



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**LIOVA CHABOT DÍAZ**

**ADMINISTRAÇÃO DE NALTREXONA EM ALTA DOSE APRESENTA EFEITO  
CICATRIZANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO EM ÚLCERAS TRAUMÁTICAS  
ORAIS NA MUCOSA JUGAL DE RATOS WISTAR**

**FORTALEZA**

**2022**

LIOVA CHABOT DÍAZ

**ADMINISTRAÇÃO DE NALTREXONA EM ALTA DOSE APRESENTA EFEITO  
CICATRIZANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO EM ÚLCERAS TRAUMÁTICAS  
ORAIS NA MUCOSA JUGAL DE RATOS WISTAR**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica; Área Temática: Estomatopatologia Oral

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

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

---

C421a Chabot Díaz, Liova Amaru.

Administração de naltrexona em alta dose apresenta efeito cicatrizante e anti-inflamatório em úlceras traumáticas orais na mucosa jugal de ratos wistar / Liova Amaru Chabot Díaz. – 2022.  
65 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Mestrado Profissional em Saúde da Família, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa.

1. Cicatrização. 2. Inflamação. 3. Naltrexona. 4. Receptores Opioides. 5. Úlceras Oraís. I. Título.

CDD 610

---

LIOVA CHABOT DÍAZ

ADMINISTRAÇÃO DE NALTREXONA EM ALTA DOSE APRESENTA EFEITO  
CICATRIZANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO EM ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS NA  
MUCOSA JUGAL DE RATOS WISTAR

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de Concentração: Clínica Odontológica; Área Temática: Estomatopatologia Oral.

Aprovada em 19/08/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Fabricio Bitu Sousa (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Thinali Sousa Dantas  
Centro Universitário Christus ( UNICHRISTUS)

*"A ti, dulce ausente, a cuya sombra propicia  
floreció poco a poco este libro. A aquella luz  
clarísima de tus ojos que para el caminar de la  
escritura lo alumbraron siempre de esperanza, y  
también a la paz blanca y fría de tus dos manos  
cruzadas que no habrán de hojearlo nunca,  
lo dedico". Ana Teresa de la Parra.*

A mi abuela, Ana Serrano,

A ma grand-mère, Marcelle Chabot.

## AGRADECIMENTOS

Esta dissertação representa o primeiro resultado acadêmico de um projeto pessoal que se iniciou há anos, quando compreendi que o perfil de formação profissional que aspirava, desafortunadamente, não podia ser provido no meu país de origem no contexto histórico atual. Com essa realidade, comecei a busca de oportunidades de pós-graduação além da Venezuela.

Agradeço ao Brasil por ter sido o país receptor, principalmente às instituições que viabilizaram esta oportunidade: a Organização dos Estados Americanos, O Grupo de Cooperação Internacional de Universidades Brasileiras, e a Universidade Federal de Ceara, especialmente o Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Sou grata também à *Universidad de Los Andes* em Mérida-Venezuela, por ter sido o berço das minhas vivências acadêmicas e profissionais, contribuindo de forma indiscutível à construção de um perfil que me permitiu iniciar e concretizar este desafio.

Ao acolhimento durante o começo desta vivência, que facilitou amplamente minha chegada e adaptação em Fortaleza, à Pró-Reitoria de Relações Internacionais da UFC, ao Programa de Apoio ao Intercambista, especialmente meus padrinhos Jeisa Rocha e Daniel Oppelt, que foram fundamentais nesse momento. Agradeço à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Profa. Dra. Cristiane Sá Roriz Fonteles, Prof. Dr. Vicente de Paulo Aragão Saboia, Rafael Maia Reis e Joana Karla de Assis Pinheiro, pela recepção, empatia e disponibilidade durante este período.

O meu percurso pelo Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia na Universidade Federal de Ceara esteve atrelado a um vasto aprendizado. Agradeço aos professores e professoras que compõem o programa, principalmente aos membros do Laboratório de Patologia Bucal, Profa. Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves, Profa. Dra.

Karuza Maria Alves Pereira, Prof. Dr. Mário Rogério Lima Mota. A vivência acadêmica foi sempre inspiradora e me ajudou a constatar a estomatopatologia como a minha melhor escolha.

Desejo agradecer de forma especial ao meu Orientador, Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa, que desde o início foi uma pessoa receptiva, considerando os meus interesses acadêmicos e me proporcionando, com confiança, a oportunidade de desenvolvê-los. O senhor me guiou sempre que preciso, e me outorgou independência para construir uma experiência amplamente significativa. Sinto-me afortunada de ter sido sua orientanda.

A criação e o desenvolvimento desta pesquisa também estiveram ligados a pessoas que viabilizaram cada uma de suas fases. Ao Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva, que me brindou assessoria imensurável, agradeço ter contado com sua disponibilidade, diligência e competência, e todo o aprendizado advindo da experiência de trabalhar com o senhor. À Dra. Thinali Sousa Dantas, fundamental na criação do projeto e que facilitou todo o processo de desenvolvimento ao longo destes dois anos, além de sempre ter estado disponível para elucidar as minhas dúvidas, e brindar soluções que foram além da pesquisa. Sinto-me muito grata pela sua solidariedade. À Dra. Karine Cestaro Mesquita, pela sua acessibilidade, assessoria e aportes para esta dissertação. Também gostaria de agradecer aos professores que construíram as bancas de qualificação e pré-defesa, cujas contribuições enriqueceram a construção desta dissertação, nas figuras de Prof. Dr. Mário Rogério Lima Mota, Prof. Dr. Mário Roberto Pontes Lisboa e Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva.

À Profa. Dra. Kranya Diaz Serrano, minha tia, por ter sido uma guia inestimável nesta trajetória acadêmica e pessoal. Graças aos seus anos de experiência como docente e pesquisadora no Brasil, e a nossa história de vida próxima, tive ajuda para traduzir além do idioma, descomplicando a compreensão dos traços culturais que permeiam o processo de se formar e se reconhecer em um novo contexto identitário. O nosso convívio nesta experiência

me proveu com novas habilidades que me auxiliaram quando predominaram as dificuldades, me permitindo completar este percurso. Obrigada por estar sempre presente.

Agradeço aos meus colegas de mestrado, Iury, Milena e Joyce, que me acolheram e deram suporte quando precisei. Especialmente a Imaculada, que foi a minha guia no Laboratório de Patologia Bucal e na execução da fase experimental desta pesquisa, dando sempre respostas oportunas às minhas inúmeras dúvidas. Sou grata pela sua ajuda sempre acompanhada de disposição e positividade. Também agradeço aos demais discentes do Laboratório de Patologia Oral, que se mostraram receptivos e prestativos. Sem esse retorno o percurso teria sido mais difícil.

Desejo agradecer também as minhas amigas e os meus amigos bolsistas da OEA que compartilham esta aventura de estudar no Brasil Victor, Erik, Caro e Carlos. Vocês e cada uma de suas culturas enriqueceram e amenizaram esta experiência, especialmente à Lucia e a Farah por ter estado sempre próximas melhorando esta vivência, e me auxiliar quando preciso. Agradeço à Gardênia, cuja presença cotidiana durante esses dois anos foi calorosa e harmoniosa, facilitando a minha estadia em Fortaleza. Ao Raul, que desde sua chegada me acompanhou com serenidade e paciência, me dando suporte e abrindo as minhas perspectivas sobre esta nova cultura. Obrigada por me mostrar coisas e lugares que não teria conhecido sem você.

Finalmente, agradeço à minha família, que esteve plenamente presente apesar da distância, dando o suporte necessário neste percurso. Sem sombra de dúvidas, eles foram os meus principais acompanhantes. *Gracias, madre, padre y hermana, que se manifiestan cada día en los valores y hábitos que me acompañan y me permiten consolidar mis metas. Gracias por ayudarme a construir un puente cuando sube el cauce del río y transmitir la certeza de que, sin importar qué pase, todo estará bien.*



## RESUMO

A Naltrexona é estudada por seu efeito na modulação da resposta imune e a proliferação celular, podendo auxiliar o processo de cicatrização, a ação terapêutica da Naltrexona varia a depender da dose. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da administração de diferentes doses (alta, padrão e baixa) de Naltrexona no curso temporal cicatricial de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos Wistar. Cento e doze animais foram distribuídos em um grupo controle sob administração de água destilada, e três grupos experimentais sob administração de Naltrexona em doses de 0,5, 10 e 50mg/kg/dia mediante gavagem, iniciando um dia antes da indução da úlcera com *punch* dermatológico. Nos dias 1, 3, 7 e 14 após a indução foram avaliados o diâmetro clínico da úlcera, variação ponderal, escores de cicatrização histológica, análise histomorfométrica (polimornucleares, mononucleares, fibroblastos/miofibroblastos), análise histoquímica para deposição de colágeno (coloração de Picrosiruis Red), resposta nociceptiva (teste de Von Frey), e efeitos adversos do medicamento (dor abdominal, avaliação de fezes, e ingestão de ração). Para todas as análises foi utilizado o *software* estatístico GraphPad Prism 5.0®, sendo considerado o nível de significância  $p < 0,05$ . Os animais apresentaram diâmetro de úlcera significativamente menor em relação ao grupo controle no dia 1 quando tratados com as doses de 10 e 50mg/kg/dia ( $p < 0,001$ ); e no dia 3 ( $p < 0,05$ ) e 14 ( $p < 0,01$ ) quando tratados com Naltrexona 50mg/kg/dia. Essa dose também reduziu o número de polimorfonucleares no primeiro dia ( $p < 0,05$ ), mononucleares no terceiro dia ( $p < 0,05$ ), aumentou o número fibroblastos ( $p < 0,001$ ) e o percentual de colágeno total ( $p < 0,05$ ) no dia sete e quatorze. Ainda, o limiar nociceptivo foi significativamente menor nos animais tratados com Naltrexona 50mg/kg/dia, ( $p < 0,01$ ) ao longo dos quatorze dias. Não se observaram efeitos adversos significativos com as doses avaliadas. A Naltrexona em dose alta (50mg/kg/dia) melhora o curso temporal cicatricial de úlceras traumáticas orais através de redução da resposta inflamatória e promoção da colagênese, além de diminuir o limiar nociceptivo.

**Palavras-chave (DeCS):** Cicatrização; Inflamação; Naltrexona; Receptores Opioides; Úlceras Orais.

## ABSTRACT

Naltrexone is studied for its effect on immune response modulation and cell proliferation, being able to improve the healing process, the therapeutic action of Naltrexone varies depending on the dose. This study aims to evaluate the influence of different doses (high, standard and low) of naltrexone administration on the time period of healing in traumatic ulcers oral mucosa of Wistar rats. One hundred and twelve animals were divided into a control group under distilled water by gavage administration, and three experimental groups under naltrexone 0.5, 10, and 50mg/kg/day administration. Ulcer was induced with a dermatological punch. On days 1, 3, 7 and 14 after induction, clinical ulcer diameter, weight variation, histological healing scores, histomorphometric analysis (polymorphonuclear count, mononuclear count, and fibroblasts/myofibroblasts count), assessment of collagen deposition (Picrosiruis Red stain), nociceptive animal response (Von Frey test), and adverse drug reactions (abdominal pain, stool evaluation, and feed intake) was evaluated. For all analysis, statistical software GraphPad Prism 5.0® was used, considering the significance level  $p < 0.05$ . Animals had a significant smaller ulcer diameter than the control group on day 1 when treated with doses of 10 and 50mg/kg/day ( $p < 0.001$ ); and on day 3 ( $p < 0.05$ ) and 14 ( $p < 0.01$ ) when treated with 50mg/kg/day naltrexone. This dose also reduced the number of polymorphonuclear cells on the first day ( $p < 0.05$ ), mononuclear cells on the third day ( $p < 0.05$ ), and increased fibroblasts ( $p < 0.001$ ) and the percentage of total collagen ( $p < 0.05$ ) on seventh and fourteenth days, respectively. Furthermore, nociceptive response (ipsilateral and contralateral to the ulcer) was significantly lower in animals treated with naltrexone 50mg/kg/day ( $p < 0.01$ ) over the whole period of 14 days. At evaluated doses, no significant adverse reactions were observed. Naltrexone standard dose (50mg/kg/day) improves the time period of healing in traumatic oral ulcers by reducing the inflammatory response and promoting collagen synthesis. In addition, it decreases animals' nociceptive response.

**Keywords (MeSH):** Healing; Inflammation; Naltrexone; Opioid Receptors; Oral Ulcer.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Papel dos macrófagos na cicatrização de feridas .....	17
<b>Figura 2.</b> Efeito terapêutico do bloqueio contínuo de OGFrEfeito terapêutico do bloqueio contínuo de OGFr .....	23
<b>Figura 3.</b> Efeito terapêutico do bloqueio intermitente de OGFr.....	24
<b>Figura 4.</b> Imagem ilustrativa do protocolo experimental contendo os dias de administração, indução de úlcera e momentos de eutanásia .....	32
<b>Figura 5.</b> Perfil de cicatrização clínica de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos em tratamento com Naltrexona .....	37
<b>Figura 6.</b> Perfil nociceptivo de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	38
<b>Figura 7</b> Perfil histomorfométrico em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses: células inflamatórias .....	39
<b>Figura 8.</b> Perfil histomorfométrico em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses: fibroblastos/ miofibroblastos .....	40
<b>Figura 9.</b> Perfil de cicatrização histológica em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	41
<b>Figura 10.</b> Análises de deposição de colágeno em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	43
<b>Figura 11.</b> Perfil de deposição de colágeno em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Naltrexona: doses, interação com receptores, e usos clínicos .....	20
<b>Tabela 2.</b> Dose de Naltrexona e tempo de bloqueio dos receptores opioides.....	21
<b>Tabela 3.</b> Distribuição amostral dos animais tratados com diferentes doses de Naltrexona e submetidos a modelo experimental de úlcera traumática oral.....	31
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros clínicos de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	36
<b>Tabela 5.</b> Escores histológicos de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$ -AML	Proteína de maturação de fibroblastos alfa actina de musculo liso.
CCL5	Ligante 5 de quimiocina CC.
CCL2	Ligante 5 de quimiocina CC.
CXCL8	Interleucina 8.
DAMPs	Padrões moleculares associados a dano.
DOPr	Receptor delta opioide.
EGF	Fator de crescimento epidermal.
FGFb	Fator de crescimento de fibroblastos básico.
MOPr	Receptor <i>mi</i> opioide.
NGF	Fator de crescimento nervoso.
NOPr	Receptor de peptídeo opioide de nociceptina.
NTX	Naltrexona.
IL-1	Interleucina 1.
IL-4	Interleucina 4.
IL- 6	Interleucina 6.
IL-10	Interleucina 10.
KOPr	Receptor capa opioide.
OGFr	Receptor do fator de crescimento opioide
OGF	Fator de crescimento opioide
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógeno.
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaqueta.
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões.
RO	Receptor opioide.
TGF- $\beta$	Fator de crescimento transformador <i>beta</i> .
TLR	Receptor de tipo <i>toll</i> .
TNF	Fator de necrose tumoral.
Th1	Resposta T <i>helper</i> -1.
Th2	Resposta <i>Thelper</i> -2.

Th17      Resposta *Thelper*-17.

VEGF      Fator de crescimento vascular endotelial.

## LISTA DE SÍMBOLOS

g Grama

gF Grama-força

kg Quilograma

mg Miligrama

mm Milímetros

nm Nanômetro

$\alpha$  Alfa

$\beta$  Beta

$\gamma$  Gama

$\delta$  Delta

gF Grama-força

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Cicatrização de úlceras orais.....	16
2.3 Naltrexona.....	19
2.3.1 Naltrexona e cicatrização: interação com os receptores opioides.....	22
2.3.2 Naltrexona e modulação da resposta imune.....	25
3 JUSTIFICATIVA.....	27
4 HIPÓTESE.....	28
4.1 Hipótese nula.....	28
4.2 Hipótese alternativa.....	28
5 OBJETIVOS.....	29
5.1 Objetivo geral.....	29
5.2 Objetivos específicos.....	29
6 METODOLOGIA.....	30
6.1 Aspectos éticos.....	30
6.2 Cálculo amostral.....	30
6.3 Animais.....	30
6.3.1 Grupos doses e administração da Naltrexona.....	30
6.3.2 Indução das úlceras orais.....	32
6.4 Análises clínicas: tamanho da úlcera e variação de peso.....	32
6.5 Análise histológica.....	33
6.6 Análise histomorfométrica: avaliação do infiltrado inflamatório e fibroblastos.....	33
6.7 Análise histoquímica: avaliação do percentual de colágeno.....	33
6.8 Avaliação da resposta nociceptiva.....	34
6.9 Avaliação dos efeitos da Naltrexona em parâmetros comportamentais.....	34
6.10 Análise estatística.....	35
7 RESULTADOS.....	36
7.1 A Naltrexona em dose de 10 e 50mg/kg/dia diminuíram a área de úlcera em mucosa jugal de ratos Wistar submetidos a modelo de úlcera traumática oral.....	36
7.2 A Naltrexona em dose de 10 e 50mg/kg/dia diminuiu o limiar nociceptivo em ratos Wistar.....	38
7.3 A Naltrexona em dose de 50mg/kg/dia influenciou parâmetros histomorfométricos e o estadiamento histológico de úlceras traumáticas em ratos Wistar.....	39
7.4 A Naltrexona em dose de 50mg/kg/dia favoreceu a deposição de colágeno em úlceras traumáticas de ratos Wistar.....	43



8 DISCUSSÃO .....	46
9 CONCLUSÃO .....	52
10. REFERENCIAS .....	53
11. ANEXOS .....	64
11.1 Parecer da comissão de ética no uso de animais (CEUA) .....	64
11. 2 Declaração de correção gramatical .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

As úlceras são lesões frequentes na mucosa bucal que geram em pacientes sensação de dor e desconforto. Apresentam uma etiologia diversa que inclui causas sistêmicas associadas a doenças autoimunes, infecciosas (virais ou bacterianas) ou nutricionais. Também, se apresentam como manifestação clínica de lesões malignas. Contudo, as úlceras decorrentes de dano agudo ou crônico de natureza mecânica, térmica ou química são chamadas de úlceras traumáticas (BRUCE; DABADE; BURKEMPER, 2015; SCHEMEL-SUÁREZ; LÓPEZ-LÓPEZ; CHIMENOS-KÜSTNER, 2015).

A abordagem clínica destas lesões varia dependendo da etiopatogenia (SCHEMEL-SUÁREZ; LÓPEZ-LÓPEZ; CHIMENOS-KÜSTNER, 2015; SCULLY; FELIX, 2005). Com frequência, o tratamento encontra-se orientado ao controle da inflamação e sintomatologia mediante o uso de corticoides, antissépticos e analgésicos (SOARES DE LIMA et al., 2005). O estímulo da proliferação celular também pode favorecer o processo cicatricial das úlceras orais. Deste modo, a administração de fatores de crescimento ou o favorecimento da sua síntese já foi estudado para o tratamento deste tipo de lesões, tendo resultados favoráveis (DEWEDAR; FARID; ADAWY, 2018; FUJISAWA; MIYAMOTO; NAGAYAMA, 2003).

A Naltrexona é um medicamento antagonista dos receptores opioides (ROs) usado no tratamento do alcoolismo. Esse medicamento também demonstrou ter efeito na proliferação celular, a partir da interação com os receptores opioides (ROs), principalmente com o fator de crescimento opioide (OGFr) (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013; ZAGON et al., 2010). Ainda, as doses baixas de Naltrexona são amplamente abordadas na literatura devido ao efeito imunomodulador associado à interação com o receptor de tipo *toll-4* (TLR-4) (LI et al., 2018; TOLJAN; VROOMAN, 2018; TUREL et al., 2015 ; YOUNGER; PARKITNY; MCLAIN, 2014).

A Naltrexona é capaz de influenciar os processos de inflamação e proliferação celular, fundamentais na cicatrização, podendo ser um medicamento com potencial para o tratamento de lesões orais, como as úlceras traumáticas.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Cicatrização de úlceras orais

O quadro clínico evolutivo das úlceras orais, desde sua aparição até sua regressão, envolve diferentes estágios clínicos. No início, as úlceras orais têm um curso sintomático com presença de prurido, dor e rugosidade na mucosa. Seguidamente, começa o estágio pré-ulcerativo, caracterizado pela presença de eritema localizado com membrana superficial, halo eritematoso, discreta elevação e consistência dura. Ainda, apresenta-se dor de intensidade variável. No estágio ulcerativo a lesão atinge seu pico máximo de desenvolvimento, a membrana superficial se observa esbranquiçada e necrótica, um exsudato fibrinoso branco amarelado se forma no assoalho da úlcera, e, a lesão se torna crateriforme com persistência do halo eritematoso. Finalmente, a sensação de dor começa a diminuir de forma progressiva. No último estágio ocorre a reparação da lesão, iniciando-se de forma espontânea (COELHO; DE SOUZA; ARAÚJO, 2009).

Do ponto de vista histopatológico, as úlceras orais apresentam-se como descontinuidade do tecido epitelial, recobertas por uma membrana fibrinopurulenta com infiltrado inflamatório cuja natureza varia ao longo da evolução da lesão. Na fase inicial, o infiltrado é neutrofilico e essas células são progressivamente substituídas por células mononucleares, inicialmente macrófagos (CAVALCANTE et al., 2011). A partir do terceiro dia de evolução, na medida em que a lesão regride, forma-se tecido de granulação na base da úlcera, o infiltrado inflamatório torna-se predominantemente linfoplasmocitário, e, as células do epitélio bucal, células endoteliais e fibroblastos proliferam dando início à reparação. O processo de reparação é caracterizado por restituição do recobrimento epitelial, fibroplasia e diminuição progressiva das células inflamatórias (CAVALCANTE et al., 2011; MANDELBAUM et al., 2003).

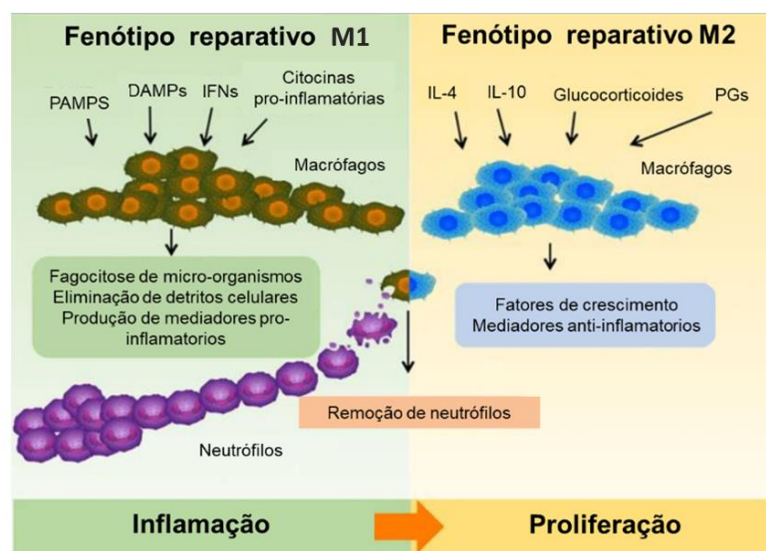
As úlceras traumáticas orais cicatrizam por segunda intenção em um tempo que varia de dez a quatorze dias (FRAIHA; BITTENCOURT; CELESTINO, 2002). No processo cicatricial se apresentam diversos mecanismos celulares e moleculares, divididos em fases sequenciais chamadas de inflamação, proliferação e remodelação (LANDÉN; LI; STÄHLE, 2016). A disjunção do tecido epitelial e consequente exposição do tecido conjuntivo estimula sínteses e liberação de mediadores vasoativos e pro-inflamatórios, dando início à fase inflamatória (GONZÁLEZ ROMA, 2020).

Os neutrófilos são as células mais abundantes durante a fase inflamatória, que é determinada pela ativação da imunidade inata levando à liberação das citocinas pró-

inflamatórias e quimiocinas da fase aguda (IL-1, IL-6, TNF, CCL2, CXCL8) (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016). Se o processo evoluir adequadamente, os neutrófilos permanecem no local da lesão por dois a cinco dias. No entanto, se estímulos pro-inflamatórios continuarem presentes no ambiente, a resposta inflamatória será prolongada. Os neutrófilos, além da sua importante função fagocítica, são capazes de amplificar a resposta inflamatória liberando fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 6 (IL-6) (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016), os mastócitos também participaram desta fase mediante a liberação de substâncias vasoativas e mediadores pro-inflamatórios, principalmente IL-6 e IL-8, que favorecem migração de mais neutrófilos e macrófagos para o local da lesão (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020).

Idealmente, o número de macrófagos aumenta por volta do terceiro dia, desempenhando um papel importante na progressão para a fase proliferativa. Pois, dependendo do perfil expresso, essa célula favorece um estado pró-inflamatório ou anti-inflamatório e regenerativo. A exposição dos macrófagos às citocinas pró-inflamatórias e interferon (INF) produz a ativação clássica (M1), que promove as respostas T *helper*-1 (Th1) e T *helper*-17 (Th17) associadas a um perfil inflamatório. Entretanto, os macrófagos sob estímulo da interleucina 4 (IL-4) e interleucina 13 (IL-13) são ativados alternativamente (M2), expressando um perfil que suprime a inflamação e promove a proliferação (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016) (Figura 1).

**Figura 1.** Papel dos macrófagos na cicatrização de feridas



Fonte: Adaptado de Landén et al. (2016).

A resposta imune adaptativa também constitui um componente importante do processo de cicatrização, iniciando-se entre o segundo e o quinto dia, quando os linfócitos ocupam o local da lesão. Os linfócitos B, além de sintetizar anticorpos, também contribuem com o processo cicatricial por meio da produção de citocinas e fatores de crescimento, e, da ativação e regulação dos linfócitos T reguladores (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016), que devido à produção de citocinas imunossupressoras, principalmente interleucina 10 (IL-10), têm sido amplamente relacionados com uma progressão em direção à resposta reparadora (ZAISS; MINUTTI; KNIPPER, 2019). Os linfócitos T, além de atuarem como células efetoras imunológicas, também contribuem com a produção de fatores de crescimento (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016).

A fase proliferativa caracteriza-se pela formação de tecido de granulação que contém uma matriz extracelular com colágeno tipo III, vasos sanguíneos neoformados, fibroblastos e macrófagos. A angiogênese é crucial para garantir a viabilidade do tecido em formação, esse processo é regulado principalmente pela síntese do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos básico (FGFb) e fator de crescimento transformante *beta* (TGF- $\beta$ ) (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016). Dado esses estímulos, as células endoteliais migram dos vasos sanguíneos existentes e proliferam na área do tecido em formação (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016). Outro fenômeno importante da fase proliferativa é a reepitelização, que depende da migração e proliferação de queratinócitos para cobrir a lacuna produzida pela lesão. Esse processo é estimulado por substâncias como óxido nítrico, citocinas e fatores de crescimento, principalmente o fator de crescimento epidérmico (EGF) e o fator de crescimento nervoso (NGF) (LANDÉN; LI; STÅHLE, 2016). Os mastócitos também participam da fase proliferativa mediante a secreção de IL-4, IL-8, VEGF, PDGF, NGF, TGF- $\beta$ , assim, essas células contribuem nos processos de neoangiogênese, fibrinogênese e reepitelização (KOMI; KHOMTCHOUK; SANTA MARIA, 2020).

Na fase de remodelação, o colágeno tipo III é substituído pelo colágeno tipo I, deste modo o tecido recém-formado melhora suas propriedades funcionais (BARRIENTOS et al., 2008). As metaloproteinases de matriz (MMPs) e os inibidores teciduais das metaloproteinases de matriz (TIMPs) são cruciais no processo de degradação e remodelação da matriz extracelular, sendo sua atividade regulada por citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento. O TGF- $\beta$  regula a expressão de MMP-9 e MMP-1 mantendo um equilíbrio entre a síntese e a degradação da matriz extracelular, favorecendo a angiogênese (BEHM et al., 2012) e a diferenciação dos miofibroblastos. A regulação negativa do TGF- $\beta$ 1, pode gerar cronificação da lesão (BARRIENTOS et al., 2008).

As interleucinas IL-1 e IL-22 também agem como reguladoras das MMPs e TIMPs. A IL-22 contribui com a fase de remodelação mediante aumento da expressão de MMP-3. A IL-1 favorece a expressão de MMP-1, MMP-3, MMP-9 e a inibição de TIMP-1, tendo um papel importante na fase aguda da úlcera. A expressão desta interleucina aumenta no início da lesão e diminui durante a reparação. Nas lesões crônicas a expressão de IL-1 permanece aumentada, associando-se à sínteses de enzimas proteolíticas com consequente degradação da matriz extracelular (BEHM et al., 2012).

As úlceras orais traumáticas, em geral, têm uma evolução aguda. No entanto, vários fatores podem afetar o curso normal deste processo. Uma resposta inflamatória prolongada e exacerbada impede o avanço do processo cicatricial devido a um atraso no início da fase proliferativa e de remodelação. Por outro lado, a modulação adequada da resposta inflamatória pode beneficiar o curso do processo de cicatrização (CHEN; DIPIETRO, 2017). Portanto, a inflamação tem sido alvo de estudo para o tratamento das úlceras orais. Assim, os corticoides tópicos são frequentemente utilizados para o tratamento de lesões ulcerativas da mucosa oral, (COELHO; DE SOUZA; ARAÚJO, 2009; SOARES DE LIMA et al., 2005; THAKRAR; CHAUDHRY, 2016), no entanto, efeitos adversos locais e sistêmicos são associados a estes medicamentos (ELAD et al., 2011; KAPUGI; CUNNINGHAM, 2019), o que tem levado à procura de outras alternativas terapêuticas, como medicamentos imunomoduladores.

Mesmo que alguns medicamentos imunomoduladores tenham sido estudados para o tratamento de lesões ulcerativas da mucosa oral, a sua indicação ainda é limitada, sendo considerados como segunda linha de escolha, em casos em que a terapia com corticoides é insuficiente ou contraindicada (ELAD et al., 2010, 2011; SUN et al., 2019).

A Naltrexona, que por sua vez é associada a uma ação imunomoduladora (YOUNGER; PARKITNY; MCLAIN, 2014; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018), também tem sido previamente relacionada com melhora do processo cicatricial em pele e córnea devido a sua influência na proliferação celular (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2013, 2014; MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; SASSANI; ZAGON, 2020; ZAGON et al., 2010, 2006). Neste contexto, a Naltrexona pode ser um medicamento com potencial terapêutico no tratamento de úlceras orais, incluindo as úlceras traumáticas.

### **2.3 Naltrexona**

A Naltrexona é um fármaco antagonista puro dos receptores opioides (ROs) que age impedindo o aumento da atividade do sistema opioide endógeno, cujo efeito de reforço

positivo leva a estados de adicção (SERECIGNI, 2015). Esse medicamento foi aprovado pela FDA (*Federal Drug Administration*) no ano 1994 para o tratamento de estados de dependência ao álcool, e, desde então, tem sido usado classicamente para esse fim (HENDERSHOT et al., 2017; SINGH; SAADABADI, 2022; YOUNGER; PARKITNY; MCLAIN, 2014) em doses que variam entre 50 a 100mg por dia (dose padrão) (TOLJAN; VROOMAN, 2018).

Quando administrada por via oral, a Naltrexona possui absorção de 95%, no entanto, é extensamente metabolizada no fígado, onde é transformada em 6 beta-naltrexol, um metabólito ativo que também tem efeito antagônico nos receptores opioides. Após sofrer o fenômeno da primeira passagem hepática, a biodisponibilidade da Naltrexona varia de 4% a 50%, sendo sua meia-vida de quatro horas. Porém, o 6 beta-naltrexol prolonga-se até treze horas, explicando uma maior duração do efeito terapêutico (NALTREXONE: USES, INTERACTIONS, MECHANISM OF ACTION | DRUGBANK ONLINE, 2022; SERECIGNI, 2015).

Embora a indicação mais conhecida da Naltrexona seja no tratamento de estados de dependência química, esse medicamento também se encontra associado aos processos de proliferação celular e a modulação da resposta imune, tendo sido estudada em outras situações clínicas como a cicatrização (DUNN et al., 2021; IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013; MCLAUGHLIN; SASSANI; ZAGON, 2020; NEZAMI et al., 2009; ZAGON et al., 2010, 2006), o câncer (LENNON et al., 2012; LI et al., 2018; MCLAUGHLIN et al., 2007; SINGLETON et al., 2015; ZAGON; DONAHUE; MCLAUGHLIN, 2013; ZAGON; MCLAUGHLIN, 1983) e as doenças imunomediadas (HAMMER et al., 2016; LI et al., 2018; LUDWIG; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018; RAHN; MCLAUGHLIN; ZAGON, 2011; TUREL et al., 2015; ZAGON et al., 2011). Tem-se observado que a ação farmacológica da Naltrexona não responde à curva dose-resposta linear já que efeitos variados são observados a depender da dose administrada. Nesse sentido, doses inferiores à dose padrão, conhecidas por doses baixas, são estudadas na atualidade para o tratamento de diferentes doenças (Tabela 1).

**Tabela 1.** Naltrexona: doses, interação com receptores, e usos clínicos

Dose de Naltrexona	Interação fármaco-receptor	Uso clínico
Padrão 50-100mg	Antagonismo contínuo dos ROs	Dependência a álcool e opioides; Cicatrização. <i>Continua</i>

<b>Dose de Interação fármaco-receptor</b>	<b>Uso clínico</b>
<b>Naltrexona</b>	
Baixa 1-5mg	Antagonismo intermitente dos ROs; Antagonismo do receptor de tipo <i>toll-4</i> (TLR-4)
	Doenças imunomediadas (esclerose múltipla, doença de Crohn, doença de Hailey-Hailey), dor neuropática, Câncer.

*Conclusão*

Fonte: Adaptado de Toljan e Vrooman (2018)

Foi previamente relatado que a Naltrexona é capaz de gerar efeitos paradoxais. Essa característica é explicada pela regulação do sistema opioide endógeno diante do uso de antagonistas ou agonistas exógenos. Estudos observaram que quando os ROs são antagonizados de forma intermitente, se incrementa a expressão do receptor e o seu ligante endógeno gerando aumento funcional do receptor, enquanto o antagonismo contínuo relaciona-se à diminuição da função do receptor (MCLAUGHLIN; ZAGON, 2015; ZAGON; MCLAUGHLIN, 1984).

Usada em dose padrão, a Naltrexona é capaz de manter seu efeito antagonístico nos receptores opioides por vinte e quatro horas em humanos, gerando bloqueio contínuo do receptor quando administrada uma vez por dia (SERECIGNI, 2015). Entretanto, doses inferiores, conhecidas como doses baixas, geram bloqueio intermitente. Zagon e McLaughlin (1984) determinaram o tempo de bloqueio dos receptores opióides em ratos após a administração subcutânea de Naltrexona, constatando que com doses abaixo de 20mg/kg/dia, o receptor permanece bloqueado por um período máximo doze horas (Tabela 2)

**Tabela 2.** Dose de Naltrexona e tempo de bloqueio dos receptores opioides

<b>Doses (mg/kg) administrada por via subcutânea</b>	<b>Tempo (horas) de bloqueio do receptor</b>
1	4-6
10	6-12
20	24
50	24

Fonte: Adaptado de Zagon e McLaughlin (1984)



Assim, a Naltrexona apresenta uma ampla gama de ações farmacológicas dependentes da duração do bloqueio do receptor devido a sua capacidade de interagir de forma não seletiva com variados receptores opioides ( $M\mu$ ,  $K\kappa$ ,  $\delta$ , e receptor do fator de crescimento opioide) e não opioides, como o receptor de tipo *toll-4* (TLR-4). Por esse motivo, as ações farmacológicas deste medicamento, relacionadas ao processo cicatricial, serão abordadas de forma continuada considerando os receptores implicados.

### 2.3.1 Naltrexona e cicatrização: interação com os receptores opioides

Os ROs são receptores celulares acoplados à proteína G implicados na modulação da dor. A ativação desses receptores desencadeia um poderoso efeito analgésico que tem sido utilizado ao longo do tempo em diversas situações clínicas (AL-HASANI; BRUCHAS, 2011; DHALIWAL; GUPTA, 2021).

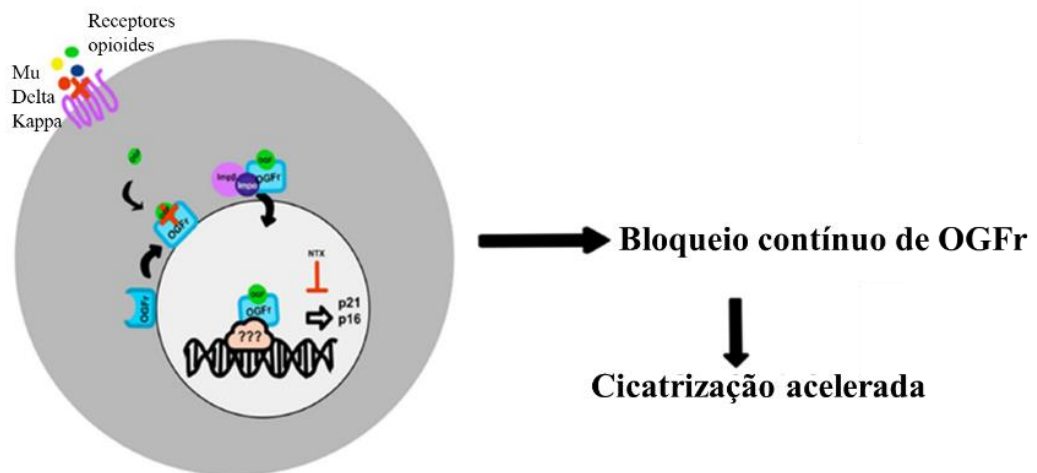
Classicamente, são descritos cinco tipos de RO: o receptor  $M\mu$  (MOPr),  $K\kappa$  (KOPr),  $\delta$  (DOPr), o receptor de peptídeo opioide de nociceptina (NOPr) (DHALIWAL; GUPTA, 2021) e, além, destaca-se a existência do receptor opioide  $\zeta$  (ZOPr), também chamado de receptor do fator de crescimento opioide (OGFr) (QU et al., 2019). A estrutura deste último receptor difere dos anteriores, trata-se de uma proteína integral associada ao envelope nuclear que quando ativado por seu ligante, o fator de crescimento opioide, regula positivamente as vias inibitórias das quinases dependentes de ciclina (ZAGON; DONAHUE; MCLAUGHLIN, 2013) diminuindo a proliferação celular.

Mesmo que a principal função dos ROs seja a modulação central de processos álgicos, a expressão desses receptores já foi descrita em neurônios periféricos, células neuroendócrinas, células imunes, células epiteliais, dentre outros (STEIN, 2016). Ainda, sabe-se que a função do sistema opioide endógeno está sujeita ao controle epigenético. Dessa forma, há interação dos ROs com seus ligantes agonistas e antagonistas e outros fatores como substâncias álgicas e inflamatórias, que são capazes de modificar a expressão e organização deste sistema. Desse modo, se explica que os ROs apresentam uma distribuição anatômica heterogênea e grande variabilidade funcional (JESKE, 2019; STEIN, 2016). Além dos processos nociceptivos, os ROs regulam funções celulares como a proliferação, apoptose (CHEN; LAW; LOH, 2008; LIN et al., 2021; WANG et al., 2017); migração e adesão celular (WANG et al., 2017). Em virtude disso, considera-se que esses receptores são capazes de modificar a resposta cicatricial, contudo, a compressão do efeito da interação dos ROs na cicatrização ainda é inconclusiva.

Alguns estudos sugerem que a ausência de MOPr e DOPr em animais retarda o processo de cicatrização (WANG et al., 2017), e o uso de agonistas opioides favorece os processos de proliferação e migração de células endoteliais, melhorando a resposta cicatricial (WANG et al., 2017). Porém, outros autores associam o uso de agonistas opioides com diminuição da angiogênese, miofibroblastos e conseqüentemente retardo no fechamento de feridas cutâneas (MARTIN et al., 2010).

Embora vários ROs, principalmente MOPr e DOPr, tenham demonstrado influencia em processos essenciais na cicatrização, o RO mais estudado e relacionado ao processo cicatricial é o OGFr, uma vez que desempenha um papel importante nos processos de proliferação celular, atuando como um regulador negativo (ZAGON; DONAHUE; MCLAUGHLIN, 2013). Quando a Naltrexona antagoniza de forma contínua ao OGFr, as vias inibitórias das cinases dependentes de ciclina são inativadas, promovendo um estado proliferativo (ZAGON; DONAHUE; MCLAUGHLIN, 2013) (Figura 2).

**Figura 2.** Efeito terapêutico do bloqueio contínuo de OGFr



Fonte: Adaptado de Mclaughlin e Zagon (2015).

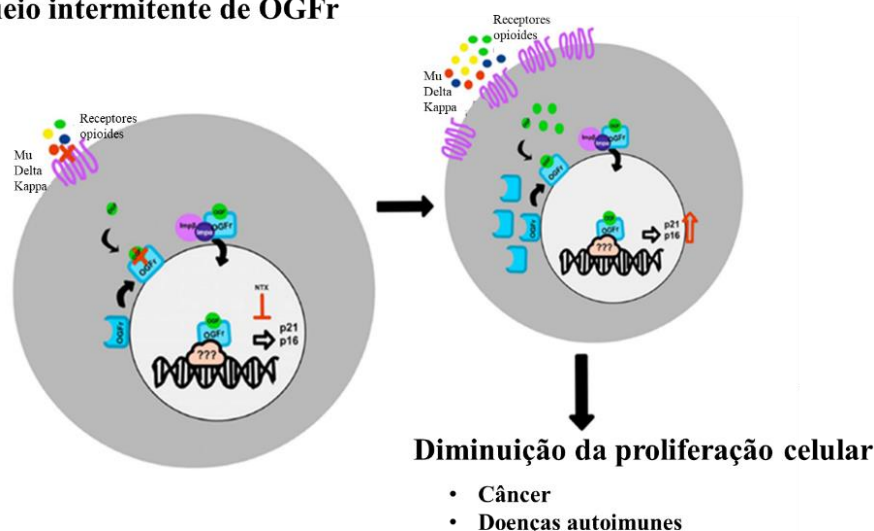
A influência do eixo OGFr-OGF nos processos de renovação celular e cicatrização de feridas já tem sido descrita. Foi relatado que um bloqueio contínuo do OGFr leva a uma diminuição do tempo de cicatrização de feridas na pele (MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013) e feridas na córnea (MCLAUGHLIN; SASSANI; ZAGON, 2020; ZAGON et al., 2010, 2006) em modelos experimentais com animais diabéticos.

A melhora observada na resposta cicatricial com o bloqueio contínuo de OGFr é atribuída ao aumento da proliferação tanto das células epiteliais (MCLAUGHLIN et al., 2017; ZAGON et al., 2010) quanto dos fibroblastos (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014). Além disso, observou-se um aumento da angiogênese e da expressão dos fatores de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de fibroblastos básico (FGF-2) e fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013).

Já o bloqueio intermitente de OGFr leva a uma resposta compensatória que favorece a expressão do eixo OGFr-OGF, resultando em inibição da proliferação celular. A atividade antiproliferativa da Naltrexona é atingida com doses baixas e tem sido estudada principalmente no câncer (LI et al., 2018; MCLAUGHLIN; STUCKI; ZAGON, 2012; MCLAUGHLIN; ZAGON, 2015; ZAGON; VERDERAME; MCLAUGHLIN, 2002; ZAGON; YAN; MCLAUGHLIN, 1994). Também acredita-se que o bloqueio intermitente do OGFr leva a uma diminuição na proliferação das células imunes, diminuindo o perfil pró-inflamatório e melhorando a sintomatologia de doenças autoimunes (LI et al., 2018; LUDWIG; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018) (Figura 3).

**Figura 3.** Efeito terapêutico do bloqueio intermitente de OGFr

### Bloqueio intermitente de OGFr



Fonte: Adaptado de Mclaughlin e Zagon (2015)

Em sínteses, os efeitos relatados com o uso de Naltrexona são diversos e dependem da dose utilizada. Estudos que utilizaram doses capazes de antagonizar continuamente os ROs obtiveram um efeito cicatricial em pele e córnea (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON,

2013; ZAGON et al., 2010). Mesmo que a expressão de MOPr, KOPr, DOPr e OGFr tenha sido relatada em queratinócitos do epitélio oral (CHARBAJI; SCHÄFER-KORTING; KÜCHLER, 2012; ZAGON; YAN; MCLAUGHLIN, 1994) e o uso de antagonistas tenha aumentado a proliferação em diversos tecidos, incluindo a mucosa oral (ZAGON; YAN; MCLAUGHLIN, 1994), o efeito da Naltrexona em úlceras ou feridas orais ainda não tem sido estudado.

### **2.3.2 Naltrexona, modulação da resposta imune e cicatrização**

A resposta imune participa na regulação do processo cicatricial, podendo contribuir para sua progressão adequada ou ser um fator desregulado que compromete o curso dos eventos que levarão à resolução da ferida (LANDÉN; LI; STÄHLE, 2016; ZAISS; MINUTTI; KNIPPER, 2019). Nesse processo, tanto o componente inato, quanto o componente adaptativo, desempenham papéis importantes. A Naltrexona em baixa dose associa-se a imunomodulação. Essa atividade farmacológica é explicada pelo antagonismo dos receptores de tipo *toll* (TLRs), principalmente TLR-4, que limita o dano da resposta imune inata e favorece a regulação dos estados inflamatórios exacerbados (YOUNGER; PARKITNY; MCLAIN, 2014; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018).

Os TLRs são receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) expressos em várias células imunes (macrófagos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos e linfócitos), além de outros tipos de células como células epiteliais, condrócitos e fibroblastos (CHEN; DIPIETRO, 2017; GARCIA; CARDOSO; DOS-SANTOS, 2012). Três domínios são descritos nos TLRs: um domínio extracelular rico em leucina, que se liga aos padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e aos padrões moleculares associados ao dano (DAMP); um domínio transmembranar; e um domínio interno ou citoplasmático (TIR), que inicia a via de sinalização intracelular mediante o uso das proteínas adaptadoras MyD88 (proteína de resposta primária de diferenciação mielóide 88), TIRAP (proteína adaptadora que contém domínio TIR), TRIF (proteína adaptadora que contém domínio TIR que induz o interferon- $\beta$ ) e TRAM (molécula adaptadora relacionada a TRIF) (AKIRA; TAKEDA, 2004; LIU et al., 2020).

Quando um TLR ativa a proteína adaptadora MyD88, ocorre a ativação do fator nuclear kappa *beta* (NF- $\kappa$ B), sendo estimulada a expressão genética de um perfil pró-inflamatório que leva à síntese de citocinas (TNF, IL1, IL6), quimiocinas (CCL2, CXCL8), moléculas de adesão endotelial (selectina-E) e moléculas co-estimuladoras (CD80, CD86). Por outro lado, quando um TLR ativa a proteína adaptadora TRIF, o fator regulador do interferon 3 (IRF3) induz a transcrição gênica de INF $\alpha$  e INF $\beta$ , relacionados a uma resposta antiviral (ABBAS;

LICHTMAN; PILLAI, 2016; TARTEY; TAKEUCHI, 2017). O TLR-4 ativa as duas proteínas adaptadoras, portanto, se relaciona com uma ampla gama de substâncias estimulantes da resposta imune (CHEN; SZODORAY; ZEHER, 2016) (Figura 2).

Existem evidências que apoiam a influência do TLR-4 nos estágios iniciais da cicatrização (CHEN et al., 2013). Também foi sugerido que a regulação positiva dos TLRs e de MyD88 pode gerar alterações no processo cicatricial de queimaduras (D'ARPA; LEUNG, 2017). Sugere-se que a regulação negativa dos TLRs ou a diminuição da sua ativação podem modular a resposta imune e melhorar o processo de cicatrização de feridas agudas na pele (CHEN; DIPIETRO, 2017). Neste sentido, a supressão de TLR-2 e TLR-4 tem sido relacionada ao atraso da cicatrização em úlceras diabéticas na pele em modelos experimentais (CHEN; DIPIETRO, 2017). Dessa forma, é possível que a interação da Naltrexona com TLR-4 e outros receptores relacionados à inflamação possa influenciar o curso do processo cicatricial.

Atualmente, a associação da Naltrexona com a modulação da resposta imune não se limita a interação com TLR-4. Alguns autores relatam a participação de outros TLRs, uma vez que a Naltrexona diminuiu a síntese de IL-6 e TNF $\alpha$  em cultivos celulares tratados com ligantes de TLR-7, TLR-8 e TLR-9 (CANT; DALGLEISH; ALLEN, 2017). Outros autores relacionam o modulação da resposta imune com o bloqueio intermitente de OGFr que teria como efeito a diminuição da proliferação das células imunes (ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018). Sabe-se, ainda, que os receptores opioides clássicos, principalmente MOPr, KOPr e DOPr, podem influenciar a resposta inflamatória, sendo a sua atividade associada principalmente à imunossupressão (NINKOVIĆ; ROY, 2013; ROGERS, 2020).

A ação imunomoduladora da Naltrexona é geralmente atribuída às doses baixas. No entanto, o conhecimento dos efeitos e mecanismos dessa droga, não associados ao seu uso clássico, continua sendo limitado, ainda mais quando se trata de ações periféricas. Os modelos que utilizaram Naltrexona visando o bloqueio contínuo dos ROs para favorecer a cicatrização não avaliaram a resposta inflamatória. Portanto, o seu efeito na inflamação periférica relacionada ao processo cicatricial ainda é obscuro e precisa ser estudado.

### **3 JUSTIFICATIVA**

As úlceras traumáticas são lesões que se apresentam com frequência na mucosa oral. O seu curso evolutivo acompanha-se de dor, constituindo uma experiência desconfortável para o paciente. Portanto, medicamentos destinados a diminuir o curso temporal cicatricial e a sintomatologia destas lesões são amplamente desejáveis.

Nesse contexto, a resposta inflamatória e a proliferação celular são processos fundamentais durante a cicatrização. A modulação da resposta imune pode promover a transição para a fase proliferativa favorecendo o curso cicatricial. De acordo com a literatura, a Naltrexona relaciona-se com diversas ações farmacológicas dependentes da dose, incluindo o favorecimento da proliferação celular e a modulação da resposta imune. Consequentemente, esse medicamento apresenta potencial terapêutico no tratamento de lesões orais, como as úlceras traumáticas.

O conhecimento do papel de diferentes doses de Naltrexona na cicatrização de úlceras traumáticas orais pode contribuir para o desenvolvimento de medicamentos que favoreçam o curso do processo de cicatrização e a evolução sintomática destas lesões, além de ajudar na compressão das novas aplicações clínicas deste medicamento.

## **4 HIPÓTESE**

### **4.1 Hipótese nula**

A Naltrexona não altera o processo de cicatrização de úlceras traumáticas orais.

### **4.2 Hipótese alternativa**

A Naltrexona altera o processo de cicatrização de úlceras traumáticas orais.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo geral**

Avaliar a influência da administração de diferentes doses de Naltrexona no curso temporal cicatricial de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos Wistar.

### **5.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a influência da administração de diferentes doses de Naltrexona na cicatrização clínica de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos Wistar;
- Avaliar a influência da administração de diferentes doses de Naltrexona nas fases de cicatrização histológica, aspectos histomorfométricos e a fibroplasia em de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos Wistar;
- Avaliar a influência da administração de diferentes doses de Naltrexona na resposta nociceptiva, a variação ponderal, e, o comportamento em ratos Wistar submetidos a modelo úlcera traumática em mucosa jugal.



## 6 METODOLOGÍA

### 6.1 Aspectos éticos

Este trabalho foi desenvolvido de acordo com os requerimentos éticos para estudos em animais e conforme as diretrizes da ARRIVE *checklist* para desenvolvimento de estudos animais. Assim, de acordo com a Lei Federal nº 11.794 (2008) e o decreto número 6.689 (2009), foi aprovado pela Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo CEUA nº 6741011220 (ANEXO A).

### 6.2 Cálculo amostral

Em consonância com os Princípios dos 3Rs de Russell-Burch, o presente estudo visou reduzir o número de animais. Nesse sentido, realizou-se um cálculo amostral com base nos achados de NEZAMI et al., (2009), que observaram após da administração de 20mg/kg de Naltrexona sistêmica (IP), um aumento de  $54.7\% \pm 4.8\%$  (média  $\pm$  erro padrão da média, n=6) a  $61.9\% \pm 5.6\%$  (média  $\pm$  erro padrão da média, n=6) na sobrevida de retalhos isquêmicos em pele. A fim de obter uma amostra que representou com 80% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa deste estudo, estimou-se necessário avaliar sete ratos por grupo (teste t de Student).

### 6.3 Animais

Foram avaliados um total de 112 ratos (*Rattus norvegicus*) fêmeas da linhagem Wistar, com cerca de seis a oito semanas de vida, pesando aproximadamente 180-220 gramas. Os animais estiveram condicionados a gaiolas no biotério de experimentação do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Ceará, em temperatura média de 24° C, com ciclos de 12 horas de luz-escuro e água e alimentação *ad libitum*.

#### 6.3.1 Grupos doses e administração da Naltrexona

Os animais foram aleatoriamente (comando aleatório, *Microsoft Excel*) distribuídos em quatro grupos: três grupos experimentais sob administração de Naltrexona em diferentes doses e um grupo controle sob administração de solução salina.

Foi adotada a dose baixa de Naltrexona de 0,5mg/kg/dia e padrão de 10mg/kg/dia, obtida mediante a conversão da dose em humanos (5mg e 100mg, respectivamente) (TOLJAN; VROOMAN, 2018) (Tabela 2) para a dose animal, utilizando a formula baseada na área da superfície corporal (BSA), em que a dose humana (mg/kg) = dose animal (mg/kg) \* [km animal/km humano] (REAGAN-SHAW; NIHAL; AHMAD, 2008).

Com a finalidade de atingir o bloqueio contínuo dos receptores opioides foi adotada uma dose alta de 50mg/kg, baseada em estudos que observaram que essa dose manteve o bloqueio dos ROs em ratos durante 24 horas (ZAGON; MCLAUGHLIN, 1983; 1984) (Tabela 1).

Para conferir a segurança da dose alta de Naltrexona selecionada, considerou-se a dose letal 50 oral em ratos (1550mg/kg) (NALTREXONE: USES, INTERACTIONS, MECHANISM OF ACTION | DRUGBANK ONLINE, 2022) . No que diz respeito à toxicidade crônica, um estudo relatou que não foram observados sinais de toxicidade em ratos atribuídas à medicação (100mg/kg/dia, em dois anos de avaliação) (BRAUDE; J. MICHAEL MORRISON., 1976).

O medicamento foi diluído em solução salina em concentração inicial de 25mg/ml, seguidamente, realizaram-se diluições consecutivas para atingir as concentrações de 5mg/ml, e 0,25mg/ml. O grupo controle foi tratado com solução salina 0,9% (Tabela 3).

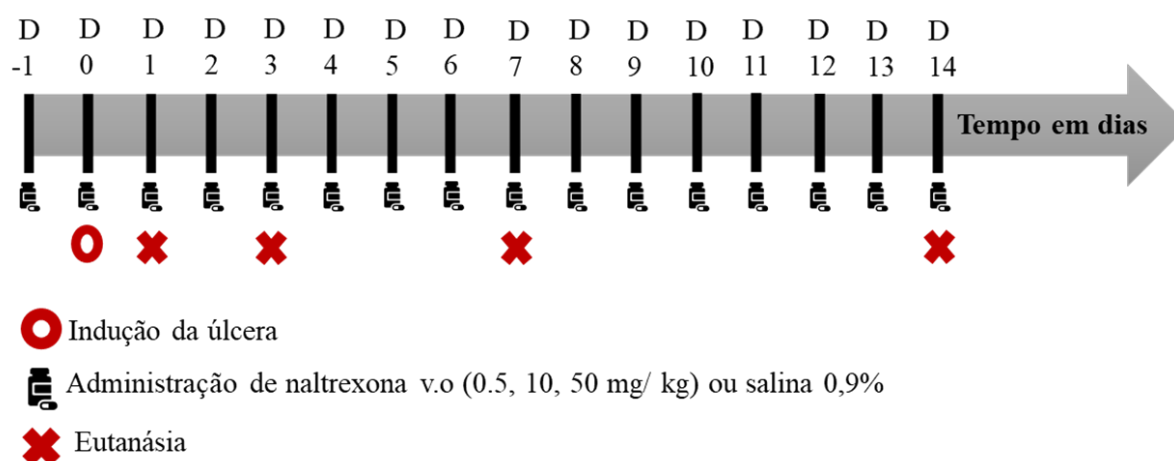
**Tabela 3.** Distribuição amostral dos animais tratados com diferentes doses de Naltrexona e submetidos a modelo experimental de úlcera traumática oral

<b>Dias de eutanásia</b>	<b>Salina</b>	<b>Naltrexona 0,5mg/kg/dia</b>	<b>Naltrexona 10mg/kg/dia</b>	<b>Naltrexona 50mg/kg/dia</b>	<b>Total</b>
<b>1</b>	7	7	7	7	28
<b>3</b>	7	7	7	7	28
<b>7</b>	7	7	7	7	28
<b>14</b>	7	7	7	7	28
<b>total</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>28</b>	<b>112</b>

Fonte: Autora

A administração do medicamento iniciou o dia anterior (D-1) à indução da úlcera (D0) e foi repetida diariamente às 8 horas até o dia 14 do experimento. A eutanásia foi realizada em quatro momentos durante o processo de cicatrização (D1, D3, D7 e D14) (adaptado de MESQUITA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2011). (Figura

**Figura 4.** Imagem ilustrativa do protocolo experimental contendo os dias de administração, indução de úlcera e momentos de eutanásia



Fonte: Autora

### 6.3.2 Indução das úlceras orais

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (I. P.) com quetamina 10% (80mg/kg) e xilazina 2% (10mg/kg) com prévia antissepsia com gluconato de clorexidina 0,12%. As úlceras foram induzidas na mucosa jugal esquerda usando um *punch* dermatológico circular com 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade. Finalmente, o tecido remanescente foi removido com uma lâmina nº 15 de bisturi de Bad Parker e os animais ficaram em observação até que recobriram os reflexos (adaptado de MESQUITA et al., 2018; CAVALCANTE et al., 2011).

### 6.4 Análises clínicas: tamanho da úlcera e variação de peso

Após a eutanásia, as úlceras foram medidas no maior e no menor diâmetro (D = maior diâmetro e d = menor diâmetro) com um paquímetro digital (Digimess®) de 0,01mm de precisão. Essas medidas foram usadas para calcular a área ( $A = \pi \cdot d \cdot D / 4$ ) ulcerada. As úlceras foram retiradas e acondicionadas em formol tamponado 10% por 24 horas para o processamento histológico (MESQUITA et al., 2018).

O peso dos animais foi registrado diariamente. Para o cálculo da variação percentual da massa corpórea inicial, considerou-se o peso no dia de indução da úlcera e no dia da eutanásia (MESQUITA et al., 2018).

## 6.5 Análise histológica

Após eutanásia, as amostras foram fixadas em formol 10% por 48 horas, emblocadas em parafina, e seccionados a 3µm para montagem em lâmina histológica. Finalmente, realizou-se coloração com hematoxilina-eosina e observação no microscópio óptico.

A avaliação histológica considerou a continuidade do tecido epitelial, mediante o escore 0 (ausência de úlcera) e 1 (presença de úlcera) (adaptado de Cavalcante et al., 2011). O tecido conjuntivo foi avaliado usando os escores 0 (tecido conjuntivo remodelado); 1 (Fibrose/Presença de discretas células inflamatórias mononucleares dispersas); 2 (Fibrose/Presença de tecido de granulação + Infiltrado inflamatório mononuclear leve); 3 (Fibrose/Presença de tecido de granulação + Infiltrado inflamatório mononuclear moderado ou intenso); 4 (Fibrose/Presença de tecido de granulação + Infiltrado inflamatório misto); e, 5 (processo agudo constituído por vasos ectásicos, edema e infiltrado inflamatório, predominantemente neutrofílico) (adaptado de Cavalcante et al., 2011).

## 6.6 Análise histomorfométrica: avaliação do infiltrado inflamatório e fibroblastos

Selecionaram-se cinco microcampos de cada lâmina coloradas com hematoxilina-eosina (três na superfície e dois na profundidade) totalizando 1,30mm<sup>2</sup>. Os microcampos foram fotografados no aumento de 400x utilizando um microscópio (DM2000, Leica®) com câmera (DFC295, Leica®) e *software* (LAS, Leica®) acoplados. Foi realizada a contagem total de células (polimorfonucleares, mononucleares, fibroblastos/miofibroblastos) utilizando o comando *Cell counter* do *software ImageJ*® (MESQUITA et al., 2018).

## 6.7 Análise histoquímica: avaliação do percentual de colágeno

A deposição de colágeno foi avaliada usando a coloração de Picrosirius Red. Para isso, cortes de 3 µm foram desparafinados em estufa a 60°C por 3 horas, reidratados, incubados em Picrosirius (*ScyTek*®) durante 30 minutos e lavados rapidamente em dois banhos de ácido clorídrico 5%. Finalmente, as amostras foram contracoradas com hematoxilina de Harris por 45 segundos (MESQUITA et al., 2018).

Após a coloração, cinco microcampos de cada lâmina foram fotografados de acordo com a metodologia descrita para as lâminas de hematoxilina-eosina. As imagens se exportaram para o *software Image J*® e foram calibradas visando selecionar apenas a marcação em vermelho. Para isso, utilizou-se o comando *Color Threshold (Image > Adjust > Color*

*Threshold*) na função RGB para ajuste de cores para vermelho (mínimo: 71, máximo: 255), verde (mínimo: 0, máximo: 69) e azul (mínimo: 0, máximo: 92). Após da calibração, as imagens foram convertidas para escala de 8-bits (*Image > Type > 8-bit*) e binarizadas (*Process > Binary > Make Binary*), e o total de área de colágeno foi mensurada mediante o comando (*Analyze > Analyze Particles*). A análise percentual de colágeno total foi realizada considerando a área colorida em vermelho (MESQUITA et al., 2018).

## **6.8 Avaliação da resposta nociceptiva**

Avaliou-se o limiar nociceptivo dos animais mediante o ensaio de nocicepção de Von Frey. Com a finalidade de condicioná-los, os animais foram expostos ao procedimento três dias anteriores ao início de experimento. Logo, para a realização do ensaio, os animais foram alocados em caixas separadas em uma sala isolada e silenciosa com luz vermelha durante 5 minutos. Em seguida, um operador calibrado entrou na sala e posicionou o animal pressionando-lhe ligeiramente contra o fundo da caixa. O Von Frey eletrônico foi localizado na bochecha lateral à úlcera, sendo pressionado até aparecer o reflexo de escape. A medição foi realizada 3 vezes em cada bochecha (adaptado de ANDRADE, 2017).

## **6.9 Avaliação dos efeitos da Naltrexona em parâmetros comportamentais**

Os efeitos adversos mais frequentemente descritos com a administração da Naltrexona são cefaleia e náuseas. Em menor medida, também foram relatados alterações no padrão da ingestão de alimentos (anorexia), vômito, dor abdominal, astenia ou inquietude. Finalmente, com doses maiores do que 1000mg/kg, a Naltrexona pode gerar tremores, convulsões, aumento da salivação e atividade motora reduzida (NALTREXONE - DRUGBANK, 2020; SERECIGNI, 2015). Tendo em vista que as doses utilizadas neste estudo são menores do que 1000mg/kg, foram avaliados apenas os efeitos adversos descritos para as doses terapêuticas.

Para isso, a quantidade de alimentos consumidos pelos animais dos grupos experimentais e controle foi contabilizada diariamente. Ao finalizar o experimento, as ingestas foram comparadas.

Avaliaram-se de forma dicotômica (0: ausência; 1: presença) a existência das seguintes sinais sugestivas de dor abdominal: arqueio das costas para cima; contorção lateral dos músculos abdominais do flanco; e espasmos de qualquer parte do corpo (ROUGHAN; FLECKNELL, 2001). Também, classificou-se em graus o aspecto das fezes, sendo: 0 - aspecto normal; 1 - levemente amolecidas; 2 - úmidas com pouca sujidade perianal; 3 - úmidas com

bastante sujidade perianal, e 4 - morte do animal em decorrência de diarreia (KURITA et al.2000).

Considerando que os animais foram expostos a lesões orais dolorosas, valoramos o grau de bem-estar utilizando a escala de Grimace, que considera as unidades de ações faciais (AU), abertura dos olhos, angulação de focinho, posição das vibrissas e angulação das orelhas. Cada AU foi mensurada, diariamente, a partir dos seguintes graus: 0 - AU ausente; 1 - AU moderada; 2 - AU óbvia (SOTOCINAL et al., 2011; LANGFORD et al., 2010) .

### **6.10 Análise estatística**

Os dados quantitativos como área da úlcera, variação da massa corpórea, análise histomorfométrica e deposição de colágeno foram expressos em forma de média  $\pm$  SEM. Estes dados foram analisados pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e comparados pelo teste ANOVA-1-way e ANOVA-2-way, seguido do pós-teste de Bonfferoni, quando resultaram paramétricos. Os dados não paramétricos e os dados qualitativos ordinais como escores histológicos foram expressos como mediana (máxima e mínima) e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Mann-Whitney com ajuste de Bonferroni.

Para todas as análises foi considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 5% ( $p < 0.05$ ), e utilizou-se o *software* estatístico GraphPad Prism 5.0®.

## 7 RESULTADOS

### 7.1 A Naltrexona em dose de 10 e 50mg/kg/dia diminuíram a área de úlcera em mucosa jugal de ratos Wistar submetidos a modelo de úlcera traumática oral.

A área de úlcera diminuiu significativamente ao longo do tempo ( $p < 0,001$ ) em todos os grupos de tratamento. No dia seguinte à indução, encontrou-se menor área nos grupos tratados com Naltrexona em dose de 10mg/kg/dia ( $17 \pm 0,8 \text{ mm}^2$ ) e 50mg/kg/d ( $16,3 \pm 0,8 \text{ mm}^2$ ), quando comparados ao grupo controle ( $25 \pm 0,6 \text{ mm}^2$ ) ( $p < 0,001$ ). Nos dias três e quatorze a área de úlcera do grupo Naltrexona 50mg/kg/dia ( $13,7 \pm 2,4 \text{ mm}^2$  e  $1,9 \pm 1,3 \text{ mm}^2$ , respectivamente) foi significativamente inferior ao grupo controle ( $19,6 \pm 1,3 \text{ mm}^2$ ;  $8,6 \pm 1,1 \text{ mm}^2$ ; respectivamente) ( $p < 0,001$ ). Não se observaram diferenças significativas na área de úlcera com a dose de 0,5mg/kg/dia ao longo do protocolo, nem com a dose de 10mg/kg/dia no terceiro, sétimo, e décimo quarto dia (Figura 5) (Tabela 4).

Em relação a variação ponderal, o peso dos animais aumentou ao longo do tempo ( $p < 0,001$ ), sem ser observadas diferenças significantes entre os grupos de tratamento (0,9288) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Parâmetros clínicos de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses

	Dias				p-Valor
	1	3	7	14	
<b>Área de úlcera (cm<sup>2</sup>)</b>					<b>&lt;0,0001</b>
<b>Controle</b>	25,0 ± 0,6	19,6 ± 1,3	8,3 ± 0,3	8,6 ± 1,1	
<b>Ntx 0,5mg/kg</b>	21,4 ± 1,0	18,2 ± 1,6	8,0 ± 1,7	9,8 ± 1,7	
<b>Ntx 10mg/kg</b>	17,0 ± 0,8***	15,1 ± 1,8	3,9 ± 1,1	5,8 ± 2,6	
<b>Ntx 50mg/kg</b>	16,3 ± 0,8***†	13,7 ± 2,4*	3,5 ± 0,5	1,9 ± 1,3**†††	
<b>Varição ponderal (%)</b>					0,9288
<b>Controle</b>	101,8 ± 0,7	104,9 ± 0,9	105,5 ± 0,9	111,5 ± 1,8	
<b>Ntx 0,5mg/kg</b>	99,4 ± 1,1	106,0 ± 0,9	106,5 ± 0,9	109,7 ± 1,7	
<b>Ntx 10mg/kg</b>	99,8 ± 0,6	104,4 ± 0,9	104,3 ± 0,8	114,1 ± 1,2	

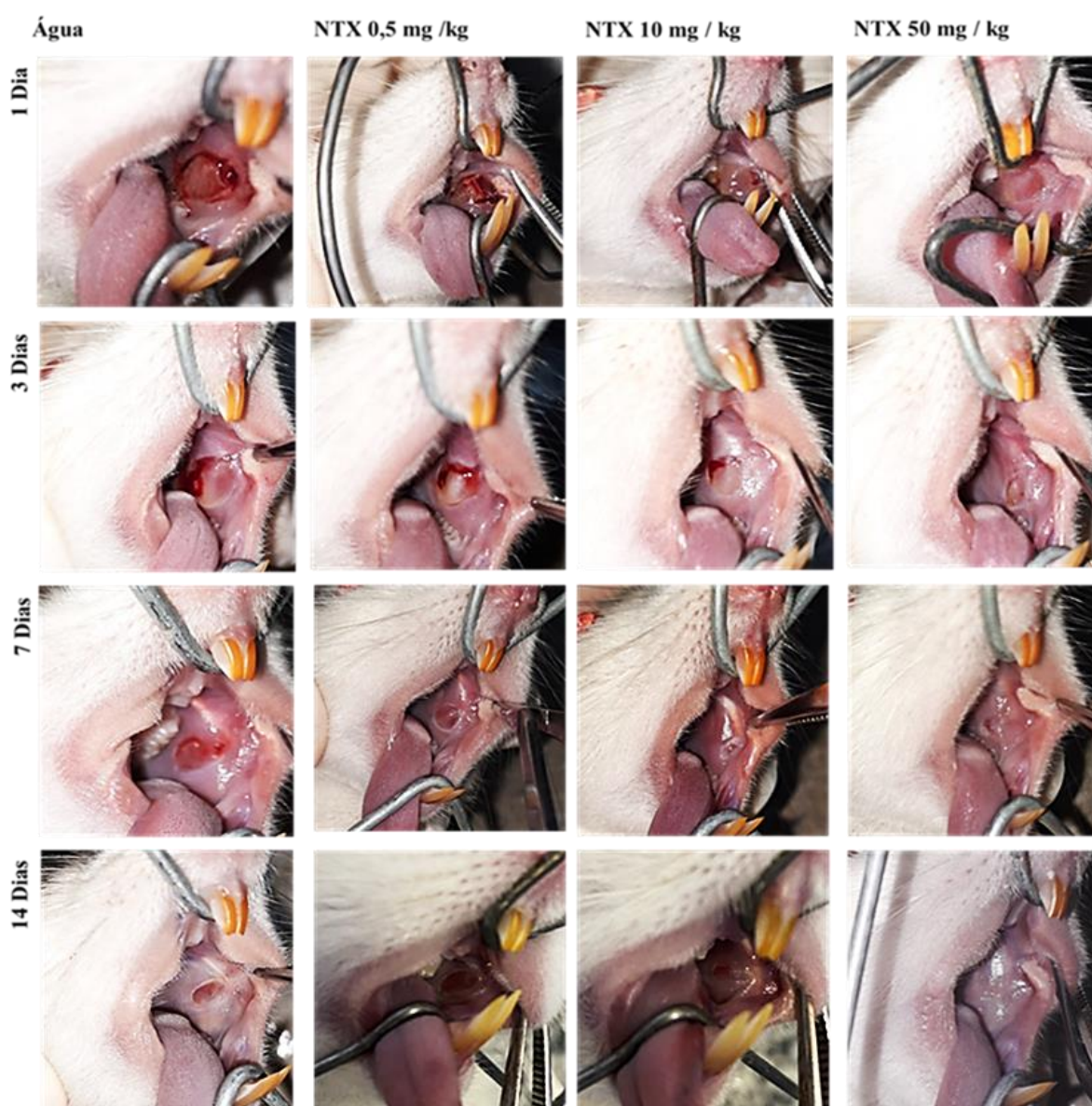
*continua*

	Dias				p-Valor
	1	3	7	14	
<b>Varição ponderal (%)</b>					0,9288
<b>Ntx 50mg/kg</b>	99,2±1,5	103,8±0,6	106,6±1,2	112,8±1,4	

**Conclusão**

Teste ANOVA 2-way / Bonferrini (média ± EPM). \* p<0,05 versus controle; \*\* p<0,01 versus controle; \*\*\* p<0,001 versus controle. †p<0,05 versus NTX 0,5 mg/kg; †††p<0,001 versus NTX 0,5 mg/kg.

**Figura 5.** Perfil de cicatrização clínica de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos em tratamento com Naltrexona



Fotografias clínicas de úlceras orais em animais tratados com diferentes doses de Naltrexona

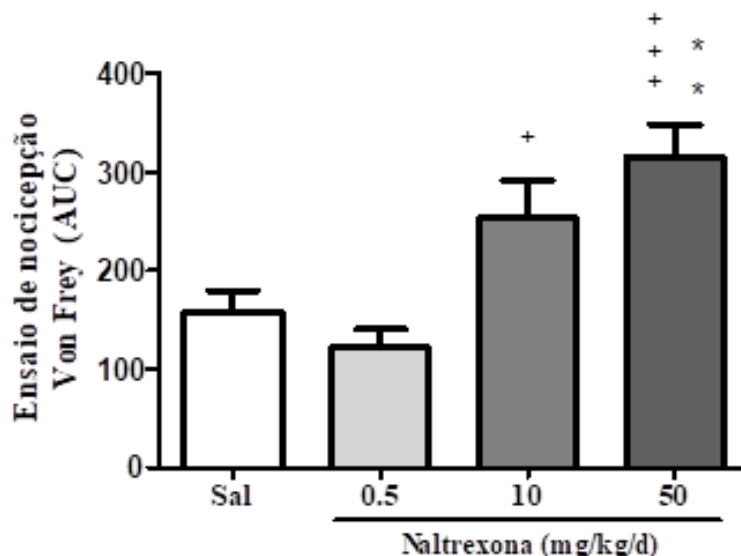


## 7.2 A Naltrexona em dose de 10 e 50mg/kg/dia diminuiu o limiar nociceptivo em ratos Wistar

Quando realizado ensaio de nocicepção de Von Frey, antes da indução da úlcera, observou-se que os grupos tratados com Naltrexona 10 e 50mg/kg/dia apresentaram maior limiar nociceptivo ( $38,3 \pm 10,9$  gF e  $39,4 \pm 10,5$  gF, respectivamente) quando comparados ao grupo tratado com Naltrexona 0,5mg/kg/dia e ao grupo controle ( $10,9 \pm 3,2$  gF e  $20,6 \pm 3,4$  gF, respectivamente) ( $p < 0,006$ ). No período compreendido desde o dia primeiro até o décimo terceiro, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos. No entanto, no décimo quarto dia o grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia novamente apresentou níveis maiores de resistência à dor ( $29,0 \pm 7,9$  gF) quando comparado ao grupo tratado com Naltrexona 0,5mg/kg/dia ( $2,7 \pm 0,9$  gF) ( $p = 0,006$ ).

A média da área sob a curva de resistência à dor, ao longo dos quatorze dias, foi significativamente superior no grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia ( $314,9 \pm 34,1$  gF) quando comparado aos grupos Naltrexona 0,5mg/kg/dia e controle ( $121,4 \pm 18,7$  gF e  $156,9 \pm 23,0$  gF, respectivamente) ( $p = 0,0003$ ) (figura 6).

**Figura 6.** Perfil nociceptivo de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses



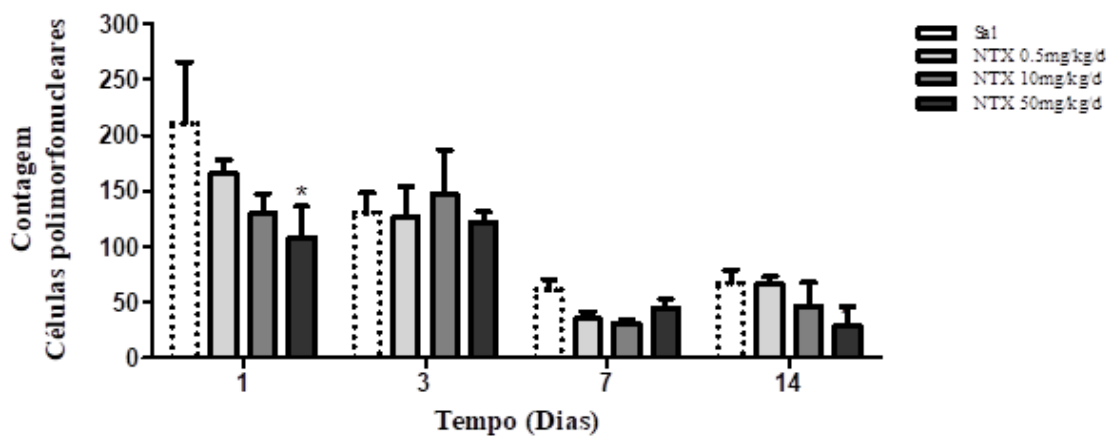
Limiar nociceptivo. Área sob a curva. Teste ANOVA 1 way / Bonferrini. \*\*  $p < 0,01$  versus controle; +  $p < 0,05$  versus naltrexona 0,5mg/kg/dia; +++  $p < 0,001$  versus naltrexona 0,5mg/kg/dia.

### 7.3 A Naltrexona em dose de 50mg/kg/dia influenciou parâmetros histomorfométricos e o estadiamento histológico de úlceras traumáticas em ratos Wistar

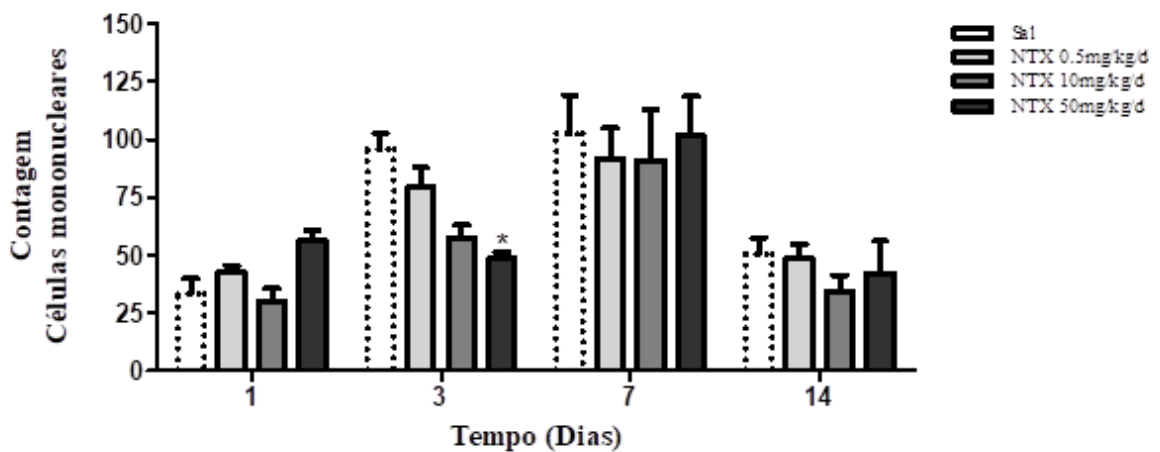
A quantidade de células polimorfonucleares reduziu de forma significativa conforme ao tempo ( $p < 0,0001$ ). O grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia evidenciou menor número de células polimorfonucleares ( $108,43 \pm 27,8$ ), em contraste com o grupo controle, no dia 1 do protocolo ( $210,8 \pm 55,3$ ) (Figura 7-A; Figura 9). No que diz respeito às células mononucleares, observou-se no terceiro dia uma quantidade significativamente inferior no grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia ( $48,7 \pm 2,7$ ), comparado com o grupo controle ( $95,8 \pm 6,9$ ) (Figura 7-B; Figura 9).

**Figura 7** Perfil histomorfométrico em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses: células inflamatórias

A.



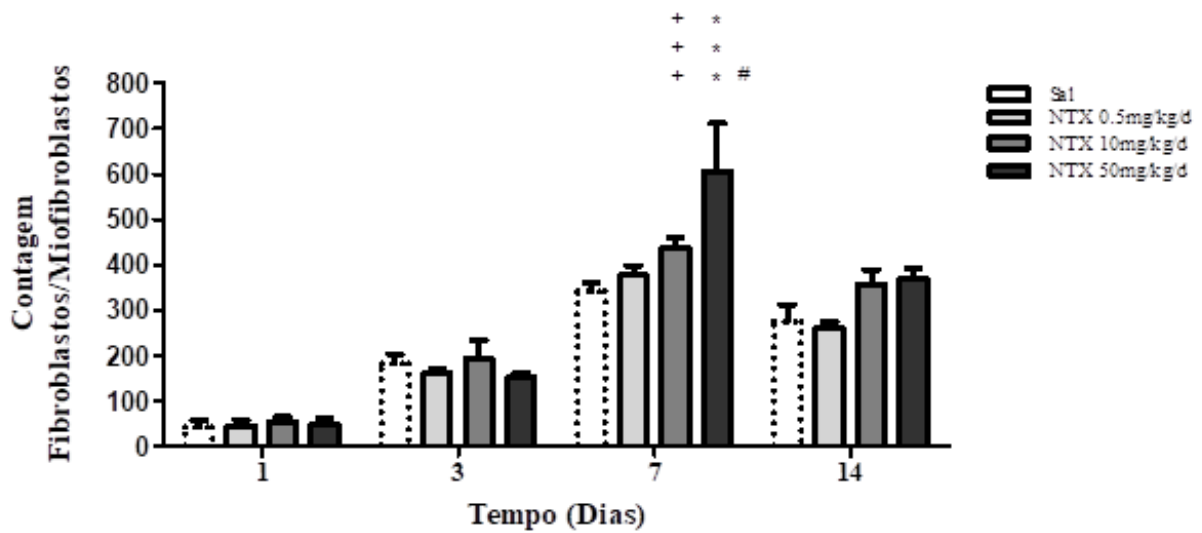
B.



A: Contagem de células polimorfonucleares; B: Contagem de células mononucleares; Teste ANOVA 2 way /Bonferrini. \*  $p < 0,05$  versus controle;

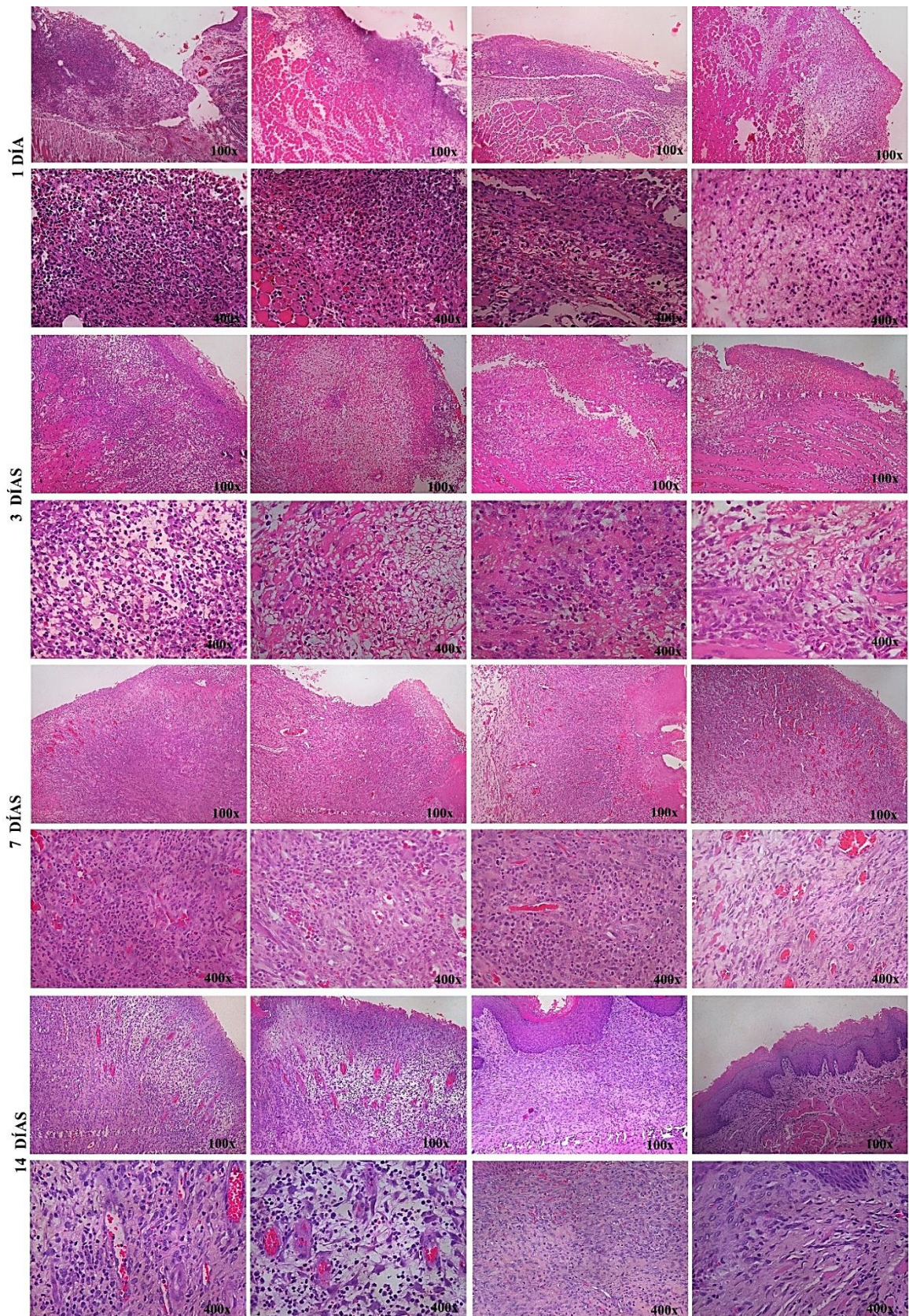
O número de fibroblastos aumentou de forma significativa conforme ao tempo ( $p < 0,0001$ ). No sétimo dia após a indução da úlcera, inclusive, evidenciou-se maior número de fibroblastos no grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia ( $607,1 \pm 105,5$ ) quando comparado com o grupo controle ( $341,4 \pm 19,0$ ) e o grupos tratados com Naltrexona 0,5 e 10mg/kg/d ( $376,7 \pm 21,8$  e  $436,7 \pm 22,3$ , respectivamente) ( $p = 0,0031$ ) (Figura 8; Figura 9).

**Figura 8.** Perfil histomorfométrico em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses: fibroblastos/ miofibroblastos



Contagem de fibroblastos/miofibroblastos. Teste ANOVA 2 way/Bonferrini. \*\*\*  $p < 0,001$  versus controle; +++  $p < 0,001$  versus NTX 0,5mg+/kg/dia; #  $p < 0,05$  versus NTX 10mg/kg/dia.

**Figura 9.** Perfil de cicatrização histológica em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses



Microscopia óptica, tinção com Hematoxilina e Eosina em aumento de 100X e 400X

Na avaliação do tecido conjuntivo, os escores histológicos reduziram de forma significativa nos dias 7 e 14 quando comparados ao dia 1 ( $p < 0,05$ ). No dia quatorze, os grupos tratados com Naltrexona 10 e 50mg/kg/dia apresentaram escores significativamente inferiores (1 (0-4), 2 (0-4), respectivamente) ao grupo controle (4 (2-4)) ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5).

Em relação ao tecido epitelial, 43% dos animais tratados com Naltrexona 50mg/kg/dia apresentaram reepitelização completa das lesões, sendo estatisticamente significativo quando comparado ao grupo controle e Naltrexona 0,5mg/kg/dia (0%) ( $p < 0,05$ ). No grupo Naltrexona 10mg/kg/dia, 14% e 29% dos animais evidenciaram restituição completa do recobrimento epitelial nos dias 7 e 14, respectivamente, no entanto, esses valores não demonstraram significância estatística. Finalmente, 0% dos animais dos grupos controles e Naltrexona 0,5mg/kg/dia apresentaram reepitelização completa ao longo do protocolo (Tabela 5).

**Tabela 5.** Escores histológicos de ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses

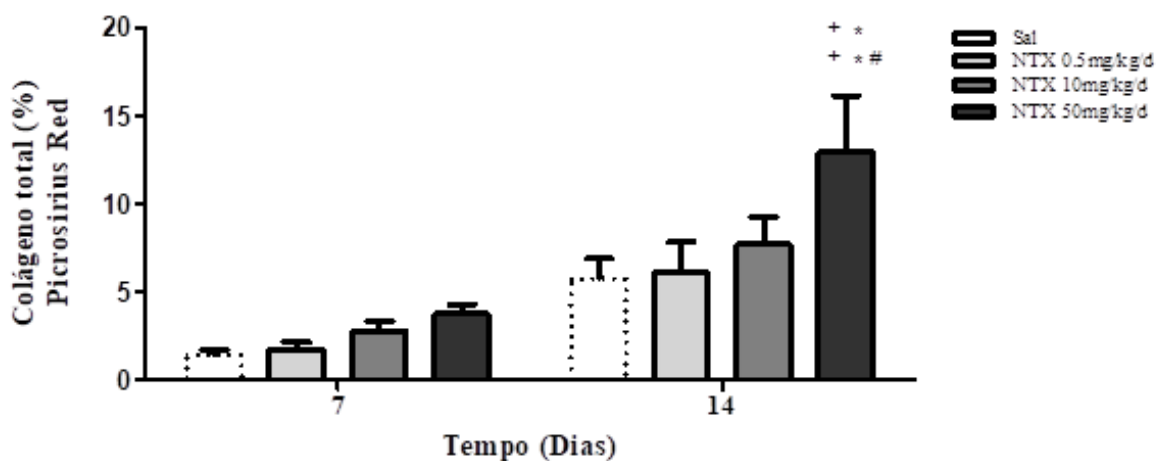
	Dias				<i>p-Valor</i>
	1	3	7	14	
<b>Tecido conjuntivo</b>					
<b>Controle</b>	5 (5-5)	5 (5-5)	4 (4-4)*	4 (2-4)*	<b>&lt;0,001a</b>
<b>Ntx 0,5mg/kg</b>	5 (5-5)	5 (5-5)	4 (3-4)*	4 (4-4)*	<b>&lt;0,001a</b>
<b>Ntx 10mg/kg</b>	5 (5-5)	5 (5-5)	4 (1-4)*	1 (0-4)*+	<b>&lt;0,001a</b>
<b>Ntx 50mg/kg</b>	5 (5-5)	5 (5-5)	4 (3-4)*	2 (0-4)*+	<b>&lt;0,001a</b>
<b><i>p-Valor</i></b>	<b>1,000a</b>	<b>1,000a</b>	<b>0,194a</b>	<b>0,016a</b>	
<b>Epitélio</b>					
<b>Controle</b>	0%	0%	0%	0%	<b>1,000b</b>
<b>Ntx 0,5mg/kg</b>	0%	0%	0%	0%	<b>1,000b</b>
<b>Ntx 10mg/kg</b>	0%	0%	14%	29%	<b>0,250b</b>
<b>Ntx 50mg/kg</b>	0%	0%	0%	43%*+	<b>0,018b</b>
<b><i>p-Valor</i></b>	<b>1,000b</b>	<b>1,000b</b>	<b>0,375b</b>	<b>0,043b</b>	

\* $p < 0,05$  versus dia 1; + $p < 0,05$  versus Salina; a Teste Kruskal-Wallis/Dunn, b Teste qui-quadrado

#### 7.4 A Naltrexona em dose de 50mg/kg/dia favoreceu a deposição de colágeno em úlceras traumáticas de ratos Wistar

O percentual de colágeno total aumentou conforme ao tempo ( $p < 0,0001$ ). No dia quatorze, o grupo tratado com Naltrexona 50mg/kg/dia evidenciou maior percentual de colágeno total ( $13,0 \pm 3,8 \%$ ) quando comparado com o grupo Naltrexona 10mg/kg/dia, Naltrexona 0,5mg/kg/dia, e controle ( $7,7 \pm 1,5$ ;  $6,1 \pm 1,8$ ;  $5,7 \pm 1,2 \%$ , respectivamente) ( $p = 0,0069$ ) (Figura 10; Figura 11).

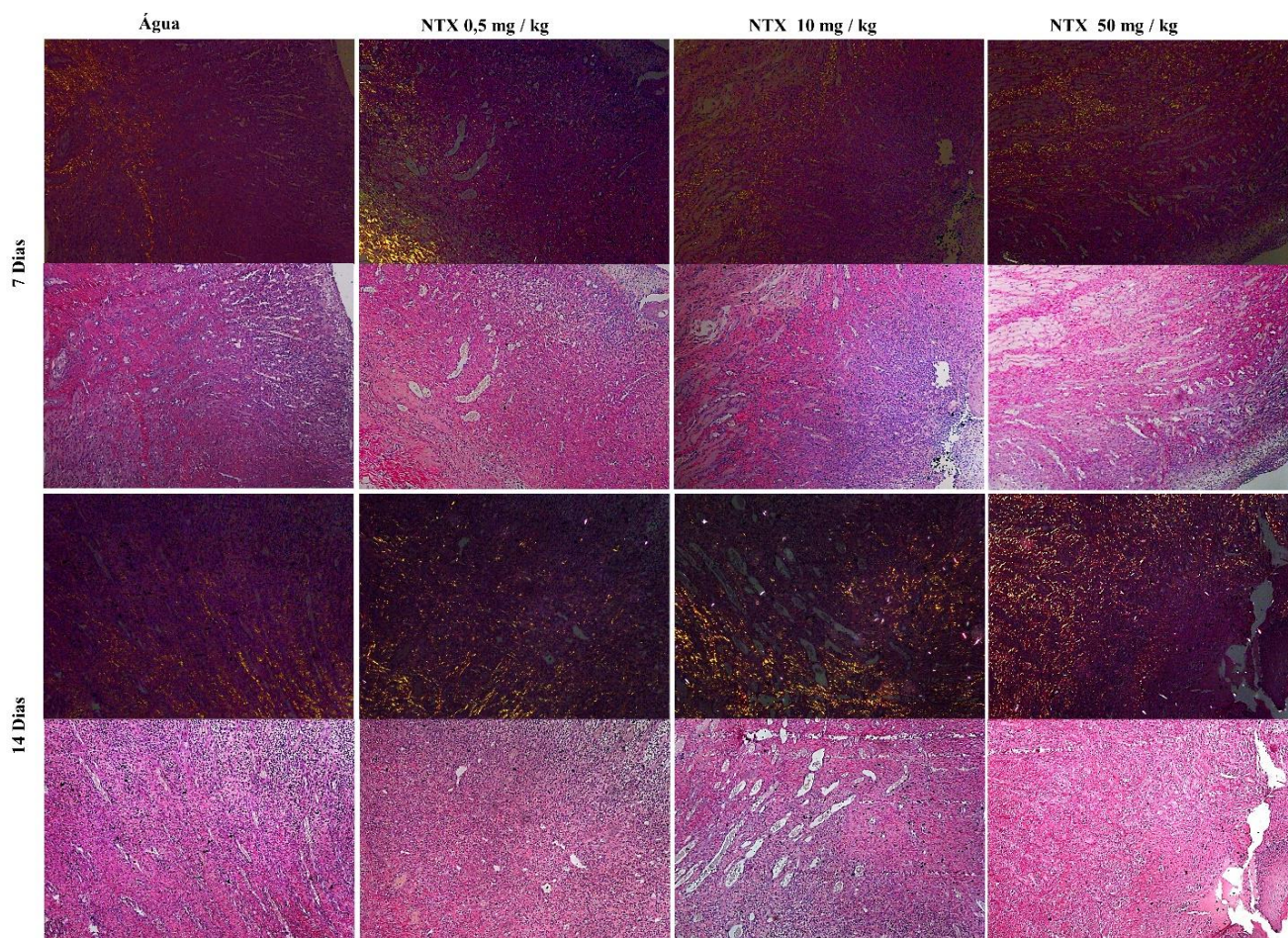
**Figura 10.** Análises de deposição de colágeno em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses



Percentuais de colágeno total. Teste ANOVA 2- way/Bonferrini. \*\*  $p < 0,01$  versus controle; ++  $p < 0,01$  versus naltrexona 0,5 mg/kg/dia; #  $p < 0,05$  versus naltrexona 10mg/kg/dia.



**Figura 11.** Perfil de deposição de colágeno em ratos submetidos a modelo de úlcera traumática oral e tratados com Naltrexona em diferentes doses



Microscopia de luz polarizada, coloração de Picosirius Red. Aumento: 100x

### 7.5 A Naltrexona não gerou efeitos adversos significativos em ratos Wistar

O consumo de ração não variou de maneira significativa entre os grupos ( $p= 0,44$ ). No que diz respeito ao peso dos animais, observou-se aumento significativo ao longo do tempo ( $p<0,001$ ), sem diferenças com significância estatística entre os grupos ( $p=0,93$ ).

Sinais de dor abdominal estiveram ausentes em todo os grupos ao longo do protocolo. Todos os animais mantiveram score 0 na avaliação das fezes.

A Naltrexona não influenciou o bem-estar dos animais. Os escores de sofrimento, obtidos mediante escala de Grimace, foram mais altos nos primeiros dias do experimento ( $p<0,0001$ ), sendo homogêneo entre os grupos ( $p= 0,863$ ) (*data nota show*).



## 8 DISCUSSÃO

A Naltrexona é um antagonista não seletivo dos receptores opioides usada classicamente para o tratamento de dependência química em uma dose classificada como padrão que varia de 50 a 100mg (TOLJAN; VROOMAN, 2018). Aparentemente, a interação da Naltrexona com os ROs pode influenciar processos celulares vinculados à resposta cicatricial com proliferação, diferenciação e apoptose (CHEN; LAW; LOH, 2008; HAMMER et al., 2016; IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; LIN et al., 2021; WANG et al., 2017). Ainda, outra dose de Naltrexona classificada como baixa, que varia de 1 a 5mg, é atualmente estudadas por ter um efeito imunomodulador (TOLJAN; VROOMAN, 2018). Neste estudo, foi avaliado pela primeira vez, na mucosa oral, e, em um modelo animal de cicatrização sem doença sistêmica de base, o efeito da Naltrexona em dose baixa, padrão e alta.

A dose alta de 50mg/kg/dia e padrão de 10mg/kg/dia, favoreceu a cicatrização de úlceras traumáticas na mucosa oral de ratos Wistar. Porém, a dose baixa de 0,5mg/kg/dia não influenciou o processo de cicatrização. Estudos anteriores avaliaram a Naltrexona tópica, com frequências de aplicação que variaram de uma a quatro vezes por dia, em feridas de pele (MCLAUGHLIN et al., 2017; MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013), feridas da córnea (ZAGON et al., 2010, 2006) e relatos de casos (DUNN et al., 2021), observando melhoria dos parâmetros cicatriciais avaliados. A administração sistêmica de Naltrexona em alta dose (30mg/kg duas vezes por dia ) favoreceu o processo de reepitelização em feridas de córnea (ZAGON et al., 2002), (ZAGON et al., 2002), enquanto outro estudo relatou aumento da síntese de DNA e mitose na camada basal do epitélio de córnea, com a dose anteriormente mencionada (ZAGON; SASSANI; MCLAUGHLIN, 2006). Ainda, Nezami et al. (2009) observaram que a administração aguda e crônica de Naltrexona sistêmica na dose alta de 20mg/kg favoreceu a sobrevida de retalhos isquêmicos.

Em geral, a administração tópica e sistêmica em dose alta ou padrão de Naltrexona, relaciona-se com favorecimento do processo cicatricial. Os mecanismos implicados na ação cicatricial da Naltrexona ainda são de difícil interpretação, principalmente pela sua natureza de antagonista não seletivo. O sistema opioide endógeno expõe diferentes receptores e ligantes implicados na proliferação, apoptose (CHEN; LAW; LOH, 2008; LIN et al., 2021; WANG et al., 2017), migração, e adesão celular (BIGLIARDI-QI; BIGLIARDI, 2015; WANG et al., 2017), que poderiam participar da cicatrização. Nesse sentido, foi relatado que a expressão de MOPr e endorfina *beta* aumentaram em feridas cutâneas. Além disso, nos animais *Knock out* para MOPr observou-se cicatrização retardada em todas as fases do processo, e nos animais

*Knock out* para DOPr a reepitelização encontrou-se afetada (WANG et al., 2017), se associando a superexpressão deste último receptor, com uma diminuição da expressão das caderinas desmossomais (BIGLIARDI et al., 2015). Observou-se também que a administração de morfina aumentou a proliferação e migração das células endoteliais, e que esse efeito favorável no processo de cicatrização foi revertido com o uso de antagonistas não seletivos (WANG et al., 2017). No entanto, outro estudo relatou em um modelo de ferida murina que a administração crônica de morfina suprimiu a angiogênese e reduziu os miofibroblastos, retardando o fechamento da ferida (MARTIN et al., 2010).

No presente estudo, o antagonismo não seletivo sobre o sistema opioide endógeno com Naltrexona (50mg/kg) favoreceu parâmetros clínicos, histológicos e histomorfométricos do processo de cicatrização. Mesmo que a influência de variados ROs seja descrita no processo cicatricial, a ação favorável da Naltrexona em dose alta e padrão talvez possa ser explicada pelo antagonismo do OGFr, um RO associado ao envelope nuclear que regula positivamente as vias inibitórias das cinases dependentes de ciclina, agindo como inibidor tônico da proliferação celular. Desse modo, quando antagonizado de forma contínua favorece processos proliferativos (HAMMER et al., 2016; IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014; MCLAUGHLIN; STUCKI; ZAGON, 2012; MCLAUGHLIN; ZAGON, 2015; ZAGON et al., 2011; ZAGON; VERDERAME; MCLAUGHLIN, 2002). O bloqueio seletivo desse receptor em um modelo *in vitro* e *in vivo* aumentou a proliferação de fibroblastos e acelerou a cicatrização de feridas cutâneas. Interessantemente, esse efeito não foi observado quando bloqueados de maneira seletiva por MOPr, DOPr e KOP (IMMONEN; ZAGON; MCLAUGHLIN, 2014).

Similarmente, os resultados do presente estudo mostram uma relação favorável entre o uso de Naltrexona (50 mg/kg/dia) e a fibroplasia, uma vez que os achados histomorfométricos evidenciaram aumento no número de fibroblastos no sétimo dia após a indução das úlceras, e aumento no percentual de colágeno total aos quatorze dias. Ainda, os escores histológicos de avaliação do tecido conjuntivo indicaram que a Naltrexona em alta dose favoreceu fibroplasia e maturação do tecido conjuntivo. O tratamento com Naltrexona foi previamente associado à promoção da síntese e maturação do colágeno. Por exemplo, um estudo em feridas cutâneas de animais diabéticos encontrou que a Naltrexona tópica diminuiu o número de fibroblastos expressando metaloproteinase 2 e acelerou a maturação do tecido de granulação, melhorando também a resistência à tração nas feridas. Acredita-se que a Naltrexona favoreça a proliferação de mastócitos, células endoteliais e células musculares lisas, promovendo a angiogênese e a formação de colágeno (MCLAUGHLIN; IMMONEN; ZAGON, 2013).

Ainda, foi observado no presente modelo, um aumento significativo do percentual de lesões com reepitelização completa aos quatorze dias nos animais tratados com 50mg/kg/dia de Naltrexona, sugerindo que esta, em alta dose e em menor medida em dose padrão, também pode promover a proliferação dos queratinócitos. Em relação a isso, um estudo realizado em feridas de animais diabéticos encontrou que o tratamento com Naltrexona favoreceu a síntese de DNA em células epiteliais basais e aumento da expressão de PDGF (MCLAUGHLIN et al., 2017).

Pesquisas anteriores a este estudo situam a ação cicatrizante da Naltrexona nas fases de proliferação e remodelação, sem considerar o efeito na resposta inflamatória. Devido a isso, foram contabilizadas células inflamatórias ao longo do protocolo, observando-se diminuição das células polimorfonucleares no dia posterior a indução e diminuição de células mononucleares no terceiro dia após indução. Essas células diminuíram conforme aumentada a dose de Naltrexona, porém, unicamente com a dose alta (50mg/kg/dia), foi encontrada significância estatística. Ainda, clinicamente evidenciou-se que o diâmetro das úlceras no dia após indução foi significativamente menor no grupo sob administração de Naltrexona em alta dose quando comparado ao grupo controle. Esse achado, junto com a redução das células inflamatórias, pode indicar que a Naltrexona em alta dose seja capaz de reduzir a resposta inflamatória aguda no início da cicatrização, favorecendo a transição para a fase proliferativa.

Curiosamente, os efeitos imunossupressores com doses alta e padrão de Naltrexona não são comumente abordados na literatura, sendo estes atribuídos às doses baixas (LI et al., 2018; TOLJAN; VROOMAN, 2018) e explicados principalmente por atividade antagônica sobre TLR4 (YOUNGER; PARKITNY; MCLAIN, 2014). Outros autores consideram que a dose baixa de Naltrexona leva a diminuição na proliferação de células inflamatórias mediada por OGF $\alpha$  (ZAGON; MCLAUGHLIN, 2018). No presente estudo observou-se com a dose baixa (0,5mg/kg/dia) redução no número de células polimorfonucleares no primeiro dia e mononucleares no terceiro dia. No entanto, sem significância estatística. É importante considerar que a maioria dos estudos que avaliaram a imunomodulação com baixa dose de Naltrexona trabalharam na base de doenças imunomediadas com estados inflamatórios exacerbados, o que difere da presente pesquisa, realizada em animais sem doença sistêmica de base.

Wang et al. (2016) observaram em um modelo inflamatório em culturas de células que o óxido nítrico, as espécies reativas de oxigênio e o TNF- $\alpha$  diminuíram significativamente conforme aumentada a dose de Naltrexona. Isto poderia indicar um efeito imunossupressor da Naltrexona com comportamento aditivo, similar ao observado na presente pesquisa. No entanto, mais evidências são necessárias. A avaliação da expressão dos TLRs e ROs pode orientar no

que diz respeito às vias relacionadas a inflamação usadas pela Naltrexona em alta dose no processo de cicatrização da mucosa oral.

TLR-4 tem sido amplamente relacionada ao efeito imunomodulador da Naltrexona em baixa dose. No entanto, a sua relação com a dose alta ainda não é abordada na literatura. Além deste receptor, variados receptores opioides são relacionados na literatura com a inflamação, podendo interagir com a Naltrexona. Nos tecidos periféricos, tem sido descrito que o agonismo do MOPr diminui a atividade de neutrófilos e macrófagos, reduz a viabilidade e proliferação das células T, e, conseqüentemente, a expressão de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8. (NINKOVIĆ; ROY, 2013). Há também evidências de que a ativação de KOPr pode regular a expressão de quimiocinas como CCL2 e CXCL8, e reduzir nos macrófagos a expressão de IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ . Finalmente, a atividade de DOPr também favoreceu a redução de citocinas de fase aguda como IL-6 e TNF- $\alpha$  (NAGATA et al., 2021). O sistema opioide endógeno é capaz de modular diretamente a imunidade inata e adquirida em tecidos inflamados, associando-se sua atividade a uma resposta imunossupressora (ROGERS, 2020).

Nesse sentido, o antagonismo contínuo dos ROs mencionados previamente estaria associado aos efeitos pro-inflamatórios. Um efeito contrário a esses foi observado nesta pesquisa com o uso de alta dose de Naltrexona. Portanto, é importante considerar a alta capacidade de modulação do sistema opioide endógeno, tendo presente a natureza não seletiva da Naltrexona e os seus diferentes níveis de afinidade pelos ROs, sendo este maior para MOPr (NAVA-MESA et al., 2015). Já tem sido descrito, em relação aos processos álgicos, que a administração de altas doses de Naltrexona pode levar a aumento funcional de KOPr como forma compensatória ao bloqueio de MOPr (BIANCHI; PANERAI, 1993; LEE et al., 2021). Assim, um efeito anti-inflamatório mediado por aumento funcional de KOPr e DOPr poderia explicar o efeito anti-inflamatório observado neste modelo. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar essa hipótese.

Embora a avaliação da dor não tenha sido o foco principal desta pesquisa, se antecipou como efeito adicional que o antagonismo nos receptores opióides influenciaria a experiência nociceptiva dos animais. Em relação ao efeito da Naltrexona em condições álgicas, os resultados das investigações, novamente, são ambivalentes, relacionando esse medicamento tanto à ausência de influência na resposta nociceptiva quanto ao aumento ou diminuição da percepção da dor (CHOI et al., 2003; UHELSKI; FUCHS, 2009; WOOLF, 1980). Aspectos como as doses do medicamento e a natureza da dor parecem ser os principais fatores na determinação dessas respostas.

Conseqüentemente, avaliou-se o bem-estar dos animais por meio da escala Grimace, constatando que a medicação com Naltrexona não influenciou o grau de sofrimento dos animais. A percepção da dor foi avaliada pelo teste de Von Frey e observou-se que as doses de 5 e 10mg/kg tiveram pouca influência na percepção da dor. Porém, com a dose alta (50mg/kg) evidenciou-se um aumento significativo do limiar nociceptivo.

De forma similar a esses resultados, Uhelski e Fuchs (2009) encontraram, em um modelo de dor inflamatória, que a Naltrexona em doses de 1, 5 e 10mg/kg não modificou a resposta a estímulos algícos. Pelo contrário, outros autores observaram em animais diabéticos um efeito paradoxal antinociceptivo associado a uma expressão de DOPr após a administração de baixas doses de naloxona (KAMEI; KAWASHIMA; KASUYA, 1992; (KAMEI; KAWASHIMA; KASUYA, 1992; SCULLY; FELIX, 2005). Porém, neste estudo, de maneira análoga à presente pesquisa, não foram observadas alterações significativas na experiência nociceptiva diante da dor inflamatória em animais saudáveis.

Já uma dose elevada de Naltrexona ou naloxona parece ser capaz de modificar a resposta nociceptiva em humanos e animais saudáveis, estando associada a um efeito analgésico. Conforme com o presente estudo, em que a dose de 50mg/kg reduziu a resposta nociceptiva, France et al. (2007) observaram que a administração de 50mg de Naltrexona durante dois dias em indivíduos jovens e saudáveis gerou uma resposta hipoalgésica à estimulação eletrocutânea. Ainda, Bianchi e Panerai (1993) acharam que 30mg/kg de naloxona foi capaz de gerar analgesia em animais em resposta à estimulação térmica. Finalmente, 10mg/kg de naloxona produziu um efeito analgésico em um modelo de dor inflamatória (BIANCHI; PANERAI, 1993).

O efeito analgésico da Naltrexona e da naloxona parece responder à ação central do sistema opioide, porém, o mecanismo ainda não foi elucidado. Sugere-se que deriva de uma perda do equilíbrio entre os sistemas MOP e KOP, gerando uma hipersensibilização do KOP quando o MOP é antagonizado. Nesse sentido, observou-se que em áreas relacionadas ao componente afetivo da dor, como a amígdala e o núcleo accumbens, a expressão de MOPr diminui e a expressão de dinorfina aumenta na presença de dor crônica (LEE et al., 2021). Acredita-se, assim, que o antagonismo no MOPr favoreceria um efeito antinociceptivo através de um aumento compensatório na interação da dinorfina com o KOPr (BIANCHI; PANERAI, 1993; LEE et al., 2021). Também foi sugerido que o bloqueio dos ROs poderia induzir uma resposta analgésica não opioide, através das vias descendentes do sistema inibitório da dor do tronco encefálico, mediada pela compensação da serotonina e seu receptor 5-HT2 (KATHARINE WALKER; POULOS; LE, 1994).

Além disso, a Naltrexona em alta dose reduziu a inflamação, sabe-se que durante a inflamação diversos mediadores alglicos como neuropeptídios e citocinas são sintetizados e liberados, principalmente pelas células imunes. Esses mediadores agem sinergicamente e alteram os mecanismos de transdução periférica do estímulo nociceptivo, reduzindo o limiar de dor (WILSON ANDRADE CARVALHO, 1998). A diminuição das células inflamatórias, observada nesta pesquisa, poder ter contribuído à redução dos mediadores nociceptivos, com consequente aumento do limiar de dor.

Considerando os resultados deste estudo e os diversos usos da Naltrexona descritos na literatura, o potencial clínico desse medicamento parece evidente. No que diz respeito a resposta cicatricial, este estudo encontrou que a dose alta reduziu o tempo de cicatrização das úlceras orais, aumentando a formação de colágeno e diminuindo a resposta inflamatória na fase inicial do processo de cicatrização. Como efeito adicional, a Naltrexona em alta dose aumentou o limiar nociceptivo dos animais. Finalmente, não foram observados efeitos adversos com as doses avaliadas neste estudo.

Apesar do benefício clínico observado, é importante destacar que devido a distribuição heterogênea dos receptores opioides nos tecidos corporais, a complexidade funcional do sistema opioide e sua plasticidade frente a estímulos agonistas e antagonistas, torna-se difícil especificar os mecanismos de ação e efeitos de medicamentos não seletivos, como a Naltrexona. Ainda, o estabelecimento de dosagens adequadas se torna desafiador uma vez que os medicamentos opioides podem desencadear efeitos paradoxais.

Neste estudo encontrou-se um efeito cicatrizante com a dose alta (50mg/kg/dia), e em menor medida a dose padrão (10mg/kg/dia), administradas pela via oral. Porém, o intervalo de doses utilizado nesta pesquisa respondeu ao interesse de conhecer os efeitos da dose baixa, padrão e alta. Apesar de não ter valores significativos, na maioria dos parâmetros avaliados com as doses padrão houve uma tendência à melhora dos parâmetros cicatriciais conforme aumento da dose. Mesmo que a Naltrexona em dose alta (50mg/kg/dia) tenha resultado segura neste modelo e que a toxicidade aguda (NALTREXONE: USES, INTERACTIONS, MECHANISM OF ACTION | DRUGBANK ONLINE, 2022) e crônica (BRAUDE; J. MICHAEL MORRISON., 1976) seja relatada apenas com doses amplamente superiores às utilizadas nesta pesquisa, encontrar dosagens menores com efeito cicatricial significativo e considerar formulações tópicas para a mucosa oral é desejável para o desenvolvimento de novos medicamentos.

## **9 CONCLUSÃO**

A administração de Naltrexona em alta dose (50 mg/kg/dia) favoreceu a resposta cicatricial em úlceras traumáticas orais. Encontramos que a Naltrexona foi capaz de modular a resposta inflamatória na fase inicial da cicatrização, promover a formação de colágeno, e diminuir o limiar de dor.

## 10 REFERENCIAS

- ABBAS, Abul; LICHTMAN, Andrew; PILLAI, Shiv. **Cellular and Molecular Immunology 9th edition**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2016. Disponível em: <https://www.elsevier.com/books/cellular-and-molecular-immunology/abbas/978-0-323-47978-3>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- AKIRA, Shizuo; TAKEDA, Kiyoshi. *Toll-like receptor signalling*. **Nature reviews. Immunology**, [S. l.], v. 4, n. 7, p. 499–511, 2004. DOI: 10.1038/NRI1391. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15229469/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- AL-HASANI, Ream; BRUCHAS, Michael R. Molecular Mechanisms of Opioid Receptor-Dependent Signaling and Behavior. **Anesthesiology**, [S. l.], v. 115, n. 6, p. 1363, 2011. DOI: 10.1097/ALN.0B013E318238BBA6. Disponível em: </pmc/articles/PMC3698859/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- BARRIENTOS, Stephan; STOJADINOVIC, Olivera; GOLINKO, Michael S.; BREM, Harold; TOMIC-CANIC, Marjana. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, [S. l.], v. 16, n. 5, p. 585–601, 2008. DOI: 10.1111/J.1524-475X.2008.00410.X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19128254/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- BEHM, B.; BABILAS, P.; LANDTHALER, M.; SCHREML, S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, [S. l.], v. 26, n. 7, p. 812–820, 2012. DOI: 10.1111/J.1468-3083.2011.04415.X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22211801/>. Acesso em: 21 jul. 2022.
- BIANCHI, Mauro; PANERAI, Alberto E. Naloxone-induced analgesia: involvement of kappa-opiate receptors. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, [S. l.], v. 46, n. 1, p. 145–148, 1993. DOI: 10.1016/0091-3057(93)90331-M. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8255904/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- BIGLIARDI-QI, Mei; BIGLIARDI, Paul L. The role of opioid receptors in migration and wound recovery in vitro in cultured human keratinocytes and fibroblasts. **Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)**, [S. l.], v. 1230, p. 273–277, 2015. DOI: 10.1007/978-1-4939-1708-2\_23. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25293334/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- BIGLIARDI, P. L.; NEUMANN, C.; TEO, Y. L.; PANT, A.; BIGLIARDI-QI, M. Activation of the  $\delta$ -opioid receptor promotes cutaneous wound healing by affecting keratinocyte intercellular adhesion and migration. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 172, n. 2, p. 501, 2015. DOI: 10.1111/BPH.12687. Disponível em: </pmc/articles/PMC4292964/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- BRAUDE, Monique C.; J. MICHAEL MORRISON. “Preclinical toxicity studies of naltrexone.”. **NIDA Res Monogr**, [S. l.], v. 9, p. 16–26, 1976. DOI: 10.1037/e497452006-023. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/22948523>. Acesso em: 21 jul. 2022.
- CANT, Rachel; DALGLEISH, Angus G.; ALLEN, Rachel L. Naltrexone inhibits IL-6 and TNF $\alpha$  production in human immune cell subsets following stimulation with ligands for



intracellular *toll*-like receptors. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 8, n. JUL, p. 809, 2017. DOI: 10.3389/FIMMU.2017.00809/FULL. Disponível em: /pmc/articles/PMC5504148/. Acesso em: 1 ago. 2022.

CAVALCANTE, Galyléia Meneses; DE PAULA, Renata Janaína Sousa; DE SOUZA, Leonardo Peres; SOUSA, Fabrício Bitu; MOTA, Mário Rogério Lima; ALVES, Ana Paula Negreiros Nunes. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 227–234, 2011. DOI: 10.1590/S0102-86502011000300012. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/acb/a/6J6v7ZVr69t8xsLtFgwvhpM/?lang=en>. Acesso em: 20 jul. 2022.

CHARBAJI, Nada; SCHÄFER-KORTING, Monika; KÜCHLER, Sarah. Morphine Stimulates Cell Migration of Oral Epithelial Cells by Delta-Opioid Receptor Activation. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 42616, 2012. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0042616. Disponível em: /pmc/articles/PMC3416801/. Acesso em: 31 jul. 2022.

CHEN, Ji Qing; SZODORAY, Peter; ZEHER, Margit. *Toll*-Like Receptor Pathways in Autoimmune Diseases. **Clinical reviews in allergy & immunology**, [S. l.], v. 50, n. 1, p. 1–17, 2016. DOI: 10.1007/S12016-015-8473-Z. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25687121/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

CHEN, Lin; DIPIETRO, Luisa A. *Toll*-Like Receptor Function in Acute Wounds. **Advances in wound care**, [S. l.], v. 6, n. 10, p. 344–355, 2017. DOI: 10.1089/WOUND.2017.0734. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29062591/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

CHEN, Lin; GUO, Shujuan; RANZER, Matthew J.; DIPIETRO, Luisa A. *Toll*-like receptor 4 has an essential role in early skin wound healing. **The Journal of investigative dermatology**, [S. l.], v. 133, n. 1, p. 258–267, 2013. DOI: 10.1038/JID.2012.267. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22951730/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

CHEN, Yulong; LAW, Ping; LOH, Horace. The other side of the opioid story: modulation of cell growth and survival signaling. **Current medicinal chemistry**, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 772–778, 2008. DOI: 10.2174/092986708783955518. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18393846/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

CHOI, Seong Soo; HAN, Ki Jung; LEE, Han Kyu; HAN, Eun Jung; SUH, Hong Won. Possible antinociceptive mechanisms of opioid receptor antagonists in the mouse formalin test. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, [S. l.], v. 75, n. 2, p. 447–457, 2003. DOI: 10.1016/S0091-3057(03)00144-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12873637/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

COELHO, Karine; DE SOUZA, Cíntia; ARAÚJO, Alferes. TRATAMENTO DE ULCERAÇÕES AFTOSAS RECORRENTES: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, [S. l.], v. 11, n. 3, 2009. DOI: 10.5212/publicatio uepg.v11i3.419. Disponível em: <https://revistas2.uepg.br/index.php/biologica/article/view/419>. Acesso em: 17 jul. 2022.

DEWEDAR, Ola; FARID, Mona; ADAWY, Heba. Potential Effect of Fibroblast Growth Factor (FGF2) Versus Epidermal Growth Factor (EGF) on Healing of Induced Oral Ulcer in Albino Rats (A Histological and Immunohistochemical Study). **Al-Azhar Dental Journal for Girls**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 23–27, 2018. DOI: 10.21608/ADJG.2018.7989. Disponível em: [https://adjg.journals.ekb.eg/article\\_7989.html](https://adjg.journals.ekb.eg/article_7989.html). Acesso em: 16 jul. 2022.

DHALIWAL, Armaan; GUPTA, Mohit. Physiology, Opioid Receptor. **StatPearls**, [S. l.],

2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546642/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

DUNN, Jack; LIU, Yi; BANOV, Fabiana; DENISON, Sebastian; BANOV, Daniel. A topical naltrexone formulation for surgical wound healing: A case report. **Journal of cosmetic dermatology**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 838–841, 2021. DOI: 10.1111/JOCD.13604. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32652808/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

ELAD, Sharon; EPSTEIN, Joel B.; VON BLTZINGSLÖWEN, Inger; DRUCKER, Scott; TZACH, Rinat; YAROM, Noam. Topical immunomodulators for management of oral mucosal conditions, a systematic review; Part II: miscellaneous agents. **Expert opinion on emerging drugs**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 183–202, 2011. DOI: 10.1517/14728214.2011.528390. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21244328/>. Acesso em: 16 jul. 2022.

ELAD, Sharon; EPSTEIN, Joel B.; YAROM, Noam; DRUCKER, Scott; TZACH, Rinat; VON BLTZINGSLÖWEN, Inger. Topical immunomodulators for management of oral mucosal conditions, a systematic review; part I: calcineurin inhibitors. **Expert opinion on emerging drugs**, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 713–726, 2010. DOI: 10.1517/14728214.2010.528389. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21091397/>. Acesso em: 16 jul. 2022.

FRAIHA, Paula M.; BITTENCOURT, Patrícia G.; CELESTINO, Leandro R. Estomatite aftosa recorrente: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, [S. l.], v. 68, n. 4, p. 571–578, 2002. DOI: 10.1590/S0034-72992002000400019. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rboto/a/pWftXXtHvLzCLkyxXMSykvN/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 15 mar. 2022.

FRANCE, Christopher R.; AL'ABSI, Mustafa; RING, Christopher; FRANCE, Janis L.; HARJU, Angie; WITTMERS, Lorentz E. Nociceptive Flexion Reflex and Pain Rating Responses During Endogenous Opiate Blockade with Naltrexone in Healthy Young Adults. **Biological psychology**, [S. l.], v. 75, n. 1, p. 95, 2007. DOI: 10.1016/J.BIOPSYCHO.2006.12.005. Disponível em: </pmc/articles/PMC1892310/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

FUJISAWA, Kenji; MIYAMOTO, Youji; NAGAYAMA, Masaru. Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 358–366, 2003. DOI: 10.1034/J.1600-0714.2003.T01-1-00111.X. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1600-0714.2003.t01-1-00111.x>. Acesso em: 16 jul. 2022.

GARCIA, João Batista Santos; CARDOSO, Mirlane Guimarães de Melo; DOS-SANTOS, Maria Cristina. Opioides e o sistema imunológico: relevância clínica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, [S. l.], v. 62, n. 5, p. 713–718, 2012. DOI: 10.1590/S0034-70942012000500010. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rba/a/3zrVMs6Bs7pzWP43tYqjWCj/?lang=pt>. Acesso em: 15 mar. 2022.

GONZÁLEZ ROMA, Laura Beatriz. Ulceración por trauma crónico: una lesión simuladora. Informe de un caso clínico | Rev. Asoc. Odontol. Argent;108(2): 57-62, mayo-ago. 2020. ilus | LILACS. **Rev. Asoc. Odontol. Argent**, [S. l.], v. 108, n. 2, p. 57–62, 2020. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1121186>. Acesso em: 17 jul. 2022.

HAMMER, Leslie A.; WALDNER, Hanspeter; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Opioid growth factor and low-dose naltrexone impair central nervous system infiltration by

CD4 + T lymphocytes in established experimental autoimmune encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, [S. l.], v. 241, n. 1, p. 71–8, 2016. DOI: 10.1177/1535370215596384. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26202376>. Acesso em: 8 jun. 2020.

HENDERSHOT, Christian S.; WARDELL, Jeffrey D.; SAMOKHVALOV, Andriy V.; REHM, Jürgen. Effects of naltrexone on alcohol self-administration and craving: meta-analysis of human laboratory studies. **Addiction Biology**, [S. l.], v. 22, n. 6, p. 1515, 2017. DOI: 10.1111/ADB.12425. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6139429/](http://pmc/articles/PMC6139429/). Acesso em: 16 mar. 2022.

IMMONEN, Jessica A.; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Selective blockade of the OGF-OGFr pathway by naltrexone accelerates fibroblast proliferation and wound healing. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, [S. l.], v. 239, n. 10, p. 1300–1309, 2014. DOI: 10.1177/1535370214543061. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25030485/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

JESKE, Nathaniel A. Dynamic Opioid Receptor Regulation in the Periphery. **Molecular Pharmacology**, [S. l.], v. 95, n. 5, p. 463, 2019. DOI: 10.1124/MOL.118.114637. Disponível em: [/pmc/articles/PMC6442319/](http://pmc/articles/PMC6442319/). Acesso em: 15 mar. 2022.

KAMEI, Junzo; KAWASHIMA, Naoya; KASUYA, Yutaka. Naloxone-induced analgesia in diabetic mice. **European journal of pharmacology**, [S. l.], v. 210, n. 3, p. 339–341, 1992. DOI: 10.1016/0014-2999(92)90424-3. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1319338/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

KAPUGI, Michelle; CUNNINGHAM, Kathleen. Corticosteroids. **Orthopedic nursing**, [S. l.], v. 38, n. 5, p. 336–339, 2019. DOI: 10.1097/NOR.0000000000000595. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31568125/>. Acesso em: 21 jul. 2022.

KATHARINE WALKER, M. J.; POULOS, Constantine X.; LE, A. D. Effects of acute selective 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> receptor and alpha 2 adrenoceptor blockade on naloxone-induced antinociception. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 113, n. 3–4, p. 527–533, 1994. DOI: 10.1007/BF02245234. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7862870/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

KOMI, Daniel Elieh Ali; KHOMTCHOUK, Kelly; SANTA MARIA, Peter Luke. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. **Clinical reviews in allergy & immunology**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 298–312, 2020. DOI: 10.1007/S12016-019-08729-W. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30729428/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

LANDÉN, Ning Xu; LI, Dongqing; STÄHLE, Mona. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**, [S. l.], v. 73, n. 20, p. 3861–3885, 2016. DOI: 10.1007/S00018-016-2268-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27180275/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

LEE, Grace J.; KIM, Shin Ae; KIM, Yea Jin; OH, Seog Bae. Naloxone-induced analgesia mediated by central kappa opioid system in chronic inflammatory pain. **Brain research**, [S. l.], v. 1762, 2021. DOI: 10.1016/J.BRAINRES.2021.147445. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33766518/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

LENNON, Frances E.; MIRZAPOIAZOVA, Tamara; MAMBETSARIEV, Bolot; SALGIA, Ravi; MOSS, Jonathan; SINGLETON, Patrick A. Overexpression of the  $\mu$ -opioid receptor in

human non-small cell lung cancer promotes Akt and mTOR activation, tumor growth, and metastasis. **Anesthesiology**, [S. l.], v. 116, n. 4, p. 857–867, 2012. DOI: 10.1097/ALN.0B013E31824BABE2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22343475/>. Acesso em: 25 mar. 2022.

LI, Zijian; YOU, Yue; GRIFFIN, Noreen; FENG, Juan; SHAN, Fengping. Low-dose naltrexone (LDN): A promising treatment in immune-related diseases and cancer therapy. **International immunopharmacology**, [S. l.], v. 61, p. 178–184, 2018. a. DOI: 10.1016/J.INTIMP.2018.05.020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29885638/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

LI, Zijian; YOU, Yue; GRIFFIN, Noreen; FENG, Juan; SHAN, Fengping. Low-dose naltrexone (LDN): A promising treatment in immune-related diseases and cancer therapy. **International Immunopharmacology**, [S. l.], v. 61, p. 178–184, 2018. b. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.05.020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29885638/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

LIN, Mingying; DENG, Keqiong; LI, Ya; WAN, Jing. Morphine enhances LPS-induced macrophage apoptosis through a PPAR $\gamma$ -dependent mechanism. **Experimental and therapeutic medicine**, [S. l.], v. 22, n. 1, 2021. DOI: 10.3892/ETM.2021.10146. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34007323/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

LIU, Guangshuai; ZHANG, Huanxin; ZHAO, Chao; ZHANG, Honghai. Evolutionary History of the *Toll*-Like Receptor Gene Family across Vertebrates. **Genome biology and evolution**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 3615–3634, 2020. DOI: 10.1093/GBE/EVZ266. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31800025/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

LUDWIG, Michael D.; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Featured Article: Modulation of the OGF–OGFr pathway alters cytokine profiles in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. **Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 243, n. 4, p. 361–369, 2018. a. DOI: 10.1177/1535370217749830. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29307283/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

LUDWIG, Michael D.; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Featured Article: Modulation of the OGF–OGFr pathway alters cytokine profiles in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, [S. l.], v. 243, n. 4, p. 361–369, 2018. b. DOI: 10.1177/1535370217749830. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29307283/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MANDELBAUM, Samuel Henrique; PAMPADO, Érico; SANTIS, Di; SANT', Maria Helena; MANDELBAUM, Ana. / done at the Dermatology Service of the Teaching Hospital of Taubate, Dermatology course, Mandelbaum, Di Santis & Mandelbaum 393 An bras Dermatol. [S. l.], v. 78, n. 4, p. 393–410, 2003.

MARTIN, Josephine L.; KOODIE, Lisa; KRISHNAN, Anitha G.; CHARBONEAU, Richard; BARKE, Roderick A.; ROY, Sabita. Chronic Morphine Administration Delays Wound Healing by Inhibiting Immune Cell Recruitment to the Wound Site. **The American Journal of Pathology**, [S. l.], v. 176, n. 2, p. 786, 2010. DOI: 10.2353/AJPATH.2010.090457. Disponível em: [/pmc/articles/PMC2808085/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20808085/). Acesso em: 16 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; CAIN, Jarrett D.; TITUNICK, Michelle B.; SASSANI, Joseph W.; ZAGON, Ian S. Topical Naltrexone Is a Safe and Effective Alternative to Standard Treatment of Diabetic Wounds. **Advances in wound care**, [S. l.], v. 6, n. 9, p. 279–288, 2017. DOI: 10.1089/WOUND.2016.0725. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28894635/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; IMMONEN, Jessica A.; ZAGON, Ian S. Topical naltrexone accelerates full-thickness wound closure in type 1 diabetic rats by stimulating angiogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 238, n. 7, p. 733–743, 2013. a. DOI: 10.1177/1535370213492688. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23788174/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; IMMONEN, Jessica A.; ZAGON, Ian S. Topical naltrexone accelerates full-thickness wound closure in type 1 diabetic rats by stimulating angiogenesis. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, [S. l.], v. 238, n. 7, p. 733–743, 2013. b. DOI: 10.1177/1535370213492688. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23788174/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; SASSANI, Joseph W.; ZAGON, Ian S. Naltrexone as a Novel Therapeutic for Diabetic Corneal Complications. **Journal of cellular immunology**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 42, 2020. DOI: 10.33696/IMMUNOLOGY.1.018. Disponível em: </pmc/articles/PMC7198040/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; STUCKI, Jaimon K.; ZAGON, Ian S. Modulation of the opioid growth factor ([Met 5]-enkephalin)- opioid growth factor receptor axis: Novel therapies for squamous cell carcinoma of the head and neck. **Head and Neck**, [S. l.], v. 34, n. 4, p. 513–519, 2012. DOI: 10.1002/hed.21759. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21584896/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; VERDERAME, Michael F.; HANKINS, Jody L.; ZAGON, Ian S. Overexpression of the opioid growth factor receptor downregulates cell proliferation of human squamous carcinoma cells of the head and neck. **International Journal of Molecular Medicine**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 421–428, 2007. DOI: 10.3892/IJMM.19.3.421/HTML. Disponível em: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.19.3.421/abstract>. Acesso em: 29 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; ZAGON, Ian S. Duration of opioid receptor blockade determines biotherapeutic response. **Biochemical pharmacology**, [S. l.], v. 97, n. 3, p. 236–246, 2015. a. DOI: 10.1016/J.BCP.2015.06.016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26119823/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; ZAGON, Ian S. **Duration of opioid receptor blockade determines biotherapeutic response** *Biochemical Pharmacology* Elsevier Inc., , 2015. b. DOI: 10.1016/j.bcp.2015.06.016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26119823/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

NAGATA, Kazuki; NAGASE, Hiroshi; OKUZUMI, Ayumi; NISHIYAMA, Chiharu. Delta Opioid Receptor Agonists Ameliorate Colonic Inflammation by Modulating Immune Responses. **Frontiers in immunology**, [S. l.], v. 12, 2021. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.730706. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34630408/>. Acesso em: 3 ago. 2022.

**Naltrexone: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online**. [s.d.]. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00704>. Acesso em: 16 mar. 2022.

**Naltrexone - DrugBank**. [s.d.]. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00704>. Acesso em: 29 jul. 2020.

NAVA-MESA, Mauricio O.; TÉLLEZ-ARÉVALO, Angélica; ROJAS-KOZHAKIN, Daniel;

CALDERÓN-OSPINA, Carlos A. Usos terapéuticos potenciales de los antagonistas opioides: Fisiopatología y evidencia preclínica. **Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 322–358, 2015. DOI:

10.15446/RCCQUIFA.V44N3.56284. Disponível em:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182015000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

[74182015000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182015000300005&lng=en&nrm=iso&tlng=es). Acesso em: 3 ago. 2022.

NEZAMI, Behtash Ghazi; TALAB, Saman Shafaat; EMAMI, Hamed; ASSA, Solmaz; RASOULI, Mohammad Reza; ASADI, Shahrzad; TAVANGAR, Seyed Mohammad; DEHPOUR, Ahmad Reza. Chronic upregulation of the endogenous opioid system impairs the skin flap survival in rats. **Annals of plastic surgery**, [S. l.], v. 63, n. 5, p. 558–563, 2009. DOI: 10.1097/SAP.0B013E31818D458E. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19806051/>. Acesso em: 20 mar. 2022.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19806051/>. Acesso em: 20 mar. 2022.

NINKOVIĆ, Jana; ROY, Sabita. Role of the mu opioid receptor in opioid modulation of immune function. **Amino acids**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 9, 2013. DOI: 10.1007/S00726-011-1163-0. Disponível em: [/pmc/articles/PMC3912755/](http://pmc/articles/PMC3912755/). Acesso em: 21 mar. 2022.

RAHN, Kristen A.; MCLAUGHLIN, Patricia J.; ZAGON, Ian S. Prevention and diminished expression of experimental autoimmune encephalomyelitis by low dose naltrexone (LDN) or opioid growth factor (OGF) for an extended period: Therapeutic implications for multiple sclerosis. **Brain Research**, [S. l.], v. 1381, p. 243–253, 2011. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.01.036.

ROGERS, Thomas J. Bidirectional Regulation of Opioid and Chemokine Function. **Frontiers in Immunology**, [S. l.], v. 11, p. 94, 2020. DOI: 10.3389/FIMMU.2020.00094. Disponível em: [/pmc/articles/PMC7006827/](http://pmc/articles/PMC7006827/). Acesso em: 21 mar. 2022.

ROUGHAN, John V.; FLECKNELL, Paul A. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. **Pain**, [S. l.], v. 90, n. 1–2, p. 65–74, 2001. DOI: 10.1016/S0304-3959(00)00387-0. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11166971/>. Acesso em: 28 jul. 2020.

SCHEMEL-SUÁREZ, Mayra; LÓPEZ-LÓPEZ, José; CHIMENOS-KÜSTNER, Eduardo. Úlceras orales: diagnóstico diferencial y tratamiento. **Medicina Clínica**, [S. l.], v. 145, n. 11, p. 499–503, 2015. DOI: 10.1016/J.MEDCLI.2015.04.017. Disponível em:

<https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-ulceras-orales-diagnostico-diferencial-tratamiento-S0025775315002602>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SCULLY, C.; FELIX, D. H. Oral Medicine — Update for the dental practitioner. Mouth ulcers of more serious connotation. **British Dental Journal** 2005 199:6, [S. l.], v. 199, n. 6, p. 339–343, 2005. DOI: 10.1038/sj.bdj.4812805. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/4812805>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SERECIGNI, Josep Guardia. Los Antagonistas de los Receptores Opioides en el Tratamiento del Alcoholismo. **Adicciones**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 214–230, 2015. DOI: 10.20882/ADICCIONES.708. Disponível em:

<https://www.adicciones.es/index.php/adicciones/article/view/708>. Acesso em: 16 mar. 2022.

SINGH, Dharminder; SAADABADI, Abdolreza. Naltrexone. **StatPearls [Internet]**, [S. l.], p. 1–3, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534811/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

SINGLETON, Patrick A.; MOSS, Jonathan; KARP, Daniel D.; ATKINS, Johnique T.;

JANKU, Filip. The mu opioid receptor: A new target for cancer therapy? **Cancer**, [S. l.], v. 121, n. 16, p. 2681–2688, 2015. DOI: 10.1002/CNCR.29460. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26043235/>. Acesso em: 25 mar. 2022.

SOARES DE LIMA, Antonio Adilson; TRINDADE, Ana Maria; TANAKA, Orlando; ÂNGELA, Maria; MACHADO, Naval; HELENA, Beatriz; FRANÇA, Sottile. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 30–36, 2005. a. DOI: 10.1590/S1415-54192005000500005. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/dpress/a/LtRsk8Mp5zynDLbzig69ZJRN/?lang=pt>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SOARES DE LIMA, Antonio Adilson; TRINDADE, Ana Maria; TANAKA, Orlando; ÂNGELA, Maria; MACHADO, Naval; HELENA, Beatriz; FRANÇA, Sottile. Tratamento das ulcerações traumáticas bucais causadas por aparelhos ortodônticos. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 30–36, 2005. b. DOI: 10.1590/S1415-54192005000500005. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/dpress/a/LtRsk8Mp5zynDLbzig69ZJRN/?lang=pt>. Acesso em: 21 jul. 2022.

SOTOCINAL, Susana G. et al. The Rat Grimace Scale: A partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular Pain**, [S. l.], v. 7, 2011. DOI: 10.1186/1744-8069-7-55. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21801409/>. Acesso em: 28 jul. 2020.

STEIN, Christoph. Opioid Receptors. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062613-093100>, [S. l.], v. 67, p. 433–451, 2016. DOI: 10.1146/ANNUREV-MED-062613-093100. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-med-062613-093100>. Acesso em: 15 mar. 2022.

SUN, S. L. et al. Topical calcineurin inhibitors in the treatment of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. **The British journal of dermatology**, [S. l.], v. 181, n. 6, p. 1166–1176, 2019. DOI: 10.1111/BJD.17898. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30903622/>. Acesso em: 21 jul. 2022.

TARTEY, Sarang; TAKEUCHI, Osamu. Pathogen recognition and *Toll*-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells. **International reviews of immunology**, [S. l.], v. 36, n. 2, p. 57–73, 2017. DOI: 10.1080/08830185.2016.1261318. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28060562/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

THAKRAR, Priya; CHAUDHRY, Shahid I. Oral Ulceration: An Overview of Diagnosis and Management. **Primary dental journal**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 30–33, 2016. DOI: 10.1177/205016841600500102. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29029650/>. Acesso em: 21 jul. 2022.

TOLJAN, Karlo; VROOMAN, Bruce. Low-Dose Naltrexone (LDN)-Review of Therapeutic Utilization. **Medical sciences (Basel, Switzerland)**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 82, 2018. DOI: 10.3390/MEDSCI6040082. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30248938/>. Acesso em: 16 mar. 2022.

TUREL, Anthony P.; OH, Keun Hee; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. **Low Dose Naltrexone for Treatment of Multiple Sclerosis: A Retrospective Chart Review of Safety and Tolerability** *Journal of Clinical Psychopharmacology* Lippincott Williams and Wilkins, , 2015. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000373.

- UHELSKI, Megan L.; FUCHS, Perry N. Naltrexone fails to increase pain affect in response to inflammatory pain in a novel escape/avoidance paradigm. **Physiology & behavior**, [S. l.], v. 98, n. 3, p. 263–267, 2009. DOI: 10.1016/J.PHYSBEH.2009.05.019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19505486/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- WANG, X.; ZHANG, Y.; PENG, Y.; HUTCHINSON, M. R.; RICE, K. C.; YIN, H.; WATKINS, L. R. Pharmacological characterization of the opioid inactive isomers (+)-naltrexone and (+)-naloxone as antagonists of *toll*-like receptor 4. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 173, n. 5, p. 856, 2016. DOI: 10.1111/BPH.13394. Disponível em: </pmc/articles/PMC4761092/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- WANG, Ying et al. Opioids and opioid receptors orchestrate wound repair. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, [S. l.], v. 185, p. 13, 2017. a. DOI: 10.1016/J.TRSL.2017.05.003. Disponível em: </pmc/articles/PMC5515242/>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- WANG, Ying et al. Opioids and opioid receptors orchestrate wound repair. **Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine**, [S. l.], v. 185, p. 13, 2017. b. DOI: 10.1016/J.TRSL.2017.05.003. Disponível em: </pmc/articles/PMC5515242/>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- WILSON ANDRADE CARVALHO, Lino Lemonica. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Braz J Anesthesiol**, [S. l.], v. 48, n. 2, p. 137–158, 1998. Disponível em: <https://www.bjan-sba.org/journal/rba/article/5e498c090aec5119028b48f7>. Acesso em: 3 ago. 2022.
- WOOLF, Clifford J. Intracerebral naloxone and the reaction to thermal noxious stimulation in the rat. **Brain Research**, [S. l.], v. 190, n. 2, p. 578–583, 1980. DOI: 10.1016/0006-8993(80)90303-0.
- YOUNGER, Jarred; PARKITNY, Luke; MCLAIN, David. The use of low-dose naltrexone (LDN) as a novel anti-inflammatory treatment for chronic pain. **Clinical rheumatology**, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 451–459, 2014. DOI: 10.1007/S10067-014-2517-2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24526250/>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- ZAGON, I. S.; SASSANI, Joseph W.; CARROLL, Melissa A.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Topical Application of Naltrexone Facilitates Reepithelialization of the Cornea in Diabetic Rabbits. **Brain research bulletin**, [S. l.], v. 81, n. 2–3, p. 248, 2010. DOI: 10.1016/J.BRAINRESBULL.2009.10.009. Disponível em: </pmc/articles/PMC2815253/>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- ZAGON, Ian S.; DONAHUE, Renee; MCLAUGHLIN, Patricia J. Targeting the opioid growth factor: Opioid growth factor receptor axis for treatment of human ovarian cancer. **Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 238, n. 5, p. 579–587, 2013. a. DOI: 10.1177/1535370213488483. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1535370213488483>. Acesso em: 19 jul. 2020.
- ZAGON, Ian S.; DONAHUE, Renee; MCLAUGHLIN, Patricia J. Targeting the opioid growth factor: opioid growth factor receptor axis for treatment of human ovarian cancer. **Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)**, [S. l.], v. 238, n. 5, p. 579–587, 2013. b. DOI: 10.1177/1535370213488483. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23856908/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- ZAGON, Ian S.; DONAHUE, Renee N.; BONNEAU, Robert H.; MCLAUGHLIN, Patricia J.



B lymphocyte proliferation is suppressed by the opioid growth factor-opioid growth factor receptor axis: Implication for the treatment of autoimmune diseases. **Immunobiology**, [S. l.], v. 216, n. 1–2, p. 173–183, 2011. DOI: 10.1016/j.imbio.2010.06.001.

ZAGON, Ian S.; JENKINS, Joe B.; SASSANI, Joseph W.; WYLIE, James D.; RUTH, Torre B.; FRY, Jamie L.; MAX LANG, C.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Naltrexone, an Opioid Antagonist, Facilitates Reepithelialization of the Cornea in Diabetic Rat. **Diabetes**, [S. l.], v. 51, n. 10, p. 3055–3062, 2002. DOI: 10.2337/DIABETES.51.10.3055. Disponível em: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/51/10/3055/25306/Naltrexone-an-Opioid-Antagonist-Facilitates>. Acesso em: 2 ago. 2022.

ZAGON, Ian S.; KLOCEK, Matthew S.; SASSANI, Joseph W.; MAUGER, David T.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Corneal safety of topically applied naltrexone. **Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics**, [S. l.], v. 22, n. 5, p. 377–387, 2006. DOI: 10.1089/JOP.2006.22.377. Disponível em: <https://pennstate.pure.elsevier.com/en/publications/corneal-safety-of-topically-applied-naltrexone>. Acesso em: 16 mar. 2022.

ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Naltrexone Modulates Tumor Response in Mice with Neuroblastoma. **Science**, [S. l.], v. 221, n. 4611, p. 671–673, 1983. DOI: 10.1126/SCIENCE.6867737. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.6867737>. Acesso em: 16 mar. 2022.

ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Duration of opiate receptor blockade determines tumorigenic response in mice with neuroblastoma: A role for endogenous opioid systems in cancer. **Life Sciences**, [S. l.], v. 35, n. 4, p. 409–416, 1984. DOI: 10.1016/0024-3205(84)90651-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6087062/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. **Intermittent blockade of OGF $\alpha$ r and treatment of autoimmune disorders** *Experimental Biology and Medicine* SAGE Publications Inc., , 2018. a. DOI: 10.1177/1535370218817746. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30541348/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Intermittent blockade of OGF $\alpha$ r and treatment of autoimmune disorders. **Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 243, n. 17–18, p. 1323–1330, 2018. b. DOI: 10.1177/1535370218817746. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1535370218817746>. Acesso em: 16 mar. 2022.

ZAGON, Ian S.; SASSANI, Joseph W.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Adaptation of homeostatic ocular surface epithelium to chronic treatment with the opioid antagonist naltrexone. **Cornea**, [S. l.], v. 25, n. 7, p. 821–829, 2006. DOI: 10.1097/01.ICO.0000224646.66472.AA. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17068460/>. Acesso em: 2 ago. 2022.

ZAGON, Ian S.; VERDERAME, Michael F.; MCLAUGHLIN, Patricia J. **The biology of the opioid growth factor receptor (OGF $\alpha$ r)** *Brain Research Reviews* Brain Res Brain Res Rev, , 2002. DOI: 10.1016/S0165-0173(01)00160-6. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11890982/>. Acesso em: 19 jul. 2020.

ZAGON, Ian S.; YAN, Wu; MCLAUGHLIN, Patricia J. Opioid antagonist modulation of DNA synthesis in mouse tongue epithelium is circadian dependent. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, [S. l.], v. 48, n. 3, p. 709–714, 1994. DOI: 10.1016/0091-3057(94)90337-9.

ZAISS, Dietmar M.; MINUTTI, Carlos M.; KNIPPER, Johanna A. Immune- and non-immune-mediated roles of regulatory T-cells during wound healing. **Immunology**, [S. l.], v. 157, n. 3, p. 190–197, 2019. DOI: 10.1111/IMM.13057. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30866049/>. Acesso em: 15 mar. 2022.

## 11 ANEXOS

### 11.1 Parecer da comissão de ética no uso de animais (CEUA)



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM NALTREXONA NO REPARO DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS EM MUCOSA ORAL DE RATOS", protocolada sob o CEUA nº 6741011220 (ID 001799), sob a responsabilidade de **Paulo Goberlânio de Barros Silva** e equipe; *Liova Amaru Chabot Díaz; Fabrício Bitu Sousa ; Osias Vieira de Oliveira Filho* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 29/01/2021.

We certify that the proposal "INFLUENCE OF NALTREXONE TREATMENT ON THE REPAIR OF TRAUMATIC ULCERS IN ORAL MUCOSA OF RATS", utilizing 210 Heterogenics rats (210 females), protocol number CEUA 6741011220 (ID 001799), under the responsibility of **Paulo Goberlânio de Barros Silva** and team; *Liova Amaru Chabot Díaz; Fabrício Bitu Sousa ; Osias Vieira de Oliveira Filho* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 01/29/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de 12/2020 a 01/2022

Área: Departamento de Clínica Odontológica

Origem: [Biotério Prof. Eduardo Torres \(setorial FAMED\)](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [6 a 8 semanas](#)

N: [210](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [180 a 220 g](#)

Local do experimento: Biotério de experimentação Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED)

Fortaleza, 20 de abril de 2021

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

## 11. 2 Declaração de correção gramatical

### DECLARAÇÃO DE CORREÇÃO GRAMATICAL

DECLARO para os devidos fins que se fizerem necessários que realizei a correção gramatical do Trabalho intitulado: **ADMINISTRAÇÃO DE ALTA DOSE DE NALTREXONA APRESENTA EFEITO CICATRIZANDE E ANTI-INFLAMATÓRIO EM ÚLCERAS TRAUMÁTICAS ORAIS NA MUCOSA JUGAL DE RATOS WISTAR**, realizado pela acadêmica **LIOVA CHABOT DÍAZ**, da **UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**.

Por ser verdade, firmo a presente em duas vias de igual teor.

Fortaleza - CE, 07 de agosto de 2022.

---

**CAIO TÚLIO OLÍMPIO PEREIRA DA COSTA**

Graduado em Comunicação Social com Habilitação em Jornalismo

Especialista em Comunicação Organizacional

Especialista em Educação, Jogos e Ludicidade para o Ensino

Mestre em Comunicação

Doutorando em Educação Matemática e Tecnológica