



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS DE SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

LUANA RODRIGUES PORTELA

**PAPEL REGULATÓRIO DA VIA DE SINALIZAÇÃO NRF2/HO-1 EM MODELOS
IN VITRO DE PERIODONTITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

SOBRAL

2022

LUANA RODRIGUES PORTELA

PAPEL REGULATÓRIO DA VIA DE SINALIZAÇÃO NRF2/HO-1 EM MODELOS *IN VITRO* DE PERIODONTITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará-Campus Sobral como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner.
Coorientadora: Profa. Dra. Jordânia Marques de Oliveira Freire

SOBRAL

2022

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

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

P877p

Portela, Luana Rodrigues.

PAPEL REGULATÓRIO DA VIA DE SINALIZAÇÃO NRF2/HO-1 EM MODELOS IN VITRO DE PERIODONTITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA / Luana Rodrigues Portela. – 2022.
-74 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2022.

Orientação: Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner.

Coorientação: Profa. Dra. Jordânia Marques de Oliveira Freire.

1. NRF2/HO-1. 2. inflamação. 3. reabsorção óssea. 4. periodontite. 5. revisão sistemática. I. Título.

CDD 610

LUANA RODRIGUES PORTELA

PAPEL REGULATÓRIO DA VIA DE SINALIZAÇÃO NRF2/HO-1 EM MODELOS *IN VITRO* DE PERIODONTITE: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará-Campus Sobral como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Ciências da Saúde.

Aprovada em /_____/_____

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Jordania Marques de Oliveira Freire (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Iracema Matos de Melo (Examinadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Ana Caroline Rocha de Melo Leite (Examinadora externa)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – Unilab

RESUMO

A etiopatogenia da periodontite destaca-se a presença do agente infeccioso (biofilme bacteriano) e a resposta imune-inflamatória do hospedeiro, determinando a geração de mediadores inflamatórios. O objetivo do estudo foi avaliar o papel da ativação da via Nrf2/HO-1 em ensaios pré-clínicos de periodontite por meio de uma revisão sistemática. Trata-se de uma revisão sistemática. Foi realizada busca em bases de dados e na literatura cinzenta: Medline/Pubmed, Lilacs, Embase, Scopus, Livivo, Cochrane, Web of Science e na literatura cinzenta google acadêmico, pubmed central e open thesis, usando uma combinação de termos controlados predefinidos MeSH e/ou (DeCS) e termos livres usando os operadores booleanos (OR, AND). Como critérios de inclusão: estudos com ensaios pré-clínicos in vitro que abordavam a via de sinalização NRF2-HO1 no desenvolvimento da periodontite por meio de técnicas de análise de marcadores inflamatórios publicado em qualquer idioma sem intervalo temporal de publicação. E critério de exclusão: estudos in silico e in vivo com a via de sinalização NRF2/HO-1 diferente da periodontite e que utilizavam as técnicas de ICC, IF, qRT-PCR, WB e ELISA que não apresentavam primers, anticorpos e proteínas relevantes para o estudo. Como resultados primários tivemos a demonstração da atividade antirreabsortiva e envolvimento da via Nrf2/HO-1 e resultados secundários da Atividade anti-inflamatória/imunomoduladora. A síntese dos resultados da revisão foi realizada na forma descritiva e por meio de metanálise. Para avaliar o risco de viés foi utilizado a ferramenta gratuita *Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials* (RoB 2). A amostra da revisão sistemática foi composta por 27 estudos primários. Os estudos estiveram vinculados a 5 países diferentes. Os tipos de células mais utilizados nos estudos foram células RAW 264.7, seguidas de células HPDL. Foi demonstrado que diversos tratamentos realizados como o LIPUS, a quercetina, DMF para a atividade antirreabsortiva recuperou os níveis de mRNA e proteína dos marcadores de diferenciação de osteoblastos. Também promoveram a expressão de HO-1 induzindo a translocação de Nrf2 para o núcleo e a deficiência de Nrf2 promovendo a formação de osteoclastos multinucleados, depressões de reabsorção e também levou ao aumento do estresse oxidativo e reduções significativas nos níveis de ROS. Concluiu-se que os resultados apresentados nesta revisão sistemática sugerem evidências para caracterizar o envolvimento da via Nrf2-HO-1 na patogênese da periodontite.

Palavras-chaves: NRF2/HO-1; inflamação; reabsorção óssea ;periodontite.

ABSTRACT

The etiopathogenesis of periodontitis is highlighted by the presence of the infectious agent (bacterial biofilm) and the host's immune-inflammatory response, determining the generation of inflammatory mediators. The aim of the study was to evaluate the role of activation of the Nrf2/HO-1 pathway in preclinical trials of periodontitis through a systematic review. This is a systematic review. A search was performed in databases and in the gray literature: Medline/Pubmed, Lilacs, Embase, Scopus, Livivo, Cochrane, Web of Science and in the gray literature google academic, pubmed central and open thesis, using a combination of predefined MeSH controlled terms and/or (DeCS) and free terms using Boolean operators (OR, AND). As inclusion criteria: studies with pre-clinical in vitro trials that addressed the NRF2-HO1 signaling pathway in the development of periodontitis through techniques of analysis of inflammatory markers published in any language without publication time interval. And exclusion criteria: in silico and in vivo studies with the NRF2/HO-1 signaling pathway different from periodontitis and that used the techniques of ICC, IF, qRT-PCR, WB and ELISA that did not present relevant primers, antibodies and proteins for the study. As primary results we had the demonstration of antiresorptive activity and involvement of the Nrf2/HO-1 pathway and secondary results of Anti-inflammatory/immunomodulatory activity. The synthesis of the review results was carried out in a descriptive way and through meta-analysis. To assess the risk of bias, the free Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2) was used. The systematic review sample consisted of 27 primary studies. The studies were linked to 5 different countries. The cell types most used in the studies were RAW 264.7 cells, followed by HPDL cells. It has been shown that several treatments performed such as LIPUS, quercetin, DMF for antiresorptive activity recovered mRNA and protein levels of osteoblast differentiation markers. They also promoted HO-1 expression inducing Nrf2 translocation to the nucleus and Nrf2 deficiency promoting the formation of multinucleated osteoclasts, resorption depressions and also led to increased oxidative stress and significant reductions in ROS levels. It is concluded that the results presented in this systematic review suggest evidence to characterize the involvement of the Nrf2-HO-1 pathway in the pathogenesis of periodontitis.

Keywords: NRF2/HO-1; inflammation; bone resorption; periodontitis.

AGRADECIMENTOS

À **Deus** por me fazer sentir sua presença viva do amanhecer ao anoitecer, pela força que me ergueu nos momentos difíceis e de incertezas, vencendo todos os percalços e concretizando este sonho.

Aos meus pais, Maria Lia e Manoel Raimundo, exemplos da minha vida, pelos ensinamentos e por todo amor, por serem o meu porto seguro para onde eu sei que sempre posso voltar. A minha mãe, por todas as orações, pela torcida, tempo e dedicação a mim dispensado. Obrigada por me acompanhar durante todo o caminho da minha vida.

As minhas irmãs Eronalda e Moemia que sempre estiveram ao meu lado me incentivando de todas as formas, pela ajuda em todas as etapas desse processo, vocês foram parte essencial nesse caminho trilhado, e por serem a certeza da presença amiga e do apoio mútuo que sempre posso contar. Ao meu irmão Fábio, mesmo longe, mas sempre na torcida para que eu consiga realizar meus sonhos.

À minha orientadora, Profa. Dra. Mirna Brayner por ser exemplo de professora e pesquisadora, e acima de tudo, acolhedora, pela compreensão, ajuda, orientação e paciência nos momentos difíceis, por confiar a mim esse projeto. Obrigada, Professora por todo conhecimento repassado e carinho que sempre teve comigo.

À minha coorientadora Dra. Jordânia Marques, pelas críticas construtivas que me fizeram amadurecer durante todo esse percurso, pelo incentivo, orientações, conhecimentos repassados e por todo o seu apoio, ajuda e colaboração na coorientação deste trabalho. Obrigada por tudo.

À Profa. Dra. Iracema Matos de Melo, por todo auxílio em inúmeros momentos da execução da pesquisa experimental, pela prontidão, disponibilidade nas diversas dúvidas sanadas e conhecimento repassados.

Ao Dr. Anderson Weiny, pela orientação na confecção das lâminas histológicas, por todo cuidado e zelo nesse processo.

À veterinária do biotério, Dra. Alana Godinho, pelo profissionalismo, orientações, cuidado e vigilância com os animais de nossa pesquisa.

À técnica de laboratório de Farmacologia, Dra. Nayara Alves por toda ajuda, resolutividade e prontidão durante os experimentos.

Aos alunos de iniciação científica pela ajuda realização dos experimentos, em especial à Carolina Olivindo.

A todos da equipe do Laboratório de Farmacologia – LaFS, que tornaram a execução desse estudo possível.

As companheiras de mestrado, Bianca Dutra e Yara, pela ajuda na realização dos experimentos, partilha, auxílio e ensinamentos nas mais diversas etapas dessa jornada.

A minha amiga Juscilânia Furtado, por todo apoio, força, ajuda e amizade.

A todos os meus amigos, pela torcida e apoio nesse momento tão importante e desafiador que é essa jornada.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para minha caminhada no mestrado e conclusão deste trabalho, o meu muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma de seleção dos artigos, adaptado do PRISMA.....	25
Figura 2 - Avaliação do risco de viés dos estudos incluídos foi avaliado usando a ferramenta SYRCLE RoB.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estratégia PICOS para elaboração da pergunta da revisão sistemática.....	22
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Distribuição dos estudos primários, segundo autores, ano, país do estudo, números de grupos de intervenção(células), número de grupos controle e o tipo de célula.....	29
Quadro 2 - Descrição das técnicas realizadas nos estudos incluídos.....	29
Quadro 3- Descrição dos Resultados primários da demonstração da atividade antirreabsortiva, envolvimento da via NrF2/HO-1 e resultados secundários da Atividade anti-inflamatória/imunomoduladora por estudo.....	31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALP	Fosfatase alcalina
BMMs	Macrófagos derivados da medula óssea
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
EMBASE	<i>Excerpta Medica dataBase</i>
HO-1	Heme oxigenase1
HPDL	Células do ligamento periodontal humano
ICC	Imunocitoquímico
IF	Imunofluorescência
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
LDP	Ligamento periodontal
LILACS	Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LIPUS	Ultrassom pulsado de baixa intensidade
LPS	Lipopolissacarídeo
MC3T3-E1	Linhagem celular precursora de osteoblastos
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
NF- κ B	Fator nucleoide kappa B
NO	Óxido Nitrico
Nrf2	Fator nuclear eritróide 2 relacionado fator 2 (Nrf2)
OCN	Osteocalcina
OPN	Osteopontina
PGFE	Frutas Panax ginseng
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis</i>
PROSPERO	<i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
qRT-PCR	PCR quantitativo em tempo real
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
RAW 264.7	Células de macrófago murino
ROB	<i>Risk of Bias</i>

ROS	Espécies reativas de oxigênio
RUNX2	Fator de transcrição relacionado a runt 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
WB	Western Blot

SUMÁRIO

1 REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 Etiopatogenia da periodontite: papel da resposta imune-inflamatória	14
1.2 Envolvimento do estresse oxidativo e das vias de sinalização do fator nuclear eritróide 2 relacionado fator 2 (Nrf2) e da hemeoxigenase 1 (HO-1) na fisiopatologia da periodontite	15
1.3 Ensaio <i>in vitro</i>	17
2 JUSTIFICATIVA	18
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo Geral	19
3.1 Objetivos Específicos	19
4 CAPÍTULO ÚNICO	20
4.1 Papel regulatório da via de sinalização Nrf2/HO-1 em modelos <i>in vitro</i> de periodontite: uma revisão sistemática.	21
REFERÊNCIAS	58
ANEXOS	58