

## QUAL É O EFEITO DA LACTOFERRINA NO REPARO TECIDUAL DOS OSSOS MAXILARES? UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

GABRIEL LIMA BRAZ<sup>1</sup>; RAFAEL DOS SANTOS GIORGIS<sup>2</sup>; ALINI CARDOSO SOARES<sup>3</sup>; MARCOS ANTÔNIO TORRIANI<sup>4</sup>; CAMILA BARCELLOS CALDERIPE<sup>5</sup>; ANA CAROLINA UCHOA VASCONCELOS<sup>6</sup>

1 Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Pelotas – gabrielbraz886@gmail.com

2 Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Pelotas - rafaelgiorgis@msn.com

3 Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Pelotas – alinicardoso07@gmail.com

4 Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Pelotas – marcostorriani@gmail.com

5 Faculdade de Odontologia - Universidade Estadual de Campinas– camilabcaldერიpe@gmail.com

6 Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Pelotas – carolinauv@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A perda óssea como consequência de trauma dentoalveolar, neoplasias, cárie ou doença periodontal é um problema comum na área da cirurgia bucomaxilofacial. Em ossos maxilares, o curso da cicatrização tecidual foi amplamente estudado a partir de defeitos de diferentes naturezas e em distintos modelos *in vivo* (CARDAROPOLI; ARAÚJO; LINDHE, 2003). Por incitar uma resposta inflamatória, o processo de reparo de tecidos moles e duros compartilha alguns eventos comuns, classificados em três fases sequenciais e, frequentemente, sobrepostas: inflamatória, proliferativa e modeladora (ARAÚJO *et al.*, 2015). Infecção, estresse, diabetes, obesidade, medicamentos, alcoolismo e tabagismo são eventos que podem afetar um ou mais estágios desse processo (KHALIL; ABUNASEF, 2015).

A lactoferrina (LTF) é um membro da família transferrina de glicoproteínas de ligação ao ferro, secretadas por neutrófilos e células secretoras epiteliais das glândulas salivares, lacrimais e brônquicas (AGATIEVA *et al.*, 2021). A LTF também é sintetizada por granulócitos em maturação e é armazenada no sistema de grânulos secundário de neutrófilos (CLARKE *et al.*, 1999). Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que o efeito anabólico da LTF no metabolismo ósseo é exercido por meio da promoção da diferenciação e proliferação osteoblástica e inibição da atividade osteoclástica (NAOT *et al.*, 2004; XIAO *et al.*, 2023). Foi relatado que a LTF exerce atividade anti-inflamatória e antimicrobiana relevante (ROSA *et al.*, 2017). Além disso, alguns estudos demonstram sua capacidade de promover a cicatrização de feridas estimulando a proliferação e migração tanto de fibroblastos quanto de queratinócitos (SIVAMANI; GARCIA; ISSEROFF, 2007). O presente trabalho objetiva realizar uma revisão sistemática dos dados disponíveis sobre os efeitos da LTF no processo de reparo dos ossos maxilares para responder à pergunta: Qual é o efeito da LTF no reparo dos tecidos orais e maxilares?

### 2. METODOLOGIA

Buscas na literatura foram realizadas em 26 de junho de 2023, em seis bases de dados: PubMed/MEDLINE, Scopus, Embase, Web of Science, LILACS e Cochrane. Os critérios de inclusão foram baseados no acrônimo PICOS (População, Intervenção, Controle, Desfecho, Tipo de estudo): P, Pacientes e animais com ossos mandibulares sob avaliação e as seguintes linhagens celulares: fibroblastos, osteoblastos, osteoclastos, osteócitos, queratinócitos e endotélio; I, LTF; C, Nenhum ou outro tratamento; O, os efeitos do LTF na reparação tecidual;

S, Estudos *in vitro*, *in vivo* e ensaios clínicos randomizados/não randomizados. Os títulos/resumos de todas as referências recuperadas por meio de buscas eletrônicas foram lidos, independentemente, por três revisores (C.B.C., A.C.S. e L.Q.G.). Após a avaliação dos textos completos também foram incluídas as referências que atenderam aos critérios de elegibilidade.

Quando disponíveis, os seguintes dados foram extraídos de cada artigo incluído: nome dos autores, ano de publicação e país; objetivo, tipo de LTF (humano ou bovino); medicamento (concentração, posologia, via, horário de administração); amostras (linha(s) de células, modelos animais ou humanos); características da amostra (para estudos *in vitro*: grupo controle, lesão e meio de crescimento; para estudos *in vivo*: tamanho da amostra, descrição dos grupos e lesão [local]; para estudos clínicos: doença, desenho do estudo, tamanho da amostra, descrição dos grupos e lesão [local]); tipo de avaliação, principais resultados; e principais conclusões.

Para análise do risco de viés, os estudos foram classificados em: *in vitro*, *in vivo* ou investigações clínicas. Para avaliar a qualidade metodológica dos estudos *in vitro* foram adotados critérios baseados nos parâmetros para desenvolver estudos de cultura de células (SILVEIRA *et al.*, 2019). Para estudos *in vivo*, a ferramenta *Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation's* (SYRCLE) foi utilizada (HOOIJMANS *et al.*, 2014). Para ensaios clínicos randomizados a *Cochrane Handbook* foi utilizada para a análise (DE CARVALHO; SILVA; JOSÉ GRANDE III, 2013). Devido à falta de uniformidade metodológica nos estudos incluídos, uma meta-análise dos resultados obtidos não foi viável. Portanto, os resultados são resumidos de uma forma descritiva.

Essa revisão sistemática foi realizada com base no *guideline Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and MetaAnalyses* (PRISMA) 2020 (PAGE *et al.*, 2021) e registrada no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) sob o número: CRD42023437484

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quinhentos e sessenta artigos foram identificados nas seis bases principais - e cento e oitenta e duas referências adicionais na literatura cinzenta, totalizando setecentos e quarenta e dois estudos. Após a remoção das duplicatas obteve-se quatrocentos e cinquenta referências. A leitura de títulos e resumos resultou em dezessete artigos selecionados para leitura completa, dentre os quais, seis foram excluídos de acordo com os critérios de elegibilidade estabelecidos. Um total de onze estudos atenderam os critérios de inclusão. Destes, cinco (45,5%) foram estudos *in vitro*, cinco (45,5%) *in vivo* e um (9,09%) ensaio clínico. Artigos de quatro continentes foram incluídos: quatro (36,3%) foram conduzidos na Ásia, três (27,2%) na Oceania, três (27,2%) na Europa, e um (9,0%) na América do Norte.

Os dados incluídos demonstraram amplas variações entre delineamento dos estudos e protocolos de terapia com LTF. Proliferação e viabilidade celular foram os principais resultados encontrados nos estudos *in vitro*. Todos os estudos *in vitro* notaram um efeito positivo da LTF no processo de reparo. Para estudos em modelo animal, três (60%) artigos demonstraram que a LTF inibiu a reabsorção óssea. Os dois (40%) trabalhos restantes analisaram seus efeitos no reparo de tecido mole: um deles (20%) constatou redução das taxas de reparo, já o segundo observou maior expressão de linhas celulares com o potencial de acelerar o reparo. O ensaio clínico randomizado mostrou que LTF tem um potencial promotor de reparo de lesões em pacientes com osteonecrose dos maxilares associada a medicamentos.

Usualmente, o processo de reparo tecidual consiste em 3 fases sobrepostas: Inflamação, renovação e remodelação (MAJIDINIA et al., 2018). Na fase inicial, moléculas inflamatórias, como fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), e interleucinas (ILs) são secretadas em maior quantidade no local do trauma (MAJIDINIA et al., 2018; FAZZALARI, 2011). Nesta revisão um estudo analisou a expressão de FGF-2 em ratos expostos a feridas gengivais: em um grupo administrado com 40  $\mu$ g/ml LTF foi observada maior expressão imunohistoquímica de FGF-2 comparado ao grupo controle (ISTIATI et al., 2019). Dois estudos *in vitro* demonstraram que a LTF promove forte migração de queratinócitos, sugerindo um efeito positivo no mecanismo de re-epitelização (MOURITZEN et al., 2021; TANG et al., 2010).

Considerando a fase de remodelação do reparo tecidual dos ossos maxilares, osteoblastos e osteoclastos são diferenciados a partir de células osteoprogenitoras, as quais mediam a substituição de osso primário para osso lamelar através das ações de renovação e reabsorção (MAJIDINIA et al., 2018). A presente revisão mostrou três estudos *in vitro* que avaliaram os efeitos da LTF em tecidos duros. De modo geral, estes estudos observaram que a LTF aumentou a diferenciação osteoblástica e reduziu sua apoptose. Os resultados colocam a LTF como um potencial alvo terapêutico em doenças ósseas e pode ter utilidade como agente para promover o reparo ósseo.

Em relação ao risco de viés, entre os cinco estudos *in vitro*, quatro (80%) foram classificados como baixo risco e um (20%) como alto risco. Entre cinco os estudos *in vivo*, três (60%) apresentaram um risco médio e dois (40%) tiveram um risco baixo de viés, de acordo com o critério SYRCLE. O único estudo clínico demonstrou um risco médio de viés, de acordo com a ferramenta *Cochrane*.

Os resultados da presente revisão sistemática apresentam algumas limitações que devem ser reconhecidas. Primeiramente, estudos *in vitro* e *in vivo* apresentam diferentes concentrações e vias de administração, tornando impossível uma avaliação estatística mais potente (meta-análise). Em segundo lugar, apenas dois estudos compararam o efeito da LTF bovina e humana, e não houve padronização do tipo de LTF usada. Ademais, apenas três estudos avaliaram a ação potencial da LTF no reparo de tecidos moles. Por fim, o único estudo clínico apresentou risco médio de viés.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente trabalho observou evidências aceitáveis que apoiam o uso da terapia com LTF no reparo dos ossos maxilares. No entanto, sugere-se que estudos bem delineados, principalmente baseados em modelos *in vivo* seguidos de ensaios clínicos, devam ser realizados para melhor avaliar os efeitos da terapia com LTF nos mecanismos de reparo tecidual, especialmente nos tecidos moles.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGATIEVA, Elima; KSEMBAEV, Said; SOKOLOV, Mikhail; MARKOSYAN, Vage; GAZIZOV, Iliaz; TSYPLAKOV, Dmitry; SHMAROV, Maxim; TUTYKHINA, Irina; NARODISTKY, Boris; LONGUNOV, Denis; POZDEEV, Oskar; MOROZOVA, Lidiya; YAPPAROVA, Kamilya; ISLAMOV, Rustem. Evaluation of direct and cell-mediated lactoferrin gene therapy for the maxillofacial area abscesses in rats. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2021.

ARAÚJO, Mauricio G; SILVA, Cléverson O; MISAWA, Mônica. Alveolar socket healing: what can we learn?. **Periodontology** 2000, v. 68, p. 122–134, 2015.

- CARDAROPOLI, G; ARAÚJO, M; LINDHE, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites An experimental study in dogs. **J Clin Periodontol**, v. 30, p. 809-818. 2003.
- CLARKE, Julie; EDWARDS, Ben; SRPEK, Leanne; REGESTER, Geoff. Evaluation of bovine lactoferrin as a topical therapy for chemotherapy-induced mucositis in the golden Syrian hamster. **Oral Oncology**, North Adelaide, v. 35, p. 197–202, 1999.
- DE CARVALHO, Alan Pedrosa Viegas; SILVA, Valter II; JOSÉ GRANDE III, Antonio. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Diagn Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.
- HOOIJMANS, Carlijn R *et al.* SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **Medical Research Methodology**, p. 1–9, 2014.
- KHALIL, Wafaa A.; ABUNASEF, Siham K. Can Mineral Trioxide Aggregate and Nanoparticulate EndoSequence Root Repair Material Produce Injurious Effects to Rat Subcutaneous Tissues?. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 7, p. 1151–1156, 2015.
- NAOT, Dori; GREY, Andrew; REID, Ian R; CORNISH, Jillian. **Lactoferrin-A Novel Bone Growth Factor** **Clinical Medicine & Research**, v. 3, n. 2, p. 93-101, 2004.
- PAGE, Matthew J. *et al.* PRISMA 2020 explanation and elaboration: Updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. **BMJ Publishing Group**, 2021.
- RAJA, K. Sivamani; MIKI, Shirakawa Garcia; R. Rivkah Isseroff. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 2849–2868, 2007.
- ROSA, Luigi; CUTONE, Antimo; LEPANTO, Maria Stefania; PAESANO, Rosalba; VALENTI, Piera. **Lactoferrin: A natural glycoprotein involved in iron and inflammatory homeostasis**, v.18, p. 1-26, 2017.
- SILVEIRA, Felipe Martins *et al.* Examining tumor modulating effects of photobiomodulation therapy on head and neck squamous cell carcinomas, **Royal Society of Chemistry**, 2019.
- XIAO, Xiaoyue; CHENG, Ye; HUANG, LI; LIU, Ruojing; ZOU, Shujuan; CHEN, Jianwei. Gavage-administered lactoferrin promotes palatal expansion stability in a dose-dependent manner. **Oral Diseases**, v. 29, n. 1, p. 254–264, 2023.
- MAJIDINIA, M; SADEGHPOUR, A; YOUSEFI, B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. **J Cell Physiol**, v. 233 n. 4, p.2937-2948, 2018.
- Fazzalari NL. Bone fracture and bone fracture repair. **Osteoporos Int**, v. 22, n. 6, p. 2003-2006, 2011.
- MOURITZEN, MV; PETKOVIC, M; QVIST, K; POULSEN, SS; ALARICO, S; LEAL, EC; DALGAARD, LT; EMPADINHAS, N; CARVALHO, E; JENSSEN, H. Improved diabetic wound healing by LFcInB is associated with relevant changes in the skin immune response and microbiota. **Mol Ther Methods Clin Dev**, v. 15, n. 20, p. 726-739, 2021.
- ISTIATI; NIRWANA, Intan; SURJONO, Indra; SURBOYO, Meircurius Dwi Condro. Role of Lactoferrin Fibroblast Growth Factor 2 and Vascular Endothelial Growth Factor in Gingival Wounds. **Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University**. v. 8, p. 38-45, 2019.
- TANG L, WU JJ, MA Q, CUI T, ANDREOPOULOS FM, GIL J, VALDES J, DAVIS SC, LI J. Human lactoferrin stimulates skin keratinocyte function and wound re-epithelialization. **Br J Dermatol**, v. 163, n. 1, p. 38-47, 2010.