CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

CURSO DE ODONTOLOGIA

ERICK IBRAIM CARLOS DA COSTA

INFLUÊNCIA DO USO DA NALTREXONA ORABASE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS

FORTALEZA

2025

ERICK IBRAIM CARLOS DA COSTA

INFLUÊNCIA DO USO DA NALTREXONA ORABASE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Odontologia do Centro Universitário Christus, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Thinali Sousa Dantas

FORTALEZA
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Centro Universitário Christus - Unichristus
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837i Costa, Erick Ibraim Carlos da.
INFLUÊNCIA DO USO DA NALTREXONA ORABASE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS / Erick Ibraim Carlos da Costa. - 2025.
38 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Centro Universitário Christus - Unichristus, Curso de Odontologia, Fortaleza, 2025.
Orientação: Profa. Dra. Thinali Sousa Dantas.

1. Úlceras Orais. 2. Naltrexona. 3. Pomadas. 4. Cicatrização. I. Título.

CDD 617.6

ERICK IBRAIM CARLOS DA COSTA

INFLUÊNCIA DO USO DA NALTREXONA ORABASE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Odontologia do Centro Universitário Christus, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Thinali Sousa Dantas

Aprovado em: ____/____/_____

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Thinali Sousa Dantas (Orientador)
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

_____

Prof. Dr. Antônio Ernando Carlos Ferreira Júnior
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

_____

Prof. Dr. Luiz André Cavalcante Brizeno
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

À Deus, que segurou minha mão e me trouxe a lugares inimagináveis. Aos meus pais, que me acreditaram e apoiaram minhas decisões, nós conseguimos.

AGRADECIMENTOS

Essa jornada tão árdua eu agradeço a Deus, que nunca me desamparou, e em meio a incertezas me trouxe a certeza de que ele estava cuidando de tudo. Que eu continue buscando ser imagem e semelhança d'Ele, e através da odontologia, seja capaz de mudar a vida do meu próximo.

Agradeço aos meus pais, **Valterina e Raimundo**, que seguraram minha mão e me deram a oportunidade de estudar e avançar como humano, que com seus princípios me tornaram destemido e responsável. Em especial, minha mãe, que me ajudou a enfrentar os desafios, e quando chegava em casa tinha um carinho de mãe à minha espera. Ela que sempre se sacrificou pelos nossos sonhos, te amo mãe. Ao meu pai que todos os dias levantou cedo e buscou o melhor aos seus filhos. Obrigado mãe, obrigado pai, amo vocês!

Aos meus irmãos, **Larissa e Rafael**, que foram apoio e incentivo nessa jornada, apesar das diferenças, acreditaram em mim e me apoiaram. Quando as coisas apertaram, minha irmã me proporcionou que eu continuasse minha dedicação exclusiva à faculdade. Essa conquista é nossa. Aos meus sobrinhos, **Ana Lara e Tito**, que foram bênçãos em nossas vidas, por muitas vezes minha fonte de carinho e amor, e sempre associando o tio a "dentista", vocês são especiais, e Ana Lara sempre tão falando já anda me divulgando por aí.

Ao meu amor, **Caio**, que confiou nesse processo, segurou na minha mão, e me aproximou de Deus. Com sua calmaria me ensina que aos poucos tudo vai dando certo, obrigado por estar comigo nessa, e por ter apostado nesse meu sonho. Obrigado por ser ombro amigo no dia cansativo, sempre acreditando em mim e segurando na minha mão. Eu te amo.

À minha madrinha, **Mylena**, que sempre investigou e acreditou nos meus sonhos, desde pequeno. Que me abraçou como filho e me cuidou. Obrigado, essa vitória também é sua.

Aos meus avós maternos, **Josefa e Raimundo** (in memoriam), que não puderam me ver concretizando um sonho, mas que sempre torceram pelo meu bem e felicidade. Aos avós paternos, **Maria e José**, que acreditaram e sempre me colocaram em suas orações.

Aos meus tios, **Pedro, Rosa, Joana**, que me trataram como filho e sempre me desejaram as melhores coisas desse mundo, obrigado por tudo.

Aos meus primos e primas que por muitas vezes foram apoio e incentivo, obrigado.

À minha orientadora **Thinali Dantas**, que representou/representa muito na minha jornada, que foi fonte de inspiração, e apesar do jeito durona, me mostrou que lhe conquistar é difícil, mas ter você ao lado é fácil demais. Justa, verdadeira e competente, nunca mediu esforços pelos seus e que muitos carões representavam a importância para você, querido Paulinho uma vez me disse, se ela te deu o carão é porque ela se importa, e se ela se importa é porque ela acredita na sua capacidade. Obrigado pelas oportunidades professor, tenho orgulho de dizer que vim de você.

À minha orientadora **Juliana Paiva**, que com sua doçura, calmaria e competência, muito me ensinou para além da Dentística. Obrigado por lá no 2º semestre ter acreditado em mim, e me confiado tamanha responsabilidade em continuar a execução de um aplicativo. A importância que você dá a sua família, sua história de vida, é inspiração, me orgulha ter você em minha jornada.

Aos meus professores que me formaram e me mostraram uma visão para além da odontologia, **Danna, Elisa Lima, Paulinho, Fabrício, Dianna, Ernanda, Carol Luna, Isabelly Vidal, Isabela, Aury, Pollyana, André Brizeno, Ernando, Mário** e todo corpo docente Unichristus.

À minha preceptora **Dra Jeanne**, que me recebeu de portas abertas no CEO CENTRO, me mostrou a odontologia do dia a dia, me ensinou bons valores e um mundo além da odontologia. Minha eterna gratidão a você, é em profissionais como você que me inspiro.

Às minhas amigas **Nicole e Nathália**, que estiveram comigo desde o começo desse sonho, que acompanharam essa minha evolução. Obrigado por confiarem.

Aos amigos que a odontologia me trouxe: **Larissa, Beatriz, Vanessa, Eduarda, Mikaele, Nicole e Manu**. Vocês foram luzes em dias duvidosos, cada conversa e gargalhada fizeram o processo mais leve. Outros também especiais, Amanda Borges, Eduarda, Romeu, Anny, Ana Clara, Vitória, Rebeca, Barrocas, Thales.

Aos amigos da iniciação científica que partilharam essa jornada comigo, me auxiliaram nesse processo, esse projeto é nosso, não teria conseguido sem a ajuda de vocês.

Às minhas amigas mestrandas**, Tayane e Ana Mirian**, aprendo todos os dias com o bom coração de vocês, ter vocês em minha jornada foi muito especial.

Aos funcionários da instituição que me proporcionaram um ambiente que pudesse me formar com tamanha excelência: Val, Márcio, Dani, Paty, Sr. João, Faby e outros.

Aos meus pacientes, que a mim confiaram seu tratamento, aprendi muito com cada um de

vocês, e o que aprendi hoje, devo também a vocês. Obrigado.

Finalizo meus agradecimentos com tamanho carinho e respeito pelas políticas afirmativas implementadas nesse país, graças ao **PROUNI** consegui finalizar minha jornada, essa era a oportunidade que me faltava para avançar ainda mais como pessoa, a Odontologia mudou minha vida, e isso sem dúvidas, é graças ao **PROUNI.**

Obrigado a **FUNCAP** pela bolsa de incentivo à pesquisa que me concedeu a oportunidade de me dedicar integralmente às atividades de pesquisa.

Obrigado.

"Sonhos determinam o que você quer. Ação determina o que você conquista."
(Aldo Novak)

RESUMO

As úlceras orais são lesões comuns na rotina odontológica, que surgem em resposta a danos no epitélio, expondo o tecido conjuntivo subjacente e demandando tratamentos que acelerem a cicatrização. Entre as opções terapêuticas, medicamentos capazes de potencializar esse processo ganham destaque. O Cloridrato de Naltrexona, conhecido principalmente como antagonista dos receptores opióides e utilizado no tratamento de dependências químicas, têm demonstrado efeitos promissores na cicatrização de feridas e na redução do limiar da dor. O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do uso da naltrexona orabase na cicatrização de úlceras orais induzida em ratos. Foram utilizados 200 ratos Wistar fêmeas, divididos em cinco grupos de tratamento: três doses diferentes de Naltrexona Orabase (1 mg, 0,3 mg e 0,1 mg), um grupo placebo e um grupo controle negativo. Cada grupo foi subdividido em quatro subgrupos, de acordo com o tempo de eutanásia após a indução da úlcera, que foi realizada com um bisturi circular de 6 mm de diâmetro. A medicação foi aplicada topicamente duas vezes ao dia. Os parâmetros avaliados incluíram a medição da área da úlcera, a variação do peso corporal dos animais, escores histológicos e análise histomorfométrica das células envolvidas no processo cicatricial, como polimorfonucleares, mononucleares e fibroblastos/miofibroblastos. Os dados quantitativos foram expressos em média ± erro padrão da média (EPM) e analisados estatisticamente por ANOVA 2-way com correção de Bonferroni. Dados não paramétricos foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn. Os resultados indicaram que a aplicação tópica da Naltrexona Orabase promoveu uma redução na área das úlceras, especialmente na dose mais alta (1 mg) ($p<0,001$), que também favoreceu a manutenção do peso corporal dos animais durante o período de avaliação. Houve uma redução expressiva de mononucleares e um aumento progressivo no número de fibroblastos, principalmente nas doses de 0,3 mg e 1 mg ($p<0,001$). A dose de 1 mg também foi responsável pelos melhores escores histológicos relacionados à inflamação. Esses achados reforçam o potencial terapêutico da Naltrexona no processo de cicatrização, com propriedades analgésicas e, possivelmente, anti edematosas quando aplicada topicamente. Dessa forma, a Naltrexona Orabase demonstrou uma resposta pro-cicatrizante em úlceras orais de ratos e redução da inflamação, abrindo caminho para seu potencial aplicação clínica no tratamento de úlceras orais.

Palavras Chaves: Úlceras Orais; Naltrexona; Pomadas; Cicatrização.

ABSTRACT

Oral ulcers are common lesions in routine dentistry, which appear in response to damage to the epithelium, exposing the underlying connective tissue and requiring treatments to speed up healing. Among the therapeutic options, drugs capable of potentiating this process stand out. Naltrexone hydrochloride, known mainly as an opioid receptor antagonist and used in the treatment of drug addiction, has shown promising effects on wound healing and pain threshold reduction. The aim of this study was to evaluate the influence of the use of naltrexone orabase on the healing of oral ulcers induced in rats. Two hundred female Wistar rats were used and divided into five treatment groups: three different doses of Naltrexone Orabase (1 mg, 0.3 mg and 0.1 mg), a placebo group and a negative control group. Each group was subdivided into four subgroups according to the time of euthanasia after ulcer induction, which was carried out with a 6 mm diameter circular scalpel. The medication was applied topically twice a day. The parameters evaluated included measuring the area of the ulcer, the change in the animals' body weight, histological scores and histomorphometric analysis of the cells involved in the healing process, such as polymorphonuclear, mononuclear and fibroblasts/myofibroblasts. Quantitative data was expressed as mean ± standard error of the mean (SEM) and statistically analyzed by 2-way ANOVA with Bonferroni correction. Non-parametric data was evaluated using the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test. The results indicated that the topical application of Naltrexone Orabase promoted a reduction in the area of the ulcers, especially at the highest dose (1 mg) ($p<0.001$), which also favored the maintenance of the animals' body weight during the evaluation period. There was a significant reduction in mononuclear cells and a progressive increase in the number of fibroblasts, especially at the 0.3 mg and 1 mg doses ($p<0.001$). The 1 mg dose was also responsible for the best histological scores related to inflammation. These findings reinforce the therapeutic potential of Naltrexone in the healing process, with analgesic and possibly anti-edematous properties when applied topically. Thus, Naltrexone Orabase demonstrated a pro-healing response in rat oral ulcers and reduced inflammation, paving the way for its potential clinical application in the treatment of oral ulcers.

Keywords: Oral Ulcer; Naltrexone; Ointments; Wound Healing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Perfil clínico e histomorfométrico de úlceras orais de ratos tratados diariamente com Naltrexona orabase em diferentes concentrações, placebo ou sem tratamento..... 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil clínico e histomorfométrico de úlceras orais de ratos tratados diariamente com orabase contendo naltrexona em diferentes concentrações
..... 28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Naltrexona: doses, interação com receptores, e usos clínicos …….. 19

Quadro 2 - Distribuição da quantidade total de animais utilizados por grupos: ……. 23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TLR-4	Receptor tipo toll-4
ROs	Receptores opióides
OGFr	Receptor do fator de crescimento opióide
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
DAMPs	Padrões moleculares associados a dano
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
IL-1β	Interleucina um beta
IL-8	Interleucina oito
FDA	Food and Drug Administration12
MOPr	Receptor mu-opióide
NOPr	Receptor de peptídeo opióide de nociceptina
ZOPr	Receptor zeta opióide
DOPr	Receptor delta opióide
PRRs	Receptor de reconhecimento de padrão
CEUA	Comissão ética do uso animal
CMC	Carboximetilcelulose
IP	Injeção intraperitoneal
EPM	Erro padrão da média
DNA	Ácido desoxirribonucleico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
2 OBJETIVOS 17
2.1 Objetivo Geral 17
2.2 Objetivos Específicos 17
3 REFERENCIAL TEÓRICO 18
3.1 Úlcera 18
3.2 Naltrexona 19
3.2.1 Naltrexona como ferramenta cicatrizante: interação com os ROs 20
3.2.2 Naltrexona na modulação da resposta imunológica e processo cicatrizador..... 21
4 MATERIAIS E MÉTODOS 22
4.1 Princípios éticos, animais..... 22
4.2 Naltrexona orabase, método de aplicação e divisão dos grupos..... 22
4.3 Cálculo amostral..... 23
4.4 Protocolo experimental para Indução da Úlcera..... 23
4.5 Análises clínicas: tamanho da úlcera e variação de peso..... 24
4.6 Análise histológica 24
4.7 Análise histomorfométrica: infiltrado inflamatório e fibroblastos 24
4.8 Análise estatística..... 25
5 RESULTADOS 26
5.1 O uso da Naltrexona Orabase reduziu a área de úlcera e contribuiu para manutenção de pesos dos animais..... 26
5.2 O uso da Naltrexona Orabase não reduziu a infiltração de polimorfonucleares nas úlceras avaliadas..... 26
5.3 A Naltrexona Orabase reduziu de forma o infiltrado mononucleares nas úlceras avaliadas..... 26
5.4 O uso da Naltrexona Orabase influenciou na deposição de fibroblasto nas úlceras avaliadas..... 27
5.5 O uso da Naltrexona Orabase diminuiu escores histológicos das úlceras avaliadas..... 27
6 DISCUSSÃO 31
7 CONCLUSÃO 33
REFERÊNCIAS 34
ANEXOS..... 41

1 INTRODUÇÃO

A presença de úlceras orais é um frequente achado na clínica odontológica, sendo definida como lesões em mucosa de cavidade oral que apresenta danos ao epitélio e tecidos subjacentes. A etiologia pode estar associada a trauma, infecção, deficiência nutricional, radioterapia e quimioterapia (Wagner *et al*., 2013).

O processo cicatrizador de úlceras orais apresenta diversos mecanismos celulares e moleculares, que objetivam restituir o tecido lesado e são divididos em fases sequenciais, chamadas de inflamação, proliferação e remodelação (Landén; Ståhle, 2016)

É comum os pacientes relatarem alta sensibilidade dolorosa durante o processo cicatricial. Isso se deve a exposição do tecido conjuntivo que expõe terminações nervosas ao meio oral, o que prejudica a qualidade de vida do paciente lesado. Logo, demonstra-se necessárias terapias que objetivam reduzir a dor e acelerem o processo cicatrizador (Hapa *et al*., 2011).

A Naltrexona é um fármaco antagonista dos receptores opióides (ROs) agindo diretamente impedindo o aumento da atividade do sistema opióide endógeno, cujo efeito de reforço positivo leva a estados de adição (Serecigni, 2015). Seu uso primário foi indicado no tratamento de estágios de dependência ao álcool, entretanto, outras modalidades terapêuticas associadas à droga têm ganhado destaque, a exemplo disso, temos seu uso no processo de cicatrização de feridas. Sua capacidade proliferativa nesse processo é dado por meio da interação com receptores opióides (ROs), principalmente, com o receptor de fator de crescimento opióide (OGFr) (Hendershot *et al*., 2017; Immonen; Zagon; Mclaughlin, 2014).

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 consonância a isso, considera-se que esses receptores são capazes de modificar o processo cicatrizador, embora a compressão do efeito ainda seja inconclusiva.

No entanto, o conhecimento dos efeitos e mecanismos dessa droga, quando utilizados fora de sua indicação clássica, ainda é limitado. Diaz *et al*. (2024) demonstraram que a administração oral da naltrexona contribuiu positivamente ao fechamento de úlceras orais. Assim, compreender os mecanismos envolvidos e replicar esse modelo de forma tópico pode representar um avanço significativo no manejo clínico de úlceras orais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência do uso da naltrexona orabase na cicatrização de úlceras orais induzida em ratos.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Avaliar a influência de diferentes doses de Naltrexona na cicatrização clínica em ratos Wistar submetidos a modelo úlcera traumática em mucosa jugal;

2.2.2 Avaliar a influência de diferentes doses de Naltrexona nas fases de cicatrização histológica e aspectos histomorfométricos em ratos Wistar submetidos a modelo úlcera traumática em mucosa jugal;

2.2.3 Avaliar a influência de diferentes doses de Naltrexona na variação ponderal em ratos Wistar submetidos a modelo úlcera traumática em mucosa jugal.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Úlcera

Em úlceras recorrentes ou crônicas são necessárias modalidades terapêuticas cicatrizadoras a fim de restituir a função e a fisiologia do tecido lesado. A exemplo dessas terapias pode-se incluir a aplicação de esteróides, tetraciclina, analgésicos, bochechos antissépticos e outros (Scully; Shotts, 2000).

A resposta cicatrizante de úlceras orais é mais hábil que as de feridas de pele (Szpaderska; Zuckerman; Di Pietro, 2003), isso ocorre devido a presença de citocinas, fatores de crescimento e proteases na saliva (Zelles *et al*., 1995), bem como suas diferentes respostas celulares durante a cicatrização (Chen *et al*., 2010). Apesar de possuir um processo de cicatrização mais rápido, estratégias que objetivem melhorar a resposta à cicatrização de feridas orais são importantes, uma vez que podem contribuir para o desenvolvimento e refinamento dos procedimentos cirúrgicos e para o conforto do paciente no pós-operatório (Santamaria *et al*., 2017).

O processo ulcerativo promove o envolvimento de vasos sanguíneos, ativação plaquetária associado a formação de tampão primário, ativação da cascata de coagulação e formação de fibrina (Hart, 2002). Simultaneamente ao envolvimentos dos fatores sanguíneos, macrófagos residentes e mastócitos promovem a liberação de aminas vasoativas (histamina e serotonina), gerando um aumento na permeabilidade vascular, promovendo a saída de transudatos (eletrólitos e pequenas moléculas), exsudatos (albumina e fibrinogênio), simultaneamente, a liberação de citocinas inflamatórias, como Fator de Necrose Tumoral (TNF-α), Interleucina - 1β (IL-1β) e quimiocinas, principalmente IL-8, responsável pela atração de neutrófilos, os primeiros leucócitos a migrarem ao sítio inflamatório em 24 horas (Hart, 2002; Glim *et al*., 2013).

É comum os pacientes aferirem alta sensibilidade dolorosa durante o processo cicatrizador, justificado pela exposição conjuntiva e terminações nervosas na região, o que prejudica a qualidade de vida do paciente. Logo, demonstra-se necessário terapias que tenham como objetivo reduzir a dor e acelerar o processo cicatrizador (Hapa *et al*., 2011). O estímulo à proliferação celular pode favorecer o processo de cicatrização de úlceras orais. Assim, a administração de fatores de crescimento ou o favorecimento da sua síntese já foi avaliado no tratamento dessas lesões, apresentando resultados favoráveis (Dewedar; Farid; Adawy, 2018; Fujisawa; Miyamoto; Nagayama, 2003).

3.2 Naltrexona

A naltrexona foi aprovada pela FDA (Federal Drug Administration) em 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) nas concentrações de 50 a 100mg por dia (dose padrão) (Toljan; Vrooman, 2018).

Além disso, a Naltrexona apresenta como propriedade o aumento na proliferação celular, por meio de sua interação com receptores opióides (ROs), principalmente, com o fator de crescimento opióide (OGFr) (Immonen; Zagon; Mclaughlin, 2014; Mclaughlin *et al*., 2017; Mclaughlin; Immonen; Zagon, 2013; Zagon *et al*.,2010). Devido sua característica imunomoduladora e de aumento na proliferação celular, vem sendo estudada sua aplicabilidade em outras situações clínicas, a exemplo da cicatrização de feridas, câncer e doenças imunomediadas. A tabela a seguir exemplifica a relação de suas doses e a interação fármaco-receptor e seu uso clínico.

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

Dose de Naltrexona	**Interação Fármaco - Receptor**	**Uso Clínico**
Alta Dose (50 - 100 mg)	Antagonismo contínuo dos receptores opióides	Abuso de álcool, opióides e cicatrização de feridas
Baixa Dose (1-5 mg)	Antagonismo intermitente dos receptores opióides; Antagonismo do receptor toll-like 4.	Fibromialgia, esclerose múltipla, doença de Crohn, câncer, doença de Hailey-Hailey, síndrome de dor regional complexa

Fonte: Adaptado Toljan e Vrooman (2018).

A Naltrexona é capaz de gerar efeitos paradoxais. Essa característica é explicada pela sua regulação no sistema opioide endógeno durante o uso de antagonistas ou agonistas exógenos. Estudos avaliaram 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). No uso da dose padrão, a Naltrexona é capaz de manter seu efeito antagônico nos receptores opióides por vinte e quatro horas em humanos, gerando bloqueio contínuo do receptor quando administrada uma vez por dia (Serecigni, 2015).

Contudo, em doses inferiores, 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.

Dessa forma, a Naltrexona em sua gama de ações farmacológica varia de acordo com a da duração do bloqueio do receptor devido a sua capacidade de interagir de forma não seletiva com variados receptores opióides (Mμ, Kκ, δ, e receptor do fator de crescimento opioide) e não opióides, como o receptor de tipo toll-4 (TLR-4).

3.2.1 Naltrexona como ferramenta cicatrizante: interação com os Ros

Os receptores opióides (ROs) são receptores celulares acoplados à proteína G que estão associados na modulação do estímulo doloroso. A ativação desses receptores desencadeia um poderoso efeito analgésico que tem sido utilizado em diversas situações clínicas (Al-hasani; Bruchas, 2011; Dhaliwal; Gupta, 2021). Os ROs são descritos em cinco tipos: o receptor Mμ (MOPr), Kκ (KOPr), δ (DOPr), o receptor de peptídeo opióide de nociceptina (NOPr) e, além, destaca-se a existência do receptor opióide ζ (ZOPr), também chamado de receptor do fator de crescimento opioide (OGFr) (Dhaliwal; Gupta, 2021).

O OGFr difere dos outros receptores no que toca a sua estrutura em forma de proteína integral anexada ao envelope nuclear e ativado por seu ligante, sendo responsável por regular positivamente as vias inibitória de quinases dependentes de ciclina, promovendo uma redução na proliferação celular (Zagon; Donahue; Mclaughlin, 2013).

Embora a função dos receptores opióides seja a modulação central de processos álgicos, a expressão desses receptores já foi encontrada em neurônios periféricos, células neuroendócrinas, células imunes, células epiteliais, e outros (Stein , 2016). A função do sistema opióide endógeno está sujeita a ação de um controle epigenético, logo, há interação dos ROs com seus ligantes agonistas e antagonistas e outros fatores são capazes de modificar a expressão e organização deste sistema. Assim, se justifica 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), migração e adesão celular. Em consonância a isso, considera-se que esses receptores são capazes de modificar o processo cicatrizador, embora a compressão do efeito ainda seja inconclusiva (Wang *et al*., 2017).

Alguns estudos apresentam que a ausência de MOPr e DOPr em animais retarda o processo de cicatrização, e o uso de agonistas opióides favorece os processos de proliferação

e migração de células endoteliais, melhorando a resposta cicatricial (Wang *et al*., 2017).

Entretanto, o receptor opióide mais estudado e associado ao processo de cicatrização é o OGFr, uma vez que está diretamente associado ao processo proliferativo celular, atuando como um fator regulatório negativo (Zagon; Donahue; Mclaughlin, 2013).

3.2.2 Naltrexona na modulação da resposta imunológica e processo cicatrizador

A resposta imunológica é constituinte no processo cicatrizador, 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; Ståhle, 2016; Zaiss; Minutti; Knipper, 2019). Nessa óptica, a resposta inata e adaptativa desempenha papel importante. A Naltrexona em baixa dose associa-se à imunomodulação, 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-β) e TRAM (molécula adaptadora relacionada a TRIF) (Akira; Takeda, 2004; Liu *et al*., 2020).

A ação imunomoduladora da Naltrexona é geralmente atribuída a baixas doses. No entanto, o conhecimento dos efeitos e mecanismos dessa droga, não associados ao seu uso padrão continua sendo restrito, necessitando assim que estudos experimentais sejam executados a fim de avaliar a sua resposta cicatrizadora e nociceptiva no tratamento de úlceras orais sob formulação tópica sem necessidade de envolvimento sistêmico da medicação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Princípios éticos, animais

O presente estudo foi aceito pela Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unichristus, estando de acordo com a Lei Federal nº 11.794 (2008) e o decreto número 6.689 (2009), sob o protocolo CEUA nº 003/23 **(ANEXO)**.

Foram utilizados 200 ratos Wistar (Rattus novergicus) fêmeas com peso inicial entre 150 a 200g. Os animais foram mantidos com água e ração ad libitum, em ciclo claro-escuro de 12 h, temperatura de 20-25ºC.

4.2 Naltrexona orabase, método de aplicação e divisão dos grupos

A aplicação da Naltrexona Orabase foi realizada a partir do D1 após a confecção da úlcera, os animais foram imobilizados e, posteriormente, aplicado uma quantidade semelhante à um grão de ervilha em uma haste flexível sendo aplicado na área respectiva da úlcera. As doses variaram de acordo com grupo experimental e a concentração da orabase, sendo utilizadas concentrações: 0,1 mg/ml; 0,3 mg/ml; 1 mg/ml e 0 mg **(PLACEBO)**.

A administração foi realizada duas vezes ao dia, ao início do turno manhã (7:00) e ao final da tarde (16:00), obedecendo os horários de funcionamento do biotério da instituição. Durante o curso do experimento a medicação foi armazenada em ambiente frio (15-20ºC) a fim de respeitar as recomendações do fabricante.

Componentes da base: Carboximetilcelulose (CMC), Nipagin, Benzoato de sódio, Sucralose, Água desmineralizada e Naltrexona.

Os animais foram aleatoriamente divididos em 5 grupos: Naltrexona Orabase 0,1 mg, Naltrexona Orabase 0,3 mg, Naltrexona Orabase 1mg, Placebo e Controle. Os grupos foram subdivididos em 4 subgrupos de **10 animais cada**, de acordo com os dias de eutanásia (3, 7, 14 e 21 dias)

4.3 Cálculo amostral

Tendo em vista que McLaughlin *et al*. (2017) avaliando feridas cutâneas em ratos diabéticos observou que o tratamento com naltrexona tópica reduziu significantemente a área de úlcera após oito dias da ulceração quando comparado a um tratamento placebo (Média±DP = 19,2±7,1 vs 7±8,9 cm²) estimou necessário avaliar 10 ratos por grupo de estudo a fim de obter uma amostra que represente com 90% de poder e 95% de confiança a hipótese alternativa desse estudo (teste t de Student).

Quadro 2: Distribuição da quantidade total de animais utilizados por grupos:

GRUPOS	**DIA 3**	**DIA 7**	**DIA 14**	**DIA 21**	**TOTAL**
Naltrexona orabase 0,1 mg/ml	**10**	**10**	**10**	**10**	**40**
Naltrexona orabase 0,3 mg/ml	**10**	**10**	**10**	**10**	**40**
Naltrexona orabase 1 mg/ml	**10**	**10**	**10**	**10**	**40**
Grupo controle	**10**	**10**	**10**	**10**	**40**
Grupo placebo	**10**	**10**	**10**	**10**	**40**
TOTAL					**200**

Fonte: Acervo pessoal

4.4 Protocolo experimental para Indução da Úlcera

Os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (IP) com xilazina 25 mg/kg e quetamina 75 mg/kg, realizando a antissepsia da mucosa com digluconato de clorexidina

0,12% e indução da úlcera em mucosa jugal direita, com punch dermatológico circular de 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade (Rhosse®). Lâmina nº 15 em bisturi de Bad Parker utilizada para remoção do tecido remanescente (adaptado de Mesquita *et al*., 2018; Cavalcante *et al*., 2011).

4.5 Análises clínicas: tamanho da úlcera e variação de peso

Após a eutanásia, as úlceras foram mensuradas 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 utilizadas para calcular a área ($A= \pi.d.D/4$) ulcerada. As úlceras foram removidas e acondicionadas em formol tamponado 10% por 24 horas para o processamento histológico (Mesquita *et al*., 2018). Para o cálculo da variação percentual da massa corpórea inicial foi considerado o peso no dia de indução da úlcera e no dia da eutanásia (Mesquita *et al*., 2018).

4.6 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. Posteriormente, foi realizada a coloração com hematoxilina-eosina e observação no microscópio óptico.

A avaliação histológica considerou o tecido conjuntivo, avaliando os escores em 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).

4.7 Análise histomorfométrica: infiltrado inflamatório e fibroblastos

Foi selecionado cinco microcampos de cada lâmina corada com hematoxilina-eosina (três na superfície e dois na profundidade) totalizando 1,30mm². Os microcampos foram fotografados no aumento de 400x utilizando o microscópio (DM2000, Leica®) com câmera (DFC295, Leica®) e *software* (LAS, Leica®) acoplados. Foi feita a contagem total de células (polimorfonucleares, mononucleares, fibroblastos/miofibroblastos), utilizando o comando *Cell counter* do *software ImageJ*® (Mesquita *et al*., 2018).

4.8 Análise estatística

Os dados quantitativos como área da úlcera, variação da massa corpórea, análise histomorfométrica foram expressos em forma de média ± EPM. Estes dados foram analisados pelo ANOVA-2-way, seguido do pós-teste de Bonfferoni. 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 com ajuste de Dunn.

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

5 RESULTADOS

5.1 O uso da Naltrexona Orabase reduziu a área de úlcera e contribuiu para manutenção de pesos dos animais

Foi observado redução da área de úlcera dos animais tratados com Naltrexona Orabase, principalmente no 3º ($p<0,001$), 7º ($p=0.004$) e 21º dia ($p=0.005$), onde todas as doses apresentaram menor área de úlcera que o controle negativo entre os dias descritos. A dose de 1mg seguiu a tendência de redução, com menor área entre os grupos experimentais (4.99±0.95) ($p=0,004$). Essa tendência seguiu até o 21º dia, onde a dose de 1mg continuou a apresentar menor métrica (0.38±0.14) ($p=0,005$), sugerindo redução clínica das úlceras de forma dose dependente. Observando o grupo controle entre 14º (1.08±0.25) e 21º (1.82±0.54) dia , fica evidente ausência de manutenção regressiva das áreas de úlceras, em que no 21º o tamanho da área de úlcera foi maior que o observado na semana anterior (Tabela 1) (Figura 1A).

A manutenção de peso dos animais tratados com Naltrexona Orabase ficou evidente com a progressão dos pesos em todos os animais tratados com a medicação independente da dose. De forma significante as doses de 0,3 e 1 mg no 14º (119.50±1.47 e 118.20±1.40) e 21º dia (125.40±2.83 e 123.80±1.87), respectivamente, ($p<0,001$) (Tabela 1).

5.2 O uso da Naltrexona Orabase não reduziu a infiltração de polimorfonucleares nas úlceras avaliadas.

Comparando os achados dos grupos tratados com Naltrexona Orabase, placebo e controle negativo apresentaram regressão do perfil polimorfonuclear ao lodo dos dias avaliados, essa redução foi mais acentuadas nos grupos controle e placebo ($p<0,001$). Nos grupos tratados com Naltrexona Orabase essa regressão não ocorreu ($p\geq0,001$) (Tabela 1) (Figura 1C).

5.3 A Naltrexona Orabase reduziu de forma o infiltrado mononucleares nas úlceras avaliadas.

A Naltrexona Orabase na dose 0,3 mg foi eficaz na redução do infiltrado mononuclear nas úlceras avaliadas, principalmente, de forma expressiva, no 3º (21.20±9.01) e 7º (3.80±0.81) dia ($p<0,001$). Essa redução também ocorreu no 14º dia, sofrendo um discreto acréscimo ao fim do experimento, no 21º dia ($p<0,001$) (Tabela 1) (Figura 1D).

A redução gradual do infiltrado mononuclear dado na dose de 1mg foi significante entre os períodos de avaliação ($p<0,001$). Na dose de 0,1 mg observou redução de mononucleares entre o 3º (31.70±3.20) e o 7º (16.50±3.14) dia. Entretanto, seguido de alternância entre os achados do 14º (21.30±3.85) e 21º (13.50±3.14) dia, sem um padrão de queda continua ($p=0,003$). Apresentando ao fim do experimento um infiltrado mononuclear significamente

maior que comparado com as outras duas doses de Naltrexona Orabase (p<0,001) (Tabela 1) (Figura 1D).

5.4 O uso da Naltrexona Orabase influenciou na deposição de fibroblasto nas úlceras avaliadas.

A partir do 14º dia pode-se observar uma maior deposição de fibroblastos em todos os grupos tratados com Naltrexona Orabase (p=0,002), nas doses de 0,3 (309.80±23.33) e 1 (385.40±44.38) mg apresentaram maior deposição de fibroblastos no 21º dia que comparado aos demais grupos (p<0,001) . Sendo o grupo de 1mg o único que apresentou aumento gradual entre os dias avaliados sem variação entre os achados (p=0,006) (Tabela 1) (Figura 1E).

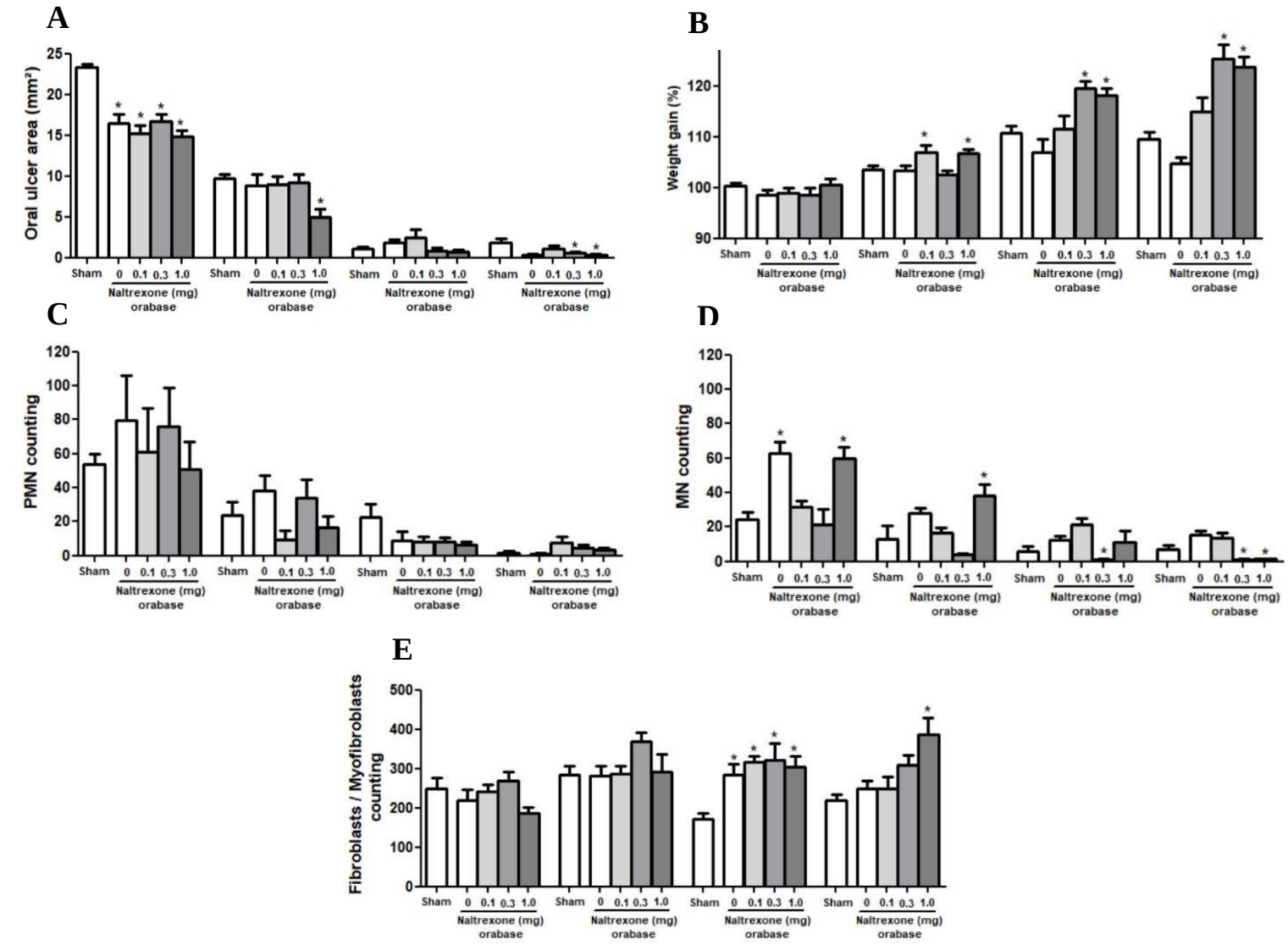
5.5 O uso da Naltrexona Orabase diminuiu escores histológicos das úlceras avaliadas.

A dose de 1 mg da Naltrexona Orabase apresentou menor infiltrado inflamatório em todos os dias quando comparado aos demais grupos, apresentando de forma significante, no 3º (2 [1-3]) (p<0,001) e 14º dia (0 [0-2]) (p=0,001). A dose de 0,3 mg apresentou menor infiltrado inflamatório a partir do 14º dia (0 [0-2]) (p=0,001), estabilizando seu resultado até o dia final de análise. Sendo a dose de 1mg a única que desde o início apresentou menor variância entre os escores histológicos (p<0,001) (Tabela 1).

Tabela 1: Perfil clínico e histomorfométrico de úlceras orais de ratos tratados diariamente com orabase contendo naltrexona em diferentes concentrações.

	Tempo (dias)				
	3	**7**	**14**	**21**	**p-Valor**
Área úlcera (mm²)					
Control	23.28±0.44^{Aa}	9.72±0.47^{Ab}	1.08±0.25^{Ac}	1.82±0.54^{Ac}	***<0.001***
0 mg	16.46±1.16^{Ba}	8.89±1.26^{Ab}	1.86±0.38^{Ac}	0.38±0.13^{Ac}	***<0.001***
0.1 mg	15.26±0.95^{Ba}	9.01±0.95^{Ab}	2.51±1.01^{Ac}	1.08±0.37^{Ac}	***<0.001***
0.3 mg	16.73±0.85^{Ba}	9.20±0.96^{Ab}	0.89±0.28^{Ac}	0.52±0.15^{Bc}	***<0.001***
1.0 mg	14.77±0.85^{Ba}	4.99±0.95^{Bb}	0.69±0.28^{Ac}	0.38±0.14^{Bc}	***<0.001***
p-Valor	***<0.001***	***0.004***	0.107	***0.005***	
Variação de peso (%)					
Control	100.30±0.53^{Aa}	103.50±0.88^{Aa}	110.70±1.41^{Ab}	109.60±1.29^{Ab}	***<0.001***
0 mg	98.48±1.09^{Aa}	103.30±1.08^{Aa}	106.80±2.64^{Ab}	104.80±1.24^{Ab}	***0.008***
0.1 mg	98.93±0.99^{Aa}	106.90±1.42^{Aa}	111.60±2.50^{Ab}	114.90±2.85^{Ab}	***<0.001***
0.3 mg	98.46±1.51^{Aa}	102.60±0.73^{Aa}	119.50±1.47^{Bb}	125.40±2.83^{Bc}	***<0.001***
1.0 mg	100.60±1.19^{Aa}	106.70±0.88^{Aa}	118.20±1.40^{Bb}	123.80±1.87^{Bc}	***<0.001***
p-Valor	0.489	0.010	***<0.001***	***<0.001***	
PMN					
Control	53.50±6.55^{Aa}	24.00±7.65^{Aa}	22.80±7.65^{Ab}	1.90±0.90^{Ac}	***<0.001***
0 mg	79.86±26.10^{Aa}	38.30±8.99^{Aa}	9.00±5.38^{Ab}	1.10±0.46^{Ac}	***<0.001***
0.1 mg	60.80±26.02^{Aa}	9.30±5.20^{Aa}	8.30±2.83^{Ab}	7.67±3.34^{Ab}	***0.021***
0.3 mg	76.00±22.61^{Aa}	33.80±10.92^{Aa}	7.90±2.65^{Ab}	4.80±1.33^{Ac}	***0.001***
1.0 mg	51.00±16.14^{Aa}	16.90±6.43^{Aa}	6.67±1.80^{Ab}	3.44±1.16^{Ac}	***0.003***
p-Valor	0.814	0.089	0.102	0.067	
MN					
Control	24.40±4.33^{Aa}	13.00±8.09^{Aa}	5.70±2.91^{Ab}	7.00±2.26^{Ab}	***0.044***
0 mg	62.80±6.76^{Ba}	28.00±2.86^{Ab}	12.10±2.45^{Bc}	15.30±2.21^{Bc}	***<0.001***
0.1 mg	31.70±3.20^{Aa}	16.50±3.14^{Aa}	21.30±3.85^{Ba}	13.50±3.14^{Bb}	***0.003***
0.3 mg	21.20±9.01^{Aa}	3.80±0.81^{Bb}	1.10±0.46^{Ab}	1.20±0.44^{Ab}	***0.009***
1.0 mg	59.60±6.76^{Ba}	38.10±6.53^{Aa}	11.33±6.67^{Bb}	1.44±0.44^{Ac}	***<0.001***
p-Valor	***<0.001***	***<0.001***	***0.005***	***<0.001***	
Fibroblastos					
Control	250.20±27.20^{Aa}	284.30±23.28^{Aa}	172.80±13.01^{Ab}	220.00±14.35^{Ab}	***0.004***
0 mg	218.40±27.33^{Aa}	281.50±25.63^{Aa}	283.00±28.63^{Aa}	248.80±19.63^{Aa}	0.245
0.1 mg	240.60±18.10^{Aa}	286.30±21.57^{Aa}	317.20±14.84^{Aa}	250.00±28.43^{Aa}	0.059
0.3 mg	268.50±24.07^{Aa}	368.00±23.96^{Aa}	322.10±43.15^{Aa}	309.80±23.33^{Ba}	0.150
1.0 mg	185.90±15.66^{Aa}	292.90±42.83^{Aa}	305.20±25.95^{Aa}	385.40±44.38^{Bb}	***0.006***
p-Valor	0.171	0.175	***0.002***	***0.001***	
Escores histológicos					
Control	3 (3-4)^{Aa}	2 (1-3)^{Aa}	1 (1-3)^{Ab}	1 (0-3)^{Ab}	***<0.001***
0 mg	4 (3-4)^{Aa}	2.5 (1-3)^{Aa}	2 (1-3)^{Ab}	0.5 (0-3)^{Ab}	***<0.001***
0.1 mg	3 (2-4)^{Aa}	2.5 (1-3)^{Aa}	1 (1-3)^{Ab}	1 (0-2)^{Ab}	***<0.001***
0.3 mg	3 (3-4)^{Aa}	3 (0-3)^{Aa}	0 (0-2)^{Bb}	0 (0-2)^{Ab}	***<0.001***
1.0 mg	2 (1-3)^{Ba}	2 (1-3)^{Aa}	0 (0-2)^{Bb}	1 (0-1)^{Ab}	***<0.001***
p-Valor	***<0.001***	0.697	***0.001***	0.705	

*p<0,05, teste ANOVA-2-way/Bonferroni (média±EPM) ou Kruskal-Wallis/Dunn [mediana (mínimo-máximo); Letras maiúsculas diferentes = diferença significante entre grupos; Letras minúsculas diferentes = diferença significante entre períodos de avaliação. PMN = polimorfonucleares; MN = mononucleares.



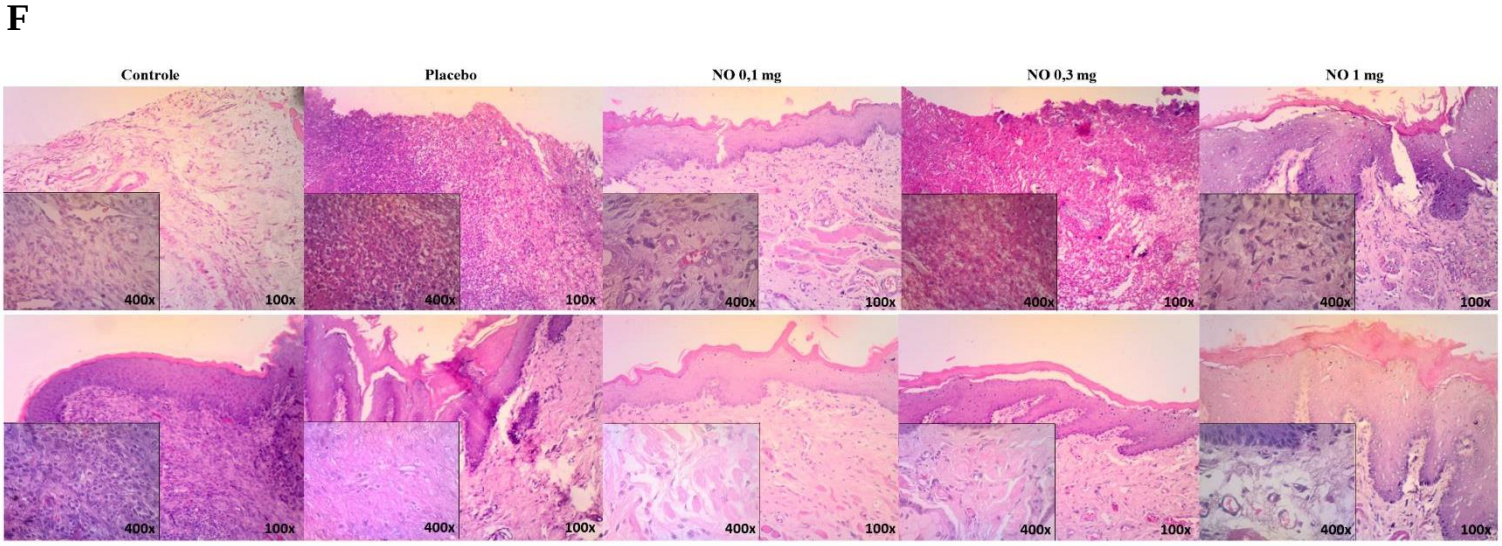


Figura 1: Perfil clínico e histomorfométrico de úlceras orais de ratos tratados diariamente com Naltrexona orabase em diferentes concentrações, placebo ou sem tratamento. Dados expressos em média ±EPM. Teste ANOVA-2-way/Bonferroni ou Kruskal-Wallis/Dunn: *p<0,05. **A:** Área úlcera (mm²). **B:** Variação de peso do animal (%). **C:** Número de células polimorfonucleares**. D:** Número de células mononucleares. **E:** Número de Fibroblastos/miofibroblastos**. F:** Fotomicrografias das úlceras orais no 3 e 21º dia em 100x, 400x.

6 DISCUSSÃO

O uso da Naltrexona foi aprovado pela FDA, primariamente, para tratamento de vicíos em drogas de abusos, sendo o álcool o mais relatado por estudos. Contrário a isso, os efeitos terapêuticos da medicação tem atingido outras esferas, a exemplo disso, temos seu uso em: manejo de dores crônicas , uso no processo de emagrecimento e cicatrização de feridas. (Kim, Fishman, 2020; O'malle *et al*., 2015; Mclaughlin *et al*., 2017).

De acordo com Diaz, *et al* (2024) a Naltrexona apresentou potencial cicatrizador de feridas em um modelo de úlcera oral, demonstrando, desta forma, outros fins da medicação administrada por via oral. Essa capacidade de atuar no processo de cicatrização de feridas é justificado pela capacidade da droga em estimular a proliferação celular através do bloqueio contínuo do OGFr (Zagon, Donahue, Mclaughlin, 2013), assumindo potencial de aumento de células epiteliais após inativação das cinases dependente de ciclina. Estudos que avaliaram a Naltrexona de forma tópica apresentaram caráter promissor (Mclaughlin *et al*., 2017), embasando a investigação desse estudo no modelo tópico de avaliação.

Este trabalho representa o primeiro estudo a investigar a efetividade da Naltrexona em formulação tópica na cicatrização de úlceras orais em animais, apresentando resultados promissores que podem embasar uma futura discussão sobre sua aplicabilidade clínica.

A Naltrexona Orabase apresentou efetividade na redução da área de úlcera dos animais avaliados, podendo observar uma diminuição em todos os grupos já no 3º dia. A dose de 1mg durante o período de avaliação seguiu tendência de redução até o fim do experimento (Figura 1AF). Isso reforça seu potencial terapêutico no processo de reparo cicatrizador e antiedematoso, desde os primeiros dias da ferida, ilustrado pela resposta positiva referente aos achados de tamanho das úlceras orais e escore histológico, sendo esse último, onde a droga, na dose de 1mg, se mostrou mais significante e com menor variância entre os dias avaliados. Ao comparar os achados com a literatura, trabalho como o de Mclaughlin *et al*. (2017), que avaliou influência da Naltrexona tópica em creme hidratante 0,03% na cicatrização de úlceras em dorso de ratos diabéticos, foi possível observar aumento da síntese de DNA, estímulo a replicação epitelial e modulação de citocinas inflamatórias, mecanismos essenciais que embasam a hipótese pro-cicatrizante e antiedematoso da medicação tópica associado ao fechamento eficaz da ferida cirúrgica.

Outro achado importante foi a manutenção dos pesos dos animais tratados com a Naltrexona Orabase, independente da dose. A alternância dos pesos entre os demais grupos, placebo e controle negativo, levam a crer que a medicação além de atuar na resposta pro-cicatrizante auxilia na melhora da resposta nociceptiva das úlceras, levando os animais ao ganho do peso ainda no processo agudo da úlcera. Esse achado pode vir a decorrer devido a capacidade da Naltrexona em realizar antagonismo nos receptores toll- like 4 (TLR-4), encontrados na

micróglia, que quando excitados levam ao aumento da nocicepção, uma vez antagonizados, apresentam modulação da resposta nociceptiva (Watkins *et al*., 2017; Myer *et al*., 2008).

As propriedades da Naltrexona ainda são objeto de discussão na literatura, alguns autores defendem sua capacidade anti-inflamatória (Younger;Parkitny;Mclain, 2014; Zagon; Mclaughlin, 2018) associada à analgesia, pela capacidade de antagonismo dos receptores opióides e não opióides, especialmente em doses baixas (Stein, 2016). No entanto, neste estudo, não foi observada modulação de polimorfonucleares. A capacidade modulatória foi melhor observada nos mononucleares (Figura 1D), onde variou significativamente ao longo dos dias avaliados. Ainda que os resultados apontem a significância da medicação na modulação mononuclear, é importante destacar que a análise histomorfométrica realizada não permite fazer distinção dos tipos celulares envolvidos, sendo um fator limitante para extrapolar os achados, carecendo assim, caracterização de celulas mononucleares.

O reparo tecidual é um processo complexo, composto por etapas que culminam a restituição final, assim, a deposição de fibroblasto constitui um importante indicativo da resposta cicatrizante. No presente estudo, foi possível observar maiores taxas de fibroblastos nos ratos tratados com Naltrexona Orabase, a partir do 7º dia, quando comparado ao controle (Figura 1E). Resultado semelhante ao descrito por Diaz, *et al* (2024), que apresentou durante a fase proliferativa (7º dia) um aumento evidente de fibroblasto tratados com naltrexona, indicando potencial da droga na resposta cicatrizante. Entretanto, é necessário análise qualitativa complementar deste fibroblasto para descrever funcionalmente os fibroblastos depositados no modelo tópico.

Por fim, os achados apresentados neste estudo são valiosos e inéditos no que toca a resposta cicatrizante promovida pelo uso tópico da Naltrexona em mucosa oral (Figura 1F), entretanto, limita entendimento completo dos mecanismo específico envolvidos no que se refere ao perfil celular e análise qualitativa das unidades celulares avaliadas. Assim, é necessário novos estudos que aprofundem a compreensão da resposta cicatrizante da Naltrexona Orabase, a fim de viabilizar, de forma segura, sua aplicação clínica como modalidade terapêutica.

7 CONCLUSÃO

A Naltrexona Orabase apresentou uma resposta pro-cicatrizante, analgésica e possível ação antiedematosa. Para que se entenda melhor sua resposta no processo cicatricial e sua modulação inflamatória na forma tópica é necessário análises celulares complementares.

REFERÊNCIAS

AKIRA, Shizuo; TAKEDA, Kiyoshi. Toll-like receptor signalling. **Nature reviews immunology**, v. 4, n. 7, p. 499-511, 2004. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nri1391. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

AL-HASANI, Ream; BRUCHAS, Michael R. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. **Anesthesiology**, v. 115, n. 6, p. 1363, 2011. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3698859/. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

CAVALCANTE, Galyléia Meneses et al. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 26, p. 227-234, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/acb/a/6J6v7ZVr69t8xsLtFgwvhpM/?format=html. Acesso em: 02 de fevereiro de 2025.

CHEN, Lin et al. Positional differences in the wound transcriptome of skin and oral mucosa. **BMC genomics**, v. 11, p. 1-15, 2010. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2164-11-471. Acesso em: 06 de janeiro de 2025.

CHEN, Lin; DIPIETRO, Luisa A. Toll-like receptor function in acute wounds. **Advances in wound care**, v. 6, n. 10, p. 344-355, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1089/wound.2017.0734. Acesso em: 06 de janeiro de 2025.

CHEN, Yulong L.; LAW, Ping Y.; LOH, Horace H. The other side of the opioid story: modulation of cell growth and survival signaling. **Current medicinal chemistry**, v. 15, n. 8, p. 772-778, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.2174/092986708783955518. Acesso em: 08 de janeiro de 2025.

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**, v. 5, n. 1, p. 23-27, 2018. Disponível em: https://journals.ekb.eg/article_7989.html. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

DHALIWAL, Armaan; GUPTA, Mohit. Physiology, opioid receptor. 2019. Disponível em: https://europepmc.org/article/nbk/nbk546642?utm_medium=email&utm_source=transaction&client=bot. Acesso em: 06 de janeiro de 2025.

DIAZ, Liova Chabot et al. Naltrexone accelerated oral traumatic ulcer healing and downregulated TLR-4/NF-kB pathway in Wistar rats. **Archives of Oral Biology**, v. 166, p. 106047, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2024.106047. Acesso em: 06 de janeiro de 2025.

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**, v. 32, n. 6, p. 358-366, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1034/j.1600-0714.2003.t01-1-00111.x. Acesso em: 08 de janeiro de 2025.

GARCIA, João Batista Santos; CARDOSO, Mirlane Guimarães de Melo; DOS-SANTOS, Maria Cristina. Los opioides y el sistema inmunológico: relevancia clínica. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 62, p. 713-718, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0034-70942012000500010. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

GLIM, Judith E. et al. Detrimental dermal wound healing: what can we learn from the oral mucosa?. **Wound Repair and Regeneration**, v. 21, n. 5, p. 648-660, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1111/wrr.12072. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

HAPA, Asli et al. Does recurrent aphthous stomatitis affect quality of life? A prospective study with 128 patients evaluating different treatment modalities. **Journal of dermatological treatment**, v. 22, n. 4, p. 215-220, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.3109/09546631003675450. Acesso em: 02 de janeiro de 2025.

HART, J. Inflammation 1: its role in the healing of acute wounds. **Journal of wound care**, v. 11, n. 6, p. 205-209, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.12968/jowc.2002.11.6.26411. Acesso em: 02 de janeiro de 2025.

HENDERSHOT, Christian S. et al. Effects of naltrexone on alcohol self-administration and

craving: meta-analysis of human laboratory studies. **Addiction biology**, v. 22, n. 6, p. 1515-1527, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1111/adb.12425. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

IMMONEN, Jessica A.; ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Featured article: selective blockade of the OGF–OGFr pathway by naltrexone accelerates fibroblast proliferation and wound healing. **Experimental Biology and Medicine**, v. 239, n. 10, p. 1300-1309, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1535370214543061. Acesso em: 02 de janeiro de 2025.

JESKE, Nathaniel A. Dynamic opioid receptor regulation in the periphery. **Molecular pharmacology**, v. 95, n. 5, p. 463-467, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1124/mol.118.114637. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

KIM, Phillip S.; FISHMAN, Michael A. Low-dose naltrexone for chronic pain: update and systemic review. **Current pain and headache reports**, v. 24, n. 10, p. 64, 2020. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s11916-020-00898-0. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

LANDÉN, Ning Xu; LI, Dongqing; STÅHLE, Mona. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 3861-3885, 2016. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/S00018-016-2268-0. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

LIN, Mingying et al. Morphine enhances LPS-induced macrophage apoptosis through a PPARγ-dependent mechanism. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 22, n. 1, p. 714, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3892/etm.2021.10146. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

LIU, Guangshuai et al. Evolutionary history of the Toll-like receptor gene family across vertebrates. **Genome biology and evolution**, v. 12, n. 1, p. 3615-3634, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1093/gbe/evz266. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

MASTRANGELO, F. et al. Low-grade chronic inflammation mediated by mast cells in

fibromyalgia. **J Biol Reg Homeos**, v. 32, p. 195-198, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Pio-Conti/publication/324772237_Low-grade_chronic_inflammation_mediated_by_mast_cells_in_fibromyalgia_role_of_IL-37/links/5b1a3e88a6fdcca67b664612/Low-grade-chronic-inflammation-mediated-by-mast-cells-in-fibromyalgia-role-of-IL-37.pdf. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

MCLAUGHLIN, Patricia J. et al. Topical naltrexone is a safe and effective alternative to standard treatment of diabetic wounds. **Advances in wound care**, v. 6, n. 9, p. 279-288, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1089/wound.2016.0725. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

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**, v. 238, n. 7, p. 733-743, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1535370213492688. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

MCLAUGHLIN, Patricia J.; ZAGON, Ian S. Duration of opioid receptor blockade determines biotherapeutic response. **Biochemical pharmacology**, v. 97, n. 3, p. 236-246, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.06.016. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

MESQUITA, Karine Cestaro. Influência do tratamento com abatacept no reparo de úlceras traumáticas em mucosa jugal de ratos. 2018. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/30378. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

MYERS, Jamie S. et al. Proinflammatory cytokines and sickness behavior: implications for depression and cancer-related symptoms. In: **Oncology nursing forum**. Oncology Nursing Society, 2008. p. 802. Disponível em: https://wwwuser.gwdguser.de/~pctgoe/DATA/Gunnar/PALLIATIV/Langeoog_2018/neuropsychiatrische%20Symptome/cytokines%20and%20sickness%20behavior%202008.pdf. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

O'MALLEY, Stephanie S. et al. Reduction of alcohol drinking in young adults by naltrexone: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial of efficacy and safety. **The**

Journal of clinical psychiatry, v. 76, n. 2, p. 17169, 2015. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25742208/. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

SANTAMARIA, Mauro Pedrine et al. 2-year assessment of tissue biostimulation with low-level laser on the outcomes of connective tissue graft in the treatment of single gingival recession: a randomized clinical trial. **Journal of periodontology**, v. 88, n. 4, p. 320-328, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1902/jop.2016.160391. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

SCULLY, Crispian; SHOTTS, Rosemary. Mouth ulcers and other causes of orofacial soreness and pain. **Bmj**, v. 321, n. 7254, p. 162-165, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1136/bmj.321.7254.162. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

SERECIGNI, Josep Guardia. Los antagonistas de los receptores opioides en el tratamiento del alcoholismo. **Adicciones**, v. 27, n. 3, p. 214-230, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.20882/adicciones.708. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

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: 20 de novembro de 2024.

STEIN, Christoph. Opioid receptors. **Annual review of medicine**, v. 67, n. 1, p. 433-451, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1146/annurev-med-062613-093100. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

SZPADERSKA, A. M.; ZUCKERMAN, J. D.; DIPIETRO, L. A. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. **Journal of dental research**, v. 82, n. 8, p. 621-626, 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1177/154405910308200810. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

TOLJAN, Karlo; VROOMAN, Bruce. Low-dose naltrexone (LDN)—review of therapeutic utilization. **Medical Sciences**, v. 6, n. 4, p. 82, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.3390/medsci6040082. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

WAGNER, Vivian Petersen et al. Influence of different energy densities of laser phototherapy on oral wound healing. **Journal of biomedical optics**, v. 18, n. 12, p. 128002-128002, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.12.128002. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

WANG, Ying et al. Opioids and opioid receptors orchestrate wound repair. **Translational Research**, v. 185, p. 13-23, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.05.003 Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

WATKINS, Linda R. et al. Glia as the "bad guys": implications for improving clinical pain control and the clinical utility of opioids. **Brain, behavior, and immunity**, v. 21, n. 2, p. 131-146, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bbi.2006.10.011. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

YOUNGER, Jarred; PARKITNY, Luke; MCLAIN, David. The use of low-dose naltrexone (LDN) as a novel anti-inflammatory treatment for chronic pain. **Clinical rheumatology**, v. 33, p. 451-459, 2014. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/S10067-014-2517-2. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

ZAGON, I. S. et al. Topical application of naltrexone facilitates reepithelialization of the cornea in diabetic rabbits. **Brain research bulletin**, v. 81, n. 2-3, p. 248-255, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2009.10.009 . Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

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**, v. 238, n. 5, p. 579-587, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1535370213488483. Acesso em: 08 de janeiro de 2025.

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**, v. 35, n. 4, p. 409-416, 1984. Disponível em: https://doi.org/10.1016/0024-3205(84)90651-9. Acesso em: 04 de fevereiro de 2025.

ZAGON, Ian S.; MCLAUGHLIN, Patricia J. Intermittent blockade of OGFr and treatment of autoimmune disorders. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 17-18, p. 1323-1330, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1535370218817746. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

ZAISS, Dietmar M.; MINUTTI, Carlos M.; KNIPPER, Johanna A. Immune-and non-immune-mediated roles of regulatory T-cells during wound healing. **Immunology**, v. 157, n. 3, p. 190-197, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1111/imm.13057. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

ZELLES, T. et al. Concise review: saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. **Journal of dental research**, v. 74, n. 12, p. 1826-1832, 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1177/00220345950740120301. Acesso em: 03 de fevereiro de 2025.

ANEXOS

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

Unichristus
Centro Universitário Christus

Of. No. 003/23

Protocolo da CEUA: 003/23

Pesquisador Responsável: THINALI SOUSA DANTAS

Título do Projeto: INFLUÊNCIAS DO USO DA NALTREXONA ORABASE NA CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERAS ORAIS EM RATOS.

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na reunião do dia 27 (vinte e sete) de abril de 2023.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:	Ratos Wistar	Número Amostral:	200

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 27/04/2024.

Fortaleza, 27 de abril de 2023.

Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora
CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE