscos de viés baseada na Cochrane Collaboration (RoB) e modificada pela SYRCLE, com finalidade de avaliação metodológica em modelos animais [13].

3 RESULTADOS

3.1 Seleção de Estudos

Ao todo foram encontrados 1.694 estudos, destes 113 eram duplicados, resultando em 1.581 artigos. Foram selecionados 23 artigos pelas bases de dados e incluído mais 1 artigo pela busca manual, totalizando em 24 estudos com potencial de elegibilidade. No que diz respeito ao protocolo de indução da periodontite, 8 artigos induziram a periodontite seguindo outro protocolo que não fosse por ligadura ou defeito ósseo local e por isso foram excluídos. Também foram excluídos 3 outros artigos que analisaram a via WNT *in vitro* e 5 artigos que não relacionaram os achados com o tecido ósseo alveolar. Em um outro artigo, os ratos apresentavam anomalias dentárias devido a deleção do gene *Msx2* e em um outro não houve intervenção na via WNT, sendo também excluídos. Desse modo, após a leitura na íntegra dos estudos potencialmente elegíveis, seis estudos seguiram todos os critérios de inclusão (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma PRISMA. Estudos incluídos para avaliação qualitativa com base nos itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e diretrizes de meta-análise.



3.2 Características dos Estudos Incluídos

As informações gerais e características técnicas dos estudos incluídos estão resumidas na Tabela 1. Em relação as intervenções na via WNT, dois estudos usaram anticorpos neutralizantes de Esclerostina (Scl-Ab) como intervenção [14,18], enquanto um outro estudo utilizou o anticorpo neutralizante da proteína 1 relacionada ao frizzled secretado (SFRP1-Ab) [16], que possuem a função de neutralizar os inibidores da via e permitir que esta seja ativada. Dois estudos utilizaram agonistas da via com o intuito de ativá-la, sendo um componente natural, a *Calendula officinalis* (CLO) [18] e o outro estudo usou o Cloreto de Lítio (LiCl) [14]. Um estudo fez a deleção gênica do DKK1, um inibidor direto da via WNT, nos animais como intervenção [17]. Por fim, um estudo utilizou um produto bacteriano, a indirrubina (BIO), que permite a ativação da via ao inibir o a enzima GSK3, que faz parte do complexo de destruição da beta-catenina [15].

A indução da PE se deu principalemnte por meio de ligadura, que consiste em um fio, ao redor do dente dos animais. Três estudos utilizaram o protocolo de PE apenas com a ligadura amarrada ao redor do dente dos animais [17-19], enquanto dois estudos utilizaram ligaduras com lipopolissacarídeos (LPS) de *P. Gingivalis*, que são as bactérias que compõem o biofilme bacteriano que fica aderido aos dentes acometidos com periodontite [15,16]. Apenas um estudo induziu a PE por meio de defeito ósseo localmente produzido [13].

Nos estudos incluídos foram utilizados tanto ratos, como camundongos nas pesquisas, variando as amostras de 24 a 72 animais. Três estudos usaram camundongos C57BL/6 [15,16,17]. Dentre os estudos que utilizaram camundongos, apenas um estudo informou o peso que variou de 20g a 25g, com idades variando de 8 a 12 semanas e apenas um estudo usou camundongos fêmeas [17]. Os demais estudos utilizaram ratos, todos machos, com variação das espécies, no qual um estudo usou ratos *Sprague-Dawley* [18], um estudo usou ratos *Lewis* [14] e um estudo usou ratos *Wistar* [19], com seus pesos variando de 200g a 300g e idade de 9 a 12 semanas.

Todos os artigos selecionados foram publicados no idioma inglês e se tratavam de artigos controlados [14-19]. Os estudos são provenientes da Alemanha [17], Austrália [14], Brasil [19], China [15] e os dois últimos são dos Estados Unidos [16,18]. Em relação ao ano de publicação, o estudo mais antigo foi publicado em 2007 [16] e o mais recente em 2020 [15].

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS

Autor, Ano	Local da Pesquisa	Tipo de Estudo	Amostra (espécie, sexo, idade, peso)	Grupos Experimentais	Protocolo de Indução da Periodontite	Intervenção na Via wnt
GOES et al. 2019	ALEMANHA	ECR	N= 24 (Camundongos C57BL/6, fêmeas, 12 semanas, 20-25g)	4 grupos (n=06 por grupo) <ul style="list-style-type: none"> • Normal Cre - • PE Cre - • Normal Cre+ • PE Cre+ 	Ligadura	Deleção de DKK1 em osteócitos (Cre+).
HAN et al. 2015	AUSTRALIA	ECR	N= 66 (Ratos Lewis, machos, 12 semanas)	5 grupos <ul style="list-style-type: none"> • PE + PBS (Controle) (n=12) • PE + Scl-Ab (n=12) • PE + LiCl (n=18) • PE + LV-Ctnnb (n=12) • PE + LV-GFP (n=12) 	Defeito ósseo localmente produzido	Injeção local de anticorpo de Esclerostina (Scl-Ab), Cloreto de Lítio (LiCl) ou LV-Ctnnb.
LIMA et al. 2017	BRASIL	ECR	N= 72 (Ratos Wistar, machos, 9 semanas, 200 g)	3 grupos (n=24 por grupo) <ul style="list-style-type: none"> • Naive • SAL • CLO 	Ligadura	Gavagem de solução salina ou extrato aquoso de CLO
SHEN et al. 2020	CHINA	ECR	N= 48 (Camundongos C57BL/6, machos, 8 semanas)	4 grupos (n=12 por grupo) <ul style="list-style-type: none"> • Naive • Periodontite (PE) • Periodontite + hidrogel • Periodontite + hidrogel + BIO 	Ligadura + LPS	Injeção de hidrogel com e sem BIO no sulco gengival.

LI et al. 2007	EUA	ECR	N= 66 (Camundongos C57BL /6J, machos, 12 semanas)	4 grupos <ul style="list-style-type: none"> • Controle (n=22) • PE (n=22) • PE + IgG (n=11) • PE + SFRP1-Ab (n=11) 	Ligadura + <i>P. gingivalis</i>	injeções locais de IgG ou SFRP1-Ab
<hr/>						
TAUT et al. 2013	EUA	ECR	N= 54 (Ratos Sprague-Dawley, machos, 9 semanas, 250-300g)	3 grupos <ul style="list-style-type: none"> • Intacto + PBS (n=17) • PE + PBS (n=19) • PE + Scl-Ab (n=18) 	Ligadura	injeções locais de PBS ou Scl-Ab

ECR: Estudo Controlado Randomizado
PE: Periodontite Experimental
CLO: Calendula officinalis (erva)

BIO: 6-Bromoindirubin-3'-oxima

LPS: Lipopolissacarídeo

LV-Ctnnb: Partículas de Lentivírus com gene para beta-Catenina

Scl-Ab: Anticorpo de Esclerostina

Cre+: Deleção de DKK1

3.3 Principais Variáveis de Resultados dos Estudos

Nos parâmetros histológicos e morfométricos ósseos, todos os estudos utilizaram métodos de hematoxilina e eosina (HE) para observação tecido ósseo adjacentes ao local da indução da PE e testes de imunohistoquímica para avaliar agonistas, antagonistas ou ambos na via WNT [14-19]. Um estudo utilizou a coloração Picosirius Red para observar colágeno tipo I e III no tecido conjuntivo adjacente ao defeito ósseo [19]. Quatro estudos utilizaram a micro-CT para avaliação do tecido ósseo [14, 15, 17, 18], dois destes estudos analisaram o volume ósseo (BV/TV) e a densidade mineral óssea (DMO) [17, 18], enquanto um estudo observou além desses parâmetros, o número de trabéculas ósseas (Tb.N) e a espessura trabecular (Tb.Th) [17]. Um estudo utilizou o método TUNEL que tem a função de identificar células em estado de apoptose [16]. Três estudos usaram o teste de fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) para quantificar o número de osteoclastos.

Em relação aos parâmetros imunohistoquímicos, três estudos analisaram as proteínas WNT [14,17,19] e dois observaram a quantidade de beta-catenina [14,19]. Dois estudos observaram a liberação do inibidor direto da via WNT, o DKK1 [17,19]. Alguns estudos analisaram genes osteogênicos promovidos pela via WNT, como o Runx2 [15,17] e a Osteocalcina (OCN) [15,17,18].

3.4 Resultados Primários: Efeitos das intervenções na Via WNT

As informações a respeito dos principais parâmetros ósseos, tecidos periodontais e análises imunohistoquímicas estão resumidas na Tabela 2. A periodontite experimental provoca o aumento da destruição óssea alveolar, de células inflamatórias e de células fagocitárias do tecido ósseo, dos osteoclastos, bem como dos inibidores diretos da via WNT, o DKK1. Além disso, observa-se diminuição de proteínas WNT, como a WNT3a, e da beta-catenina no local acometido com PE [14,19]. Entretanto, todos estudos que utilizaram agonistas ou que impediram a atuação dos inibidores da via WNT, preveniram a degradação ou permitiram a regeneração óssea alveolar [14-19].

O tratamento com deleção ou bloqueio dos inibidores da via WNT, como a deleção de DKK1, permitiu uma maior expressão de genes osteogênicos, Runx2 e OCN, diminuiu citocinas inflamatórias, como TNF-alfa e IL-1B, e elevou os parâmetros ósseos, volume ósseo, densidade mineral óssea e número de trabéculas [16]. Ademais, os estudos que bloquearam os inibidores da via, como o Scl-Ab e anticorpo neutralizante de SFRP1 (SFRP1-Ab) aumentaram

a expressão de reguladores da via, como WNT3a, OCN, Beta-catenina, que são responsáveis pela neoformação do tecido ósseo [14,16,18], além de elevar a expressão de Axin2, o que verificou a regeneração de cimento e fibras colágenas bem orientadas durante a regeneração [14].

O uso de agonistas da via WNT, o LiCl e Partículas de Lentivírus com gene para Beta-catenina (LV-Ctnnb), promoveu a neoformação de cimento, fibras colágenas, regeneração óssea e expressão de reguladores da via WNT, com parâmetros semelhantes ao grupo tratado com Scl-Ab [14]. Também foi utilizado um agente natural como tratamento e que tem a função de agonista da via em estudo, a erva *Calendula officinalis* (CLO), que preveniu a perda óssea em 42,8%, intensificou a expressão de WNT10b e Beta-catenina, enquanto o DKK1 foi reprimido [19].

O tratamento com um agente inibidor competitivo da GSK-3, 6-Bromoindirubin-3'-oxima (BIO), declinou as células inflamatórias e elevou as fibras do ligamento periodontal (LPD), a massa óssea, além de fatores osteogênicos, a fosfatase alcalina (ALP), OCN e Runx2 [15].

TABELA 2. RESULTADOS PRIMÁRIOS

Autor, Ano	Resultados Histológicos e Morfológicos	Resultados da Análise Óssea Alveolar	Resultados da Imunohistoquímica	Conclusão
GOES et al. 2019	<ul style="list-style-type: none"> ↑ BV/TV, BMD, Tb.N, Tb.Th e o número de OSB no PE Cre+; ↓ O número de OSC. 	<ul style="list-style-type: none"> • PE Cre+ teve menor perda óssea (-28,5%), bem como o volume ósseo (-24,6%) comparados ao PE Cre -. 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Runx2, OCN e P1NP no PE Cre+; ↓ TNF, IL-1B, CTX, RANKL e DKK1 no PE Cre+. 	A deleção de DKK1 diminuiu a perda óssea devido à estimulação da via com expressão gênica de neoformação óssea e diminuição da expressão de citocinas inflamatórias.
HAN et al. 2015	<ul style="list-style-type: none"> • Scl-Ab, LiCl e LV-Ctnnb aumentaram a formação de cimento; • Scl-Ab, LiCl e LV-Ctnnb apresentaram fibras colágenas bem orientadas e inseridas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Scl-Ab e LiCl apresentaram osso neoformado, principalmente entre as raízes dos 1º molares. 	<p style="text-align: center;">Scl-Ab, LiCl e LV-Ctnnb</p> <ul style="list-style-type: none"> ↑ Expressão de ALP, CEMP 1 e CAP; ↑ Expressão de Axin2, Wnt3a e Beta-Catenina. 	O uso de meios de ativação da via WNT permitiram que houvesse regeneração do cimento e das fibras do LPD, além da regeneração óssea.
LIMA et al. 2017	<ul style="list-style-type: none"> • CLO preveniu em 42,8% a perda óssea; • CLO permitiu a conservação das fibras colágenas. 	<ul style="list-style-type: none"> • CLO manteve a topografia óssea mais regular e apresentou menos reabsorção alveolar. 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Células imunopositivas para WNT10b , Beta-Catenina, GSH, SOD e CAT; ↓ Expressão de DKK1 e MDA. 	O CLO exibiu efeito antirreabsortivo, preservou as fibras de colágeno e apresentou atividade antioxidante com participação da via de sinalização WNT.
SHEN et al. 2020	<ul style="list-style-type: none"> ↑ BIO melhorou a massa óssea em área de furca; • O BIO teve um menor infiltrado inflamatório e apresentou fibras do LPD mais ordenadas. 	<ul style="list-style-type: none"> • BIO apresentou melhora na regeneração da altura óssea alveolar, ficando próxima do grupo Naive. 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Células positivas de ALP, OCN e Runx2 em comparação ao grupo PE. 	O uso de hidrogel + BIO promoveu a regeneração óssea alveolar por meio da via WNT, comprovado pelos marcadores ósseos expressos.

LI et al.
2007



SFRP1-Ab:Fibroblastos apoptóticos (1.19 ± 0.15), de células inflamatórias e de OSC (50.0 ± 11.8).

- SFRP1-Ab minimizou a perda óssea alveolar (0.256 ± 0.024 mm) na região mesio-palatina em comparação ao PE+IgG (0.343 ± 0.019 mm).

- O grupo SFRP1-Ab teve uma redução significativa de SRFP1. Enquanto PE+IgG apresentou um aumento da expressão de SRFP1.

O SFRP1 é expresso pelas células inflamatórias e sua inibição permitiu a regulação positiva da via WNT, o que diminuiu a perda alveolar ocasionada pela periodontite.

TAUT et al. 2013



Scl-Ab esclerostina dentro das lacunas, canalículos e espaços medulares do osso alveolar dos maxilares;

- Não modificou o número de OSC.

- Scl-Ab recuperou a perda óssea linear;
- Scl-Ab teve Volume ósseo e densidade mineral do tecido semelhante ao grupo Intacto.



Scl-Ab aumentou a taxa de Calceína, OCN e P1NP;



Scl-Ab acumulou esclerostina.

O Scl-Ab induz a resposta anabólica do osso alveolar, pois neutraliza a esclerostina e aumenta a diferenciação das células precursoras de osteoblastos.

OSB: Osteoblastos

Cre+: Deleção de DKK1

BMD: Densidade Mineral óssea

Tb.Th: Espessura trabecular

CLO: Calendula officinalis

OSC: Osteoclastos

BV / TV: volume ósseo trabecular por volume total

Tb.N: Número de trabéculas

ALP: Fosfatase Alcalina

OCN: Osteocalcina

LiCl: Cloreto de Lítio

Scl-Ab: Anticorpo de Esclerostina

BIO: 6-Bromoindirubin-3'-oxima (indirubina)

LV-Ctnnb: Partículas de Lentivírus com gene para Beta-Catenina

SFRP1-Ab: Anticorpo de proteína 1 relacionada ao frizzled secretada

SOD: superóxido dismutase

GSH: Glutathiona reduzida

CAT: catalase

MDA: malondialdeído

3.5 Resultados Secundários

Os resultados relacionados ao tipo de indução da PE, intervenção da via WNT e a duração de ambas intervenções estão resumidas na tabela 3. Todos os estudos que induziram a PE por ligadura, a aplicaram no 2º molar superior [15-19], sendo a maioria no lado esquerdo [16-19]. Ademais, um estudo induziu a PE bilateralmente [15] e um outro estudo induziu também no 1º molar superior esquerdo [18].

Dois estudos utilizaram ligadura de seda modelo 5-0 [15,16], enquanto um estudo usou modelo 3-0 [18] e outro estudo utilizou o 000 [19]. A duração do tempo de indução da PE variou de 0 a 56 dias.

Em relação aos modos de intervenção na via WNT, um estudo utilizou animais transgênicos com deleção de inibidor da via [17]. Quatro estudos usaram bloqueadores de inibidores da via [14,15,16,18], no qual um dos estudos, além do bloqueio do inibidor, também fez uso de dois agonistas da via [14]. Um estudo realizou a intervenção apenas com agonista da via [19]. A duração das intervenções da via teve variação de 2 a 56 dias.

TABELA 3. RESULTADOS SECUNDÁRIOS

Autor, Ano	Modo e região de indução da Periodontite	Duração da Periodontite Experimental (dias)	Modo de intervenção na Via WNT	Duração da intervenção (dias)
GOES et al. 2019	Ligadura estéril (6-0) em torno da área cervical dos 2º Molares esquerdos superiores.	11 dias	Uso de camundongos transgênicos com deleção específica de DKK1 em osteócitos.	–
HAN et al. 2015	Foi criado um defeito periodontal por meio de broca dentária sob irrigação. O LPD e cimento na superfície da raiz do dente foram removidos.	28 dias	Scl-Ab: 25 mg/kg LiCl: 149 mg/kg LV-Ctnnb: 1x10 ⁹ partículas <ul style="list-style-type: none"> foram administrados diariamente entre os 1º e 2º molares inferiores direitos. 	14 dias
LIMA et al. 2017	Ligadura esterilizada (000) foi colocada na cervical do 2º molar superior esquerdo.	11 dias	Grupo SAL: 0,9% de solução salina na dose de 2 ml/kg; Grupo CLO: 90 mg/kg de extrato; <ul style="list-style-type: none"> 30 min antes da PE e diariamente, por meio de gavagem. 	10 dias
SHEN et al. 2020	Uma ligadura de seda (5-0) nos 2º molares superiores bilateralmente. 10 µL de LPS de Pg foi injetado no sulco gengival três vezes (uma vez a cada dois dias).	14 – 56 dias	Uma semana após a injeção de LPS, 10 µL do hidrogel com ou sem BIO foram injetados no sulco gengival vestibular dos 2º molares superiores.	7 – 56 dias

LI et al. 2007	Uma ligadura de seda (5-0) encrustada com LPS de PG foi colocada nos 2º molares superiores esquerdos.	0 – 10 dias	injeções de SFRP1-Ab (30 µg) foram aplicadas submucosa à gengiva interproximal palatina entre o 1º e o 2º molar, e entre o 2º e o 3º molar, com total de 3 aplicações.	2 - 10 dias
-------------------	---	-------------	--	-------------

TAUT et al. 2013	Uma ligadura de seda (3-0) foi colocada nos 1º e 2º molares superiores esquerdos. E foram removidas após 4 semanas.	28 dias	Scl-Ab foi injetado em três locais do tecido gengival palatino (5 µL de uma solução de 35,6 mg/mL por local) 2x/semana.	21 - 42 dias
------------------	---	---------	---	--------------

LPD: Ligamento Periodontal

LPS: Lipopolissacarídeo

Pg: Porphyromonas gingivalis

Scl-Ab: Anticorpo de Esclerostina

BIO: 6-Bromoindirubin-3'-oxima (indirubina)

LiCl: Cloreto de Lítio

SFRP1: A proteína 1 relacionada ao frizzled secretada

-- : Não se aplica

LV-Ctnnb: Partículas de Lentivírus com gene para Beta-catenina

3.6 Avaliação do Risco de Viés

A avaliação do risco de viés dos estudos incluídos foi utilizada a ferramenta RoB para estudos de intervenção em animais (ferramenta SYRCLE RoB) e esta representada pela Figura 2. Em relação a geração de sequência, quatro estudos foram classificados como pouco claros no risco de viés, pois relataram que os animais foram divididos em grupos aleatoriamente, porém não descreveram detalhes de como isso foi feito [15,16,17,19]. Enquanto dois estudos tiveram alto risco de viés por não citarem se houve aleatoriedade durante a alocação dos animais em seus respectivos grupos [14,18].

Sobre as características base dos animais no início dos experimentos, três estudos tiveram baixo risco de viés [15,17,19], dois estudos não forneceram informações suficientes aos animais para determinar a semelhança [14,18] e um estudo foi classificados com alto risco de viés porque utilizou animais com idades diferentes [16].

A respeito da ocultação de alocação, dois estudos foram pouco claros por citarem as características dos locais de alocação dos animais, porém não informaram o modo de ocultação [17,19]. O restante dos estudos não informaram quaisquer informações sobre a ocultação de alocação [14,15,16,18]. Todos os seis estudos tiveram alto risco de viés relacionado à habitação aleatória, pois não informaram se esta foi realizada [14-19].

A respeito do cegamento de desempenho, três estudos apresentaram alto risco de viés porque os autores dos estudos que realizaram as intervenções nos animais [17-19], e os demais estudos foram pouco claros a respeito do cegamento dos investigadores durante as intervenções [14-16].

Em relação a avaliação dos resultados aleatoriamente, apenas um estudo relatou que os resultados foram medidos por um avaliador de modo cego [17], em contrapartida, os cinco estudos restantes não relataram a respeito deste parâmetro [14,15,16,18,19]. Dois estudos tiveram baixo risco de viés em relação ao cegamento do avaliador [17,19], enquanto os outros estudos não apresentaram informações sobre o avaliador ou, o avaliador participou de toda a pesquisa [14,15,16,18]. Em relação aos resultados incompletos, resultados seletivos e outras fontes de viés, todos os estudos apresentaram baixo risco.

FIGURA 2. AVALIAÇÃO DE RISCO DE VIÉS

	GOES et al. 2019	HAN et al. 2015	LIMA et al. 2017	SHEN et al. 2020	LI et al. 2007	TAUT et al. 2013	
	?	!	?	?	?	!	Geração de sequência
	+	?	+	+	!	?	Características base
	?	!	?	!	!	!	Ocultação de alocação
	!	!	!	!	!	!	Habitação aleatória
	!	?	!	?	?	!	Cegamento (viés de desempenho)
	+	!	!	!	!	!	Avaliação de resultado aleatório
	+	!	+	!	!	!	Cegamento (viés de detecção)
	+	+	+	+	+	+	Dados de resultados incompletos
	+	+	+	+	+	+	Relatório de resultado seletivo
	+	+	+	+	+	+	Outras fontes de viés

4. DISCUSSÃO

Os estudos incluídos nesta RS mostraram que a via WNT é afetada pela fisiopatologia da periodontite e que sua ativação permite que haja regeneração óssea alveolar, além dos demais tecidos periodontais, como o cemento e fibras colágenas.

Verificou-se que durante a progressão da PE, houve aumento no número de osteoclastos, além do infiltrado inflamatório característico que promovem a degradação tecidual [15,17], também havendo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF, IL-1B e RANKL [17], no qual o TNF e a IL-1B fazem o papel de desativar os osteoblastos, além de aumentar a liberação de RANKL. Este permite uma maior formação de osteoclastos e,

consequentemente, aumento da reabsorção óssea [20]. Dois estudos observaram a diminuição das proteínas WNT3a, WNT10b e beta-catenina nos grupos controles [14,19], reforçando a ideia que a fisiopatologia da PE acarreta na inativação da via e impede o reparo ósseo. Além disto, é observando aumento de proteínas que interferem na via alvo desta RS devido às citocinas pró-inflamatórias.

Estudos já relataram níveis altos de inibidores da via WNT em biópsias de tecidos acometidos com PE, dentre eles estão: a esclerostina (ECT) e DKK1. A ECT é aumentada na PE devido às citocinas IL-1B e TNF-alfa, cujo TNF-alfa, devido ao mecanismo dependente de NF-KB, se liga à região promotora do SOST e acarreta na liberação da ECT pelos osteócitos [21]. Desse modo, dois estudos utilizaram o anticorpo neutralizante de esclerostina (Scl-Ab) como tratamento da PE [14,18]. Esse método de tratamento é empregado na terapêutica de osteoporose pós-menopausa por reduzir os riscos de fraturas [22]. Um estudo observou o aprisionamento da ECT dentro dos osteócitos no grupo tratado com Scl-Ab, o que não ocorreu no grupo controle, tratado apenas com veículo. O grupo tratamento apresentou uma melhora na massa e densidade óssea, diferentemente do grupo controle [18], o que também foi visto no estudo que utilizou a mesma modalidade de tratamento [14]. Assim, sugere-se que os grupos tratados com Scl-Ab não tiveram liberação do inibidor por parte dos osteócitos e, com isso, a via conseguiu ser ativada e promoveu a regeneração alveolar.

O DKK1, um outro inibidor direto da via, também secretado pelos osteócitos. O seu fator inibitório tem ação catabólica e diminui o OPG, provocando o desequilíbrio da homeostase óssea [21]. Sendo assim, um estudo fez a deleção gênica de DKK1 em camundongos e observou-se que o grupo PE/Cre+ (deleção de DKK1) apresentou menor perda óssea, bem como melhor volume ósseo, densidade óssea, maior espessura e número de trabéculas quando comparados ao grupo PE/Cre- (sem deleção de DKK1) [17]. Ademais, os inibidores desta via não são os únicos fatores responsáveis pela inativação. Há também a ação de antagonistas, como a proteína 1 relacionada ao *frizzled* secretada (SFRP1), um antagonista competitivo das proteínas WNT, encontrado principalmente no epitélio gengival acometido com PE e localizado no interior de fibroblastos e células inflamatórias [23,24]. Um estudo fez uso do anticorpo neutralizante da proteína 1 relacionada ao *frizzled* secretada (SFRP1-Ab) que apresentou uma redução do inibidor alvo, de osteoclastos e de fibroblastos apoptóticos. Este estudo também diminuiu a perda óssea, com maior redução em área méso-palatina dos 2º molares superiores esquerdos quando comparado ao grupo tratado apenas com IgG [16].

Interromper as enzimas que promovem a degradação da beta-catenina é outro modo de promover a ativação da sinalização WNT. A indirubina (BIO) é um subproduto bacteriano

com poder anti-inflamatório e que é capaz de inibir a GSK-3, que faz parte do complexo de destruição da beta-catenina e acaba por inibir a via canônica [25]. Um dos estudos fez a injeção de BIO no sulco gengival do local onde houve indução da PE no grupo tratamento, apresentando dados com melhora da massa óssea, principalmente em área de furca, assim como os estudos anteriormente citados [15]. Com isso, os resultados apresentados por meio dos estudos que utilizaram tratamento com finalidade de bloqueio dos inibidores da via WNT, corroboram que esta via tem papel importante na regeneração tecidual quando ativada. Porém, há outros métodos de tratamento, como uso de substâncias agonistas da sinalização.

Um estudo fez uso além do tratamento com Scl-Ab, um grupo tratado com Cloreto de Lítio (LiCl) [14], um agonista da via, administrado localmente, visto que o LiCl é um supressor da inflamação e induz o acúmulo de beta-catenina no citoplasma, permitindo a ativação da sinalização WNT/beta-catenina [26]. Os resultados apresentados no estudo mostraram parâmetros semelhantes no grupo tratado com o Scl-Ab, com melhora dos parâmetros ósseos. Um estudo utilizou um extrato de planta, a *Calendula officinalis* (CLO), como tratamento da PE [19]. O extrato de CLO possui propriedades fitoterápicas de ação antirreabsortiva, anti-inflamatória e cicatrizante, com estudos clínicos anteriores em que o enxaguatório bucal a 10% preservou o tecido ósseo após extrações de 3º molares [27]. O grupo PE+CLO preveniu a perda óssea em 42,8% e conservou as fibras colágenas, além de aumentar a expressão de WNT10b, beta-catenina e diminuir o DKK1, o que sugere que o CLO viabiliza a ativação da via WNT/beta-catenina [19]. Isto ratifica que diferentes modalidades de tratamento, uso de bloqueadores e uso de agonistas, mas com a mesma finalidade de acionar a via, apresenta resultados promissores de preservação e regeneração do alvéolo acometido com PE.

Todos os estudos desta RS que fizeram uso de tratamento da PE, promoveram a expressão de genes promotores de osteogênese [14-19]. Em dois estudos [15,17] foram observados o aumento do fator de transcrição, RUNX2, que é expresso por condrócitos e osteoblastos, tendo a finalidade de promover a diferenciação de células precursoras de osteoblastos e na formação do tecido ósseo intramembranoso e endocondral [28]. A osteocalcina (OCN) é uma proteína abundante no osso, sendo produzida principalmente pelos osteoblastos no momento de formação óssea, o que o torna um importante marcador de regeneração óssea [29]. Três estudos apresentaram resultados de aumento dessa proteína nos grupos tratamentos, consolidando o papel de regeneração óssea promovida pela ativação da via [15,17,18]. Um estudo [14] analisou o aumento de Axin2 que, além de comprovar a ativação da via WNT por ser um gene alvo desta sinalização, é expressa durante a formação de cimento

[30,31] e de proteína de cimento 1 (CEMP1) também relacionada com a produção de cimento [32], comprovando com os achados deste estudo, visto que os grupos tratamentos apresentaram fibras colágenas orientadas e inseridas, além do aumento da expressão de proteínas WNT3a e beta-catenina [14]. Dois estudos também tiveram um aumento da fosfatase alcalina (ALP) [14,15] que indica a deposição óssea, visto que essa enzima é responsável pela calcificação do osso recém-formado [33]. Dois estudos também observaram o aumento de propeptídeo aminoterminal do procolágeno tipo 1 (P1NP) [17,18] que é sintetizado pelos osteoblastos e serve como marcador das taxas de formação óssea e do colágeno [34].

Os pontos fortes desta revisão foi que a maioria dos estudos [16-19] induziram a PE nos 2º molares superiores, mantendo a padronização das intervenções e poder comparar os efeitos anti-reabsortivos dos tratamentos de modo mais significativo. Além disso, apesar da curta variação de tempo de indução da PE e dos tratamentos, ambos de 0 a 8 semanas, as intervenções durante esses períodos já demonstraram resultados promissores ao ativar a sinalização WNT. Os estudos incluídos utilizaram animais jovens de duas espécies, ratos e camundongos, sendo a maioria macho, exceto um estudo que utilizou camundongos fêmeas [17]. Assim, a heterogeneidade permitiu observar melhor as mudanças ocorridas em mais de uma espécie e em ambos os sexos, porém faz-se necessário estudos em animais idosos, visto que essa é a faixa etária mais acometida com PE e observar se o organismo desses animais tem a capacidade de regeneração alveolar semelhante aos animais jovens.

As limitações dessa RS se deram pelo fato das análises de micro-CT terem sido realizadas, mas que apenas dois estudos, analisaram parâmetros mais específicos como BV/TV e densidade óssea [17,18]. Além de que, os resultados de imuno-histoquímica também apresentaram diferentes parâmetros, pois os estudos tiveram variação nos genes e proteínas observados. A maioria dos estudos incluídos também forneceram poucas informações a respeito dos métodos de cegamento da alocação, das intervenções e análise dos resultados, no qual apenas um estudo teve menos risco de viés [17].

Apesar dos diferentes parâmetros analisados em cada estudo, estes demonstraram que a fisiopatologia da PE acarreta na supressão da via WNT/beta-catenina e que as intervenções com finalidade de ativar a sinalização WNT, promoveram a liberação de promotores osteogênicos, além de diminuir a ação inflamatória e células reabsortivas do tecido ósseo. Desse modo, os efeitos da ativação da via WNT/beta-catenina analisadas nesta revisão sistemática mostram os benefícios de ativação da via WNT em condições de periodontite em modelos animais, podendo se tornar uma terapia adjuvante na periodontite em humanos.

REFERÊNCIAS

1. NAZIR, M. A. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. **International journal of health sciences**. 11(2), 72–80. 2017.
2. FISCHER, R.G.; LIRA JUNIOR, R.; RETAMAL-VALDES, B.; FIGUEIREDO, L.C.; MALHEIROS, Z.; STEWART, B.; FERES, M. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section V: Treatment of periodontitis. **Braz Oral Res**. 2020.
3. VAN DYKE, T. E.; DAVE, S. Risk factors for periodontitis. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 7, n. 1, p. 3, 2005.
4. RAMIRES, J.A.F.; CÉSAR, L.A.M.; FERREIRA, J.M.F. Insuficiência coronariana crônica. **Rev Bras Med**. 2003; 60(7): 415–28.
5. KINANE, D.F.; PRESHAW, P.M.; LOOS, B. G.Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **J Clin Periodontol**. 2011; 38 (Suppl.11): 44–48.
6. REDLICH, K.; SMOLEN, J. S. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. **Nature reviews Drug discovery**, v. 11, n. 3, p. 234-250, 2012.
7. ROSKAMP, L.; VAZ, R. S.; LIMA, J.H.C. Fatores imunológicos envolvidos na reabsorção de tecido duro na doença periodontal. **Rev. bras. alerg. imunopatol**, p. 250, 2006.
8. HOUSCHYAR, K. S.; TAPKING, C.; BORRELLI, M. R.; POPP, D.; DUSCHER, D.; MAAN, Z. N.; BEHR, B. et al. Wnt pathway in bone repair and regeneration—what do we know so far. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 6, p. 170, 2019.
9. LERNER U.H.; OHLSSON, C. The WNT system: background and its role in bone. **J Intern Med**. Jun;277(6):630-49. 2015.
10. HONG, G.; HE, X.; SHEN, Y.; CHEN, X.; YANG, F.; YANG, P.; WEI, Q. et al. Chrysofenetin promotes osteoblastogenesis of bone marrow stromal cells via Wnt/ β -catenin pathway and enhances osteogenesis in estrogen deficiency-induced bone loss. **Stem cell research & therapy**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2019.
11. LIU, X.; ZHANG, Z.; PAN, S.; SHANG, S.; LI, C. Interaction between the Wnt/ β -catenin signaling pathway and the EMMPRIN/MMP-2, 9 route in periodontitis. **J Periodontal Res**. ;53(5):842-852. 2018.

12. PAGE, M. J.; MCKENZIE, J. E.; BOSSUYT, P. M.; BOUTRON, I.; HOFFMANN, T. C.; MULROW, C. D. MOHER, D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Bmj*, v. 372, 2021.
13. HOOIJMANS, Carlijn R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC medical research methodology**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2014.
14. HAN, P.; IVANOVSKI, S.; CRAWFORD, R.; XIAO, Y. Activation of the canonical Wnt signaling pathway induces cementum regeneration. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 7, p. 1160-1174, 2015.
15. SHEN, S.; ZHANG, Y.; ZHANG, S.; WANG, B.; SHANG, L.; SHAO, J.; GE, S. et al. 6-bromoindirubin-3'-oxime promotes osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells and facilitates bone regeneration in a mouse periodontitis model. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 7, n. 1, p. 232-241, 2020.
16. LI, C. H.; AMAR, Salomon. Inhibition of SFRP1 reduces severity of periodontitis. **Journal of dental research**, v. 86, n. 9, p. 873-877, 2007.
17. GOES, P.; DUTRA, C.; LÖSSER, L.; HOFBAUER, L. C.; RAUNER, M.; THIELE, S. Loss of Dkk-1 in osteocytes mitigates alveolar bone loss in mice with periodontitis. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 2924, 2019.
18. TAUT, Andrei D. et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 28, n. 11, p. 2347-2356, 2013.
19. LIMA, M. D. R.; LOPES, A. P.; MARTINS, C.; BRITO, G. A.; CARNEIRO, V. C.; GOES, P. The effect of *Calendula officinalis* on oxidative stress and bone loss in experimental periodontitis. **Frontiers in physiology**, v. 8, p. 440, 2017.
20. HIENZ, S.A.; PALIWAL, S.; IVANOVSKI, S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. **Journal of immunology research**, v. 2015, 2015.
21. HUANG, X.; XIE, M.; XIE, Y.; MEI, F.; LU, X.; LI, X.; CHEN, L. The roles of osteocytes in alveolar bone destruction in periodontitis. **Journal of Translational Medicine**, v. 18, n. 1, p. 1-15, 2020.
22. IOLASCON, G.; MORETTI, A.; TORO, G.; GIMIGLIANO, F.; LIGUORI, S.; PAOLETTA, M. Pharmacological therapy of osteoporosis: what's new?. **Clinical interventions in aging**, v. 15, p. 485, 2020.
23. GOPINATHAN, G.; FOYLE, D.; LUAN, X.; DIEKWISCH, T. G. The Wnt antagonist SFRP1: a key regulator of periodontal mineral homeostasis. **Stem cells and development**, v. 28, n. 15, p. 1004-1014, 2019.

24. CHI, Y. T.; XU, C. J.; SUN, X. J.; LI, D. M.; WANG, H. F.; WANG, M. M.; HE, X. F. Expression and significance of secreted frizzled-related protein 1 and β -catenin in gingival tissue of patients with chronic periodontitis. **West China journal of stomatology**, v. 36, n. 3, p. 257-261, 2018.
25. LAI, J. L.; LIU, Y. H.; LIU, C.; QI, M. P.; LIU, R. N.; ZHU, X. F.; HU, C. M. Indirubin inhibits LPS-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF-kB and MAPK signaling pathways. **Inflammation**, v. 40, n. 1, p. 1-12, 2017.
26. HAO, H. P.; WEN, L. B.; LI, J. R.; WANG, Y.; NI, B.; WANG, R.; MAO, X. LiCl inhibits PRRSV infection by enhancing Wnt/ β -catenin pathway and suppressing inflammatory responses. **Antiviral research**, v. 117, p. 99-109, 2015.
27. URIBE-FENTANES, L. K.; SORIANO-PADILLA, F.; PÉREZ-FRUTOS, J. R.; VERAS-HERNANDEZ, M. A. Action of Calendula officinalis essence on bone preservation after the extraction. **Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 56, n. 1, p. 98-105, 2016.
28. ZIROS, P. G.; BASDRA, E. K.; PAPAVALASSILOU, A. G. Runx2: of bone and stretch. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 40, n. 9, p. 1659-1663, 2008.
29. MIZOKAMI, A.; KAWAKUBO-YASUKOCHI, T.; HIRATA, M. Osteocalcin and its endocrine functions. **Biochemical pharmacology**, v. 132, p. 1-8, 2017.
30. YU, H. M. I.; JERCHOW, B.; SHEU, T. J.; LIU, B.; COSTANTINI, F.; PUZAS, J. E.; HSU, W. The role of Axin2 in calvarial morphogenesis and craniosynostosis. 2005.
31. LIM, W. H.; LIU, B.; CHENG, D.; WILLIAMS, B. O.; MAH, S. J.; HELMS, J. A. Wnt signaling regulates homeostasis of the periodontal ligament. **Journal of periodontal research**, v. 49, n. 6, p. 751-759, 2014.
32. MONTOYA, G.; CORREA, R.; ARENAS, J.; HOZ, L.; ROMO, E.; ARROYO, R.; ARZATE, H. Cementum protein 1-derived peptide (CEMP 1-p1) modulates hydroxyapatite crystal formation in vitro. **Journal of Peptide Science**, v. 25, n. 10, p. e3211, 2019.
33. VIMALRAJ, S. Alkaline phosphatase: structure, expression and its function in bone mineralization. **Gene**, v. 754, p. 144855, 2020.
34. TAKADA, J.; DINAVAHI, R.; MIYAUCHI, A.; HAMAYA, E.; HIRAMA, T.; LIBANATI, C.; GRAUER, A. Relationship between P1NP, a biochemical marker of bone turnover, and bone mineral density in patients transitioned from alendronate to

- romosozumab or teriparatide: a post hoc analysis of the STRUCTURE trial. **Journal of bone and mineral metabolism**, v. 38, n. 3, p. 310-315, 2020.
35. MOURAD O.; HOSSAM H.; ZBYS F.; AHMED E. RAYYAN — a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*. 5:210. 2016.

APÊNDICES

APÊNDICE A - PRISMA CHECKLIST 2020.



PRISMA 2020 Checklist

Section and Topic	Item #	Checklist Item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	1
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	32
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	7
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	8
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	9 - 10
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	9
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	9
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	10
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	10-11
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	10
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	10
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	10
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	Not applicable
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	10-11
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	Not applicable
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	10-11
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	Not applicable
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	Not applicable
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	Not applicable
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	Not applicable
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	Not applicable
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	11-12
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	11-12
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	12-13
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	23-24
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	16-22
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	16-24
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	Not applicable
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	16-22
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	Not applicable
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	23-24
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	Not applicable
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	24-27
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	27
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	27
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	27
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	8
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	8
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	Not applicable
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	Not applicable
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	Not applicable
Availability of data, code, and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	Not applicable

APÊNDICE B - FERRAMENTA ROB MODIFICADA PELA SYRCLE PARA AVALIAÇÃO DE ESTUDOS ANIMAIS.

SYRCLE's tool for assessing risk of bias

Item	Type of bias	Domain	Description of domain	Review authors judgment
1	Selection bias	Sequence generation	Describe the methods used, if any, to generate the allocation sequence in sufficient detail to allow an assessment whether it should produce comparable groups.	Was the allocation sequence adequately generated and applied? (*)
2	Selection bias	Baseline characteristics	Describe all the possible prognostic factors or animal characteristics, if any, that are compared in order to judge whether or not intervention and control groups were similar at the start of the experiment.	Were the groups similar at baseline or were they adjusted for confounders in the analysis?
3	Selection bias	Allocation concealment	Describe the method used to conceal the allocation sequence in sufficient detail to determine whether intervention allocations could have been foreseen before or during enrolment.	Was the allocation adequately concealed? (*)
4	Performance bias	Random housing	Describe all measures used, if any, to house the animals randomly within the animal room.	Were the animals randomly housed during the experiment?
5	Performance bias	Blinding	Describe all measures used, if any, to blind trial caregivers and researchers from knowing which intervention each animal received. Provide any information relating to whether the intended blinding was effective.	Were the caregivers and/or investigators blinded from knowledge which intervention each animal received during the experiment?
6	Detection bias	Random outcome assessment	Describe whether or not animals were selected at random for outcome assessment, and which methods to select the animals, if any, were used.	Were animals selected at random for outcome assessment?
7	Detection bias	Blinding	Describe all measures used, if any, to blind outcome assessors from knowing which intervention each animal received. Provide any information relating to whether the intended blinding was effective.	Was the outcome assessor blinded?
8	Attrition bias	Incomplete outcome data	Describe the completeness of outcome data for each main outcome, including attrition and exclusions from the analysis. State whether attrition and exclusions were reported, the numbers in each intervention group (compared with total randomized animals), reasons for attrition or exclusions, and any re-inclusions in analyses for the review.	Were incomplete outcome data adequately addressed? (*)
9	Reporting bias	Selective outcome reporting	State how selective outcome reporting was examined and what was found.	Are reports of the study free of selective outcome reporting? (*)
10	Other	Other sources of bias	State any important concerns about bias not covered by other domains in the tool.	Was the study apparently free of other problems that could result in high risk of bias? (*)

*Items in agreement with the items in the Cochrane Risk of Bias tool.