



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE FARMÁCIA

Jainara Albuquerque de Menezes

**Estratégias de tratamento para inflamação pulmonar aguda em ratos: revisão
de escopo da literatura**

Florianópolis
2024

Jainara Albuquerque de Menezes

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Izabel Galhardo Demarchi

**Estratégias de tratamento para inflamação pulmonar aguda em ratos: revisão
de escopo da literatura**

Florianópolis

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da biblioteca Universitária da UFSC.

Albuquerque de Menezes, Jainara
Estratégias de tratamento para inflamação pulmonar
aguda em ratos: revisão de escopo da literatura / Jainara
Albuquerque de Menezes ; orientador, Izabel Galhardo
Demarchi , 2024.
61 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. ALI. 3. Agentes anti-inflamatório. 4.
Nível de evidências. 5. Ratos. I. Galhardo Demarchi ,
Izabel . II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Farmácia. III. Título.

Jainara Albuquerque de Menezes

**Estratégias de tratamento para inflamação pulmonar aguda em ratos: revisão
de escopo da literatura**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Farmacêutico e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 30 de maio de 2024.

Profa. Dr^a. Christiane Meyre da Silva Bittencourt

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a Izabel Galhardo Demarchi

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof^a. Dr^a Ana Carolina Rabello de Moraes

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof^a. Dr^a Eduarda Bramorski Mohr

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Florianópolis, 2024

"Dedico este trabalho a todos aqueles que me apoiaram e inspiraram ao longo desta jornada. À minha família e amigos pelo amor incondicional e incentivo constante e especialmente ao meu esposo Rodrigo da Silva Rosa que foi o maior alicerce nesta caminhada. Aos nossos professores e orientadores, pela paciência, conhecimento compartilhado e orientação valiosa. Cada passo dado foi impulsionado por vocês, e este trabalho é um reflexo da dedicação de todos.

AGRADECIMENTOS

Quero expressar minha gratidão a todos que fizeram parte desta jornada e contribuíram para a finalização deste trabalho de conclusão de curso.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me guiar, iluminar meu caminho e me dar força nos momentos de dificuldades. Sua presença em minha vida foi fundamental para superar os desafios e alcançar este objetivo.

À minha amada família, meus pais Acácio e Suely, meus irmãos Jackson e Jefferson e outros membros da família, agradeço por seu amor incondicional, apoio constante e por sempre acreditar em mim. Vocês foram meu porto seguro e fonte de inspiração.

Ao meu esposo Rodrigo Silva, que esteve ao meu lado, compreendendo as horas dedicadas a este projeto e me incentivando a perseverar, expresso minha profunda gratidão. Sua paciência e encorajamento foram vitais para minha determinação.

Minha querida amiga Bernadete Kuhn, por quem tenho um imenso carinho, me apoiou nesta jornada de forma tão especial. Quero expressar minha profunda gratidão. Sua presença e incentivo nesse momento crucial foram um verdadeiro presente.

À todos os meus amigos que me apoiaram nos altos e baixos dessa jornada acadêmica, agradecemos por estarem sempre presentes, compartilhando sorrisos, encorajamento e até mesmo um ombro para chorar quando necessário. Em especial, agradeço à minha amiga Carol Lima, cuja amizade e apoio foram fundamentais ao longo desse caminho. Carol, sua presença foi mais do que um simples apoio; foi um verdadeiro alicerce. Você esteve ao meu lado em todos os momentos cruciais, oferecendo não apenas ajuda prática, mas também uma amizade sincera e inabalável. Suas palavras de encorajamento, seus conselhos sábios e sua capacidade de estar presente, mesmo nas situações mais difíceis, fizeram toda a diferença.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), meu agradecimento pela oportunidade de aprendizado, pelos recursos disponibilizados e pelo ambiente acadêmico que me permitiu crescer como profissional.

A estimada professora Dr^a Izabel Galhardo, orientadora desse projeto, minha gratidão por sua orientação sábia, conselhos valiosos e dedicação em me guiar na direção certa. Sua compreensão moldou este trabalho de maneira significativa.

Também quero expressar minha gratidão a todos os professores que cruzaram meu caminho ao longo do curso, por transmitirem conhecimento e inspiração.

A todos vocês, minha mais profunda gratidão. Este trabalho não é apenas meu, mas uma celebração do apoio, amor e amizade que recebemos ao longo dessa jornada.

"O conhecimento é a luz que nos guia através das sombras da ignorância"

(Lowell, James Russell, Séc XIX)

RESUMO

A doença pulmonar aguda é uma das maiores causas de mortalidade no mundo. Nesses casos é indicado o uso de tratamentos anti-inflamatórios ou estratégias terapêuticas que reduzam a inflamação. Os estudos experimentais com ratos têm sido desenvolvidos para a busca de novos agentes flogísticos em modelos animais de doença pulmonar aguda, como o estímulo com lipopolissacarídeo (LPS) e sepse (bactérias ou outro). Na literatura, existem inúmeros estudos pré-clínicos publicados, no entanto, muitas são as lacunas encontradas nas experimentações animais, desde a padronização do modelo até a confiabilidade nos resultados desses estudos. O presente estudo teve como objetivo verificar a eficácia de tratamentos anti-inflamatórios em ratos com inflamação pulmonar aguda (ALI), e avaliar a qualidade da evidência gerada em revisões sistemáticas da literatura. Para isso, desenvolveu-se um protocolo de revisão de escopo da literatura. A pergunta científica, a estratégia de busca e de seleção dos estudos foram realizadas de acordo com o acrônimo PICOS. A análise do risco de viés nas revisões sistemáticas e meta-análises revelou lacunas metodológicas que podem comprometer a qualidade das evidências, destacando a necessidade de randomização adequada, cegamento e padronização dos métodos. Os estudos secundários foram buscados no PubMed, e a seleção dos estudos foi realizada por seis pesquisadores no Rayyan, com extração de dados em tabelas padronizadas. A revisão incluiu seis estudos pré-clínicos em ratos, focados em ALI induzidas por lipopolissacarídeo e sepse, sendo a maioria revisões sistemáticas com meta-análise. Foram investigadas diferentes intervenções anti-inflamatórias, incluindo carvacrol, tratamentos anti-inflamatórios, terapia fibrinolítica, células estromais mesenquimais (CTMs) e curcumina, utilizando várias vias de administração, com a intravenosa sendo a mais comum. Os resultados demonstraram potencial terapêutico dos agentes flogísticos estudados em reduzir mediadores inflamatórios e melhorar os resultados histológicos em modelos de ALI para cada intervenção. No entanto, a transição desses achados para ensaios clínicos humanos enfrenta desafios significativos devido às diferenças entre modelos animais e humanos. Conclui-se que, embora os tratamentos anti-inflamatórios demonstrem promessas em modelos animais, mais estudos rigorosos são necessários para garantir a confiabilidade e a aplicação clínica desses tratamentos em humanos.

Palavras-chave: Ratos; Tratamentos anti-inflamatórios; Inflamação; Revisão sistemática.

ABSTRACT

Acute lung disease is one of the leading causes of mortality worldwide. In such cases, the use of anti-inflammatory treatments or therapeutic strategies that reduce inflammation is recommended. Experimental studies with rats have been developed to search for new phlogistic agents in animal models of acute lung disease, such as lipopolysaccharide (LPS) stimulation and sepsis (bacteria or other). There are numerous published preclinical studies in the literature; however, many gaps are found in animal experimentation, ranging from model standardization to the reliability of study results. The present study aimed to verify the efficacy of anti-inflammatory treatments in rats with acute lung inflammation (ALI) and to evaluate the quality of the evidence generated in systematic literature reviews. For this, a scoping review protocol of the literature was developed. The scientific question, search strategy, and study selection were carried out according to the PICOS acronym. The risk of bias analysis in systematic reviews and meta-analyses revealed methodological gaps that could compromise the quality of the evidence, highlighting the need for proper randomization, blinding, and method standardization. Secondary studies were searched in PubMed, and study selection was performed by six researchers using Rayyan, with data extraction in standardized tables. The review included six preclinical studies in rats focused on LPS-induced and sepsis-induced ALI, most of which were systematic reviews with meta-analysis. Different anti-inflammatory interventions were investigated, including carvedilol, anti-inflammatory treatments, fibrinolytic therapy, mesenchymal stromal cells (MSCs), and curcumin, using various administration routes, with intravenous being the most common. The results demonstrated the therapeutic potential of the studied phlogistic agents in reducing inflammatory mediators and improving histological outcomes in ALI models for each intervention. However, the transition of these findings to human clinical trials faces significant challenges due to differences between animal and human models. It is concluded that, although anti-inflammatory treatments show promise in animal models, more rigorous studies are necessary to ensure the reliability and clinical application of these treatments in humans.

Keywords: Rats; Anti-inflammatory treatments; Inflammation; Systematic review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de fármacos: fases pré-clínica e clínica, e o processo de revisão e aprovação do novo medicamento...	17
Figura 2 – Esquema ilustrativo das etapas envolvidas no processo de P&D de novos fármacos.....	18
Figura 3 – História Natural de ALI/Síndrome respiratória aguda grave.....	21
Figura 4 – Bactérias Gram positivas e negativas.....	22
Figura 5 – Alvéolo normal (esquerda) e alvéolo com injúria pulmonar aguda (ALI)..	24
Figura 6 – Pirâmide da evidência científica.....	26
Figura 7 - Metodologia utilizada para a seleção dos artigos.....	32

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Características gerais e do modelo de ALI dos estudos incluídos na revisão (n=6).....	40
Quadro 2 – Características do modelo experimental de anti-inflamatório.....	41
Quadro 3 – Parâmetros estudados e resultados	44
Quadro 4 – Qualidade dos estudos e conclusões do modelo experimental de tratamentos anti-inflamatórios em ALI.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Taxonomia de ratos e camundongos.....	19
Tabela 2 – Estratégia PIOS e pergunta científica dessa revisão.....	29
Tabela 3 – Estratégia de busca piloto no PubMed.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALI	Lesão pulmonar aguda
ANVISA	Agência nacional de vigilância sanitária
ARDS	Síndrome clínica de hipoxemia e edema pulmonar bilateral
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>
BALF	<i>Bronchoalveolar lavage fluid</i>
BRISA	Iniciativa brasileira de reprodutibilidade em revisão sistemática
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal
CONEP	Comissão nacional de ética em pesquisa
CLP	Ligadura e perfuração cecal
CTMs	Células estromais mesenquimais
FAP	Ativador de plaquetas
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIM	Fator inibidor de macrófagos
GRADE	Recomendações, avaliação, desenvolvimento e avaliação
Hyp	Hidroxicloroquina
IL	Interleucina
LAPI	Laboratório de pesquisa em imunologia
LBA	Lavado broncoalveolar
LIS	Escore de lesão pulmonar
LPS	Lipopolissacarídeo
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
MSC-CM	Células estromais mesenquimais no meio condicionante
NCSCs-CM	Meio condicionado de células-tronco do sistema nervoso central
NF-kB	Factor nuclear kappa B
NIH	National health institute
NO	Óxido de nítrico
OMS	Organização mundial da saúde
PICOS	População, intervenção, comparador, resultado e estudo
PQTs	Terapias derivadas de células estromais mesenquimais
PRISMA	Itens de relatório preferidos para revisões sistemáticas e meta-análises
PROSPERO	Registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas

PubMed	Biblioteca nacional de medicina dos Estados Unidos
RS	Revisão sistemática
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SOD	Superóxido dismutase
SRAG	Síndrome respiratória aguda grave
TLR4	Receptor <i>Toll-like</i> 4
TNF	Fator de necrose tumoral
tPA	Ativador de plasminogênio do tipo tecidual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA (ALI).....	20
1.2	REVISÃO SISTEMÁTICA.....	25
2	OBJETIVOS	28
2.1	OBJETIVO GERAL.....	28
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
3	METODOLOGIA	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

Na experimentação animal, os ratos têm sido amplamente reconhecidos como um dos modelos preferenciais para a pesquisa de novos fármacos, imunobiológicos e estudos de patogenicidade de microrganismos (Smith *et al.*, 2018). Essa preferência se deve a várias características intrínsecas dos ratos que os tornam particularmente adequados para esses tipos de estudos. Dentre as vantagens desse modelo, os ratos são mamíferos de tamanho relativamente pequeno, o que os torna mais fáceis de manusear e alojar em comparação com outros animais de laboratório maiores, como porcos ou macacos (Smith *et al.*, 2018). Além disso, eles têm um ciclo de vida curto e uma taxa de reprodução rápida, permitindo que os pesquisadores conduzam estudos longitudinais e obtenham resultados em um período de tempo relativamente curto. Em suma, a utilização de ratos como modelos animais em pesquisas pré-clínicas oferece uma plataforma robusta e confiável para investigar uma ampla gama de questões relacionadas à saúde humana (Smith *et al.*, 2018).

Os modelos animais em ratos mimetizam muitas condições humanas, sendo um dos estudos pré-clínicos no desenvolvimento de novos fármacos, como por exemplo medicamentos para o tratamento do câncer e outras doenças (Atkins *et al.*, 2020; Ruggeri *et al.*, 2014). Os ensaios pré-clínicos correspondem às pesquisas conduzidas com o objetivo de descobrir ou confirmar os efeitos farmacológicos e identificar os efeitos tóxicos de fármacos, compostos, extratos, óleos essenciais, em experimentação realizadas em animais (*in vivo* e *ex vivo*), em células (*in vitro*) e *in silico* (computacional) (Anvisa, 2013) (Figura 1).

Figura 1 - Processo de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de fármacos: fases pré-clínica e clínica, e o processo de revisão e aprovação do novo medicamento



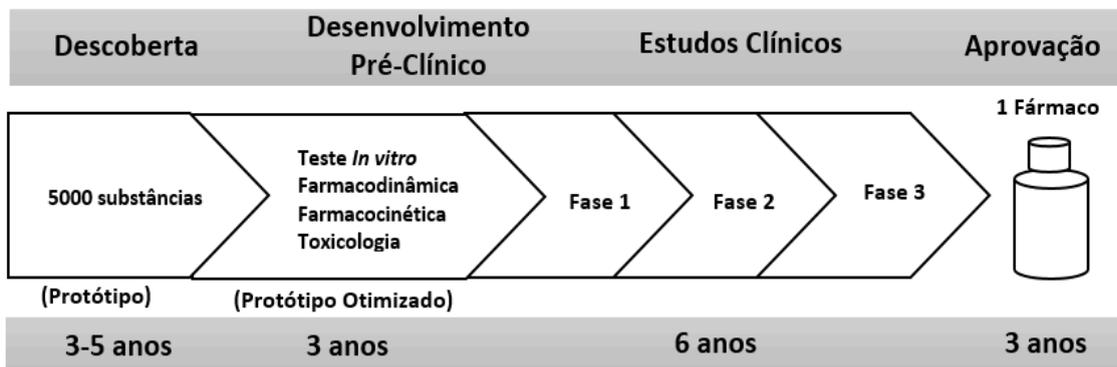
Fonte: Ferreira L. *et al.* (2020)

No Brasil, a realização de ensaios clínicos e não clínicos é regulamentada pela RDC nº 9, de 20 de fevereiro de 2015. É importante ressaltar que existem códigos de ética em experimentação animal e humana e que são regulados pelos respectivos conselhos: O Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) normatiza o uso de animais em ensino ou pesquisa científica, principalmente, no que concerne ao controle das instituições que criam, mantêm ou utilizam animais para ensino ou pesquisa científica no País. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) implementa as normas e diretrizes regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, aprovadas pelo Conselho Nacional de Saúde. Em outros países do mundo, como os Estados Unidos da América, existem órgãos federativos específicos para o controle do uso e pesquisa de fármacos, como o *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA, 2023).

Na literatura, existem inúmeros estudos pré-clínicos publicados sobre pesquisa de fármacos, no entanto, um número reduzido de substâncias chegam ao uso em seres humanos (Figura 2). Muitas são as lacunas encontradas nas

experimentações animais, como falha na randomização dos animais, padronização de métodos de intervenção e avaliação de resultados. Ainda, muitas pesquisas são descontinuadas por falta de incentivo financeiro (Costa-Lotufo, 2009).

Figura 2 - Esquema ilustrativo das etapas envolvidas no processo de P&D de novos fármacos



Fonte: Costa-Lotufo (2009)

Nas experimentações para pesquisa de novos agentes terapêuticos, o rato (*Rattus norvegicus*) é um dos modelos mais utilizados, entre eles wistar e albinus (Tabela 1), uma das razões é a similaridade genética com os seres humanos, no qual cerca de 6% de genes são ortólogos (Szpirer *et al.*, 2020) Gene ortólogo é definido como genes em espécies diferentes que surgem a partir de um único gene do ancestral comum da espécie por um processo de especiação. Os genes que divergem por especiação tendem a conservar a função, nesse caso cada descendente possui uma cópia do gene original. Os ratos podem ser utilizados como modelo de doenças para pesquisa de fármacos com diferentes alvos biológicos (Koonin, 2005; Makowski *et al.*, 1998).

Tabela 1 - Taxonomia de ratos

	Rato
Classe	Mamífera
Ordem	Rodentia
Família	Muridae
Gênero	<i>Rattus</i>
Espécie	<i>Rattus norvegicus</i>
Macho	
Peso ao nascer	6-4 g
Peso ao desmame	45-60g
Peso adulto	350-500g
Adulto jovem (idade)	8 semanas
Idade reprodutiva	8-10 semanas
Final idade reprodutiva	10-12 meses
Idade do desmame	21 dias
Fêmea	
Peso ao nascer	6-4 g
Peso ao desmame	45-60g
Peso adulto	250-350g
Adulto jovem (idade)	8 semanas
Idade reprodutiva	8 - 10 semanas
Final idade reprodutiva	10-12 meses
Ciclo estral	4-5 dias
Período da gestação	20-22 dias
Idade do desmame	21 dias

Fonte: Manual sobre Cuidados e Uso de Animais de Laboratório, 2003. Institute of Laboratory Animal Resources. Neves *et al.* (2013)

Nos estudos experimentais com ratos, diferentes modelos de inflamação têm sido desenvolvidos para a busca de novos medicamentos. Como exemplo, a doença pulmonar aguda, diabetes, lesão medular, sistema respiratório, dor e outros (Carvalho *et al.*, 2020).

Para este projeto, consideramos os estudos experimentais em ratos com inflamação pulmonar aguda para a pesquisa de tratamentos anti-inflamatórios. O tópico da pesquisa trata-se de um objeto de estudo do Laboratório de Pesquisa em Imunologia (LAPI) da UFSC (coordenado pelo professor Dr.º Eduardo Dalmarco em colaboração com a orientadora desse projeto). No LAPI, foi padronizado o modelo de inflamação pulmonar aguda em camundongos Swiss para a pesquisa de eficácia de fármacos, compostos sintéticos ou semi-sintéticos e extratos de plantas, a partir da dosagem de mediadores inflamatórios (citocinas, exsudação, óxido de nítrico,

mieloperoxidase, contagem de leucócitos e outros) e expressão gênica de receptores celulares e mediadores. Estudantes de graduação e pós-graduação e os professores têm desenvolvido a técnica no laboratório, seus projetos de pesquisas, e os resultados de eficácia dos tratamentos anti-inflamatórios têm sido promissores (Mohr *et al.*, 2019; Facchin *et al.*, 2020; Vicente *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2019).

Para camundongos, o grupo de pesquisa do LAPI já está desenvolvendo uma revisão sistemática com uma doutoranda do Programa de Pós-graduação em Farmácia (PgFAR) da UFSC. No presente momento, a nossa proposta foi realizar a síntese da evidência de estudos em ratos para o modelo de doença pulmonar aguda. Os ratos são animais capazes de desenvolver a doença pulmonar aguda após indução com agentes flogísticos (como por exemplo, o lipopolissacarídeo de bactérias Gram negativas) e mimetizam os efeitos terapêuticos encontrados em seres humanos, como por exemplo, alterações no nível de produção de citocinas, mediadores inflamatórios, recrutamento de neutrófilos e redução de edema (Nascimento *et al.*, 2019).

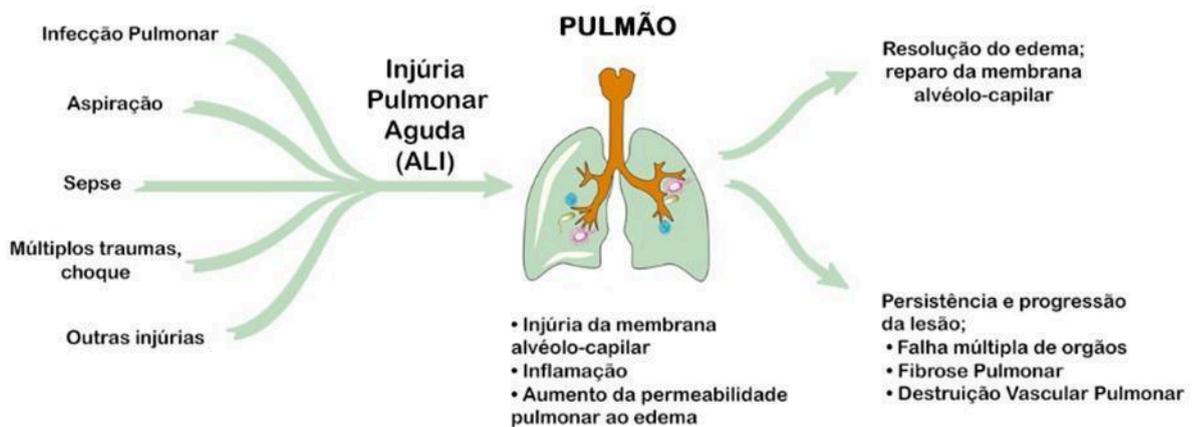
1.1 INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA (ALI)

O processo inflamatório é decorrente de um estímulo lesivo e busca a eliminação de agentes estranhos e posterior restauração da homeostase do tecido. A inflamação, ou resposta inflamatória, pode ser caracterizada como uma cascata complexa de eventos fisiológicos, os quais promovem proteção aos tecidos e órgãos do corpo. Tal cascata atua restringindo os danos no local da agressão, embora possa ter efeitos deletérios quando ocorre de forma exacerbada (Araújo *et al.*, 2013).

Sabe-se que nesse mecanismo múltiplice e necessário à nossa sobrevivência (Mitchell *et al.*, 2006) a resposta desencadeada por microorganismos e tecidos danificados não serve somente para eliminar esses agentes lesivos, como também, para a estimulação dos processos de reparo (Abbas *et al.*, 2008).

Em algumas doenças, como na inflamação pulmonar aguda (ALI, do inglês *acute lung injury*), esse processo se torna desregulado, resultando em uma resposta inflamatória persistente e patológica, causando a perda funcional do tecido. Patologicamente, ALI é um tipo de lesão pulmonar causada por diversos fatores patogênicos externos como choque, sepse, pneumonia, pancreatite, transfusão, overdose, traumas severos e cirurgias (Oliveira *et al.*, 2021) (Figura 3).

Figura 3 - História Natural de ALI/Síndrome respiratória aguda grave



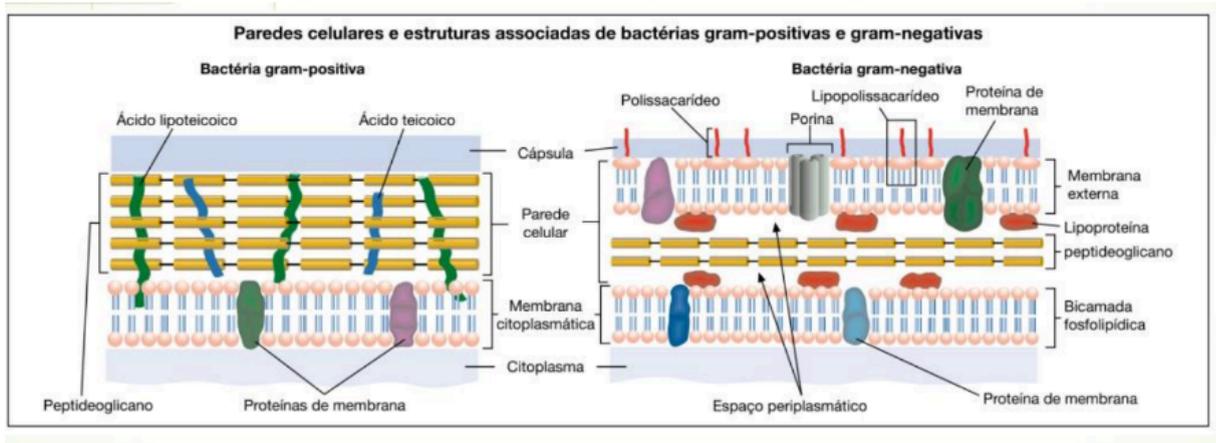
Fonte: Adaptado de Johnson *et al.*, (2010) e Kumar (2020)

A ALI é um objeto de estudo nos laboratórios de pesquisa para novos fármacos, pois consiste na principal causa de insuficiência respiratória e uma desafiadora condição clínica em pacientes hospitalizados, e ainda com reduzido arsenal terapêutico (Li *et al.*, 2021). ALI em humanos é caracterizada pela rápida e intensa resposta imune inflamatória devido à ativação de cascatas de citocinas pró-inflamatórias e mediadores oxidativos que resultam no acúmulo de neutrófilos, edema intersticial, danos no epitélio alveolar do tecido pulmonar e consequente alteração na matriz extracelular pulmonar, o que acarreta redução da capacidade funcional pulmonar (Li; *et al.*, 2021).

ALI é uma forma menos severa da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), porém tem grau de hipoxemia menos acentuado. A ALI pode evoluir para SRAG (Mokra *et al.*, 2015). ALI/SRAG são responsáveis por 10% das internações em unidades de terapia intensiva, representando mais de 3 milhões de pacientes por ano e sua mortalidade ainda apresenta uma taxa elevada, cerca de 40% (Brodie, 2018). ALI/SRAG representam altas taxas de morbidade no mundo, e por isso são grandes os esforços para a descoberta dos mecanismos fisiopatológicos e de novas abordagens farmacológicas mais eficientes para seu tratamento. Destaca-se ainda que a sua patogênese não foi completamente elucidada (Tang *et al.*, 2021). Atualmente, o tratamento deve ser baseado na causa primária, oxigenoterapia (quando necessário) e ventilação mecânica (Brochard *et al.*, 2017). O uso da dexametasona, agente anti-inflamatório, tem sido indicado em muitos quadros de doença pulmonar aguda (Schuh, *et al.*, 2002; Ahmed *et al.*, 2020). Não há um consenso no uso desse anti-inflamatório na prática clínica, sendo necessária a pesquisa de novas substâncias com esse potencial (Villar *et al.*, 2020).

A infecção por bactérias Gram negativas é a causa mais comum de ALI, sendo desencadeada pelo lipopolissacarídeo, principal componente de membrana externa destas bactérias (Li *et al.*, 2021) (Figura 4). O LPS se liga nos receptores de superfície celular, que podem regular a sinalização de receptores TLR4 e de fatores transcricionais (exemplo, o fator NF- κ B), ativando células imunes inatas e induzindo a infiltração de neutrófilos nos pulmões, aumentando a inflamação, o estresse oxidativo e as cascatas de inflamação na ALI (Kumar, 2020; Tang *et al.*, 2021).

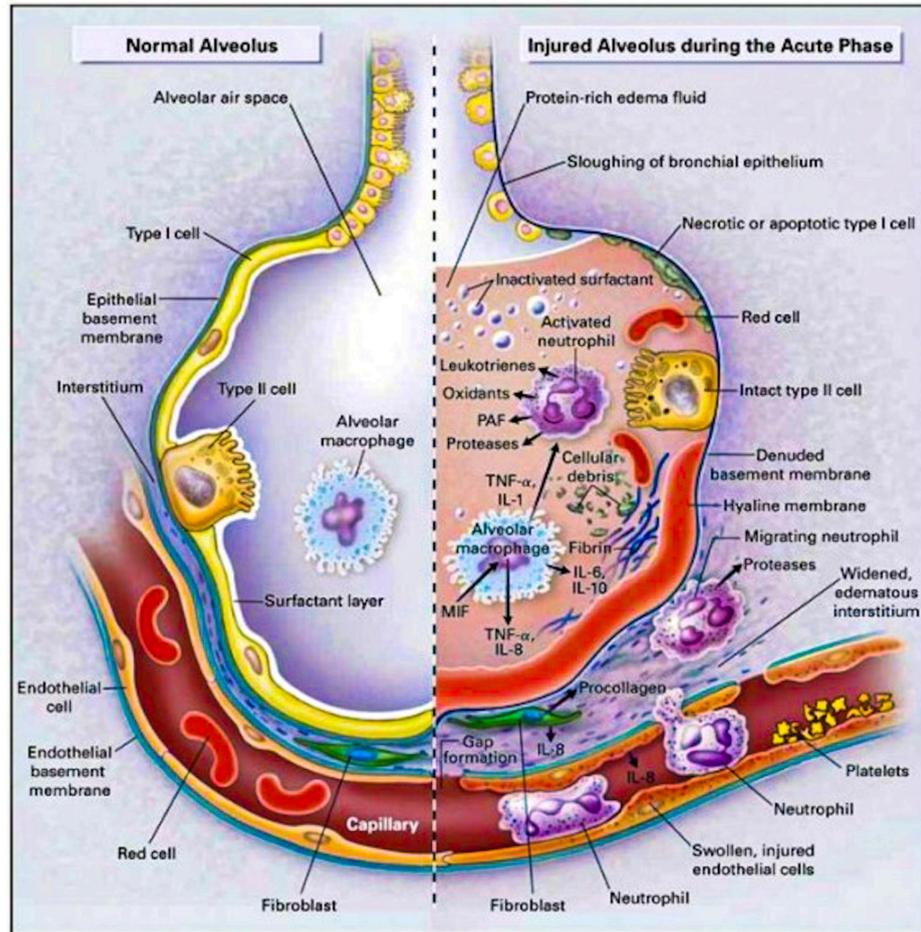
Figura 4 - Bactérias Gram positivas e negativas



Fonte: Adaptado de Tortora *et al.* (2017)

A cascata inflamatória desencadeada pela ALI envolve a ativação de células inflamatórias e liberação de mediadores (Figura 5). Níveis alterados de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas (IL- 1, IL-6 e IL-8 e o TNF- α) e anti-inflamatórias (por exemplo, IL-10 e IL-13) podem ser detectados no plasma/soro ou localmente no fluido broncoalveolar (BALF, do inglês *bronchoalveolar lavage fluid*) de humanos e animais (Mokra *et al.*, 2015; Kumar, 2020). As citocinas são produzidas pelas células imunes ativadas que se concentram nas vias aéreas, dentre essas células estão os neutrófilos que desencadeiam importantes respostas microbicidas como elevada produção de mieloperoxidase (MPO) e óxido de nítrico (NO). Embora possua ação benéfica no que diz respeito ao combate de microrganismos, a atividade contínua desta enzima está relacionada ao dano tecidual no local da inflamação, sendo que a enzima encontra-se com a sua atividade elevada em doenças como a asma (Chen *et al.*, 2020).

Figura 5 - Alvéolo normal (esquerda) e alvéolo com injúria pulmonar aguda (ALI)



Fonte: Adaptado de Johnson *et al.* (2010). Legenda: O alvéolo normal (lado esquerdo) e o alvéolo lesionado na fase aguda da lesão pulmonar aguda (ALI) e da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). Na fase aguda da síndrome (lado direito), há desprendimento das células epiteliais brônquicas e alveolares, com a formação de membranas hialinas ricas em proteínas na membrana basal desnuda. Neutrófilos são mostrados aderindo ao endotélio capilar lesionado e margeando através do interstício para o espaço aéreo, que está preenchido com líquido edematoso rico em proteínas. No espaço aéreo, um macrófago alveolar está secretando citocinas, interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-10 e fator de necrose tumoral (TNF)- α , que agem localmente para estimular quimiotaxia e ativar neutrófilos. A interleucina-1 também pode estimular a produção de matriz extracelular por fibroblastos. Neutrófilos podem liberar oxidantes, proteases, leucotrienos e outras moléculas pró-inflamatórias, como fator ativador de plaquetas (FAP). Uma série de mediadores anti-inflamatórios também está presente no ambiente alveolar, incluindo antagonistas do receptor de IL-1, receptores solúveis de TNF, autoanticorpos contra IL-8 e citocinas como IL-10 e IL-11 (não mostrados). O influxo de líquido edematoso rico em proteínas no alvéolo levou à inativação de um surfactante. (ALI) lesão pulmonar aguda; (FIM) fator inibidor de macrófagos.

Neste contexto, alguns fármacos têm mostrado eficácia anti-inflamatória em estudos pré-clínicos recentes de lesão pulmonar aguda. Os fármacos foram capazes de reduzir a inflamação nos modelos animais utilizados, inibindo cascatas inflamatórias, reduzindo danos pulmonares e melhorando a sobrevivência de animais (Li *et al.*, 2021). Diante dos inúmeros estudos primários pré-clínicos para pesquisa de tratamentos anti-inflamatórios, é fundamental a análise crítica da qualidade da evidência gerada, para subsidiar o uso na prática clínica e na condução de experimentações futuras.

Como explicitado anteriormente, os estudos primários pré-clínicos são fundamentais para a descoberta de novos fármacos, no entanto, os desenhos de um projeto de experimentação e demais etapas do processo de pesquisa podem ser enviesados comprometendo a qualidade da evidência do estudo (Aguilar *et al.*, 2005). Isto pode implicar na falta de confiabilidade nos resultados, uso indevido de substâncias, efeitos adversos graves ou fatais, e até mesmo o uso desnecessário de animais em experimentação. Uma pesquisa quando bem desenhada e definida permitirá a reprodutibilidade dos resultados, diminuindo os custos, eliminando vieses e permitindo o uso mais apropriado dos modelos animais (Aguilar *et al.*, 2005). Na indústria, bem como na academia, as decisões são baseadas em evidências, e a tradução de pesquisas pré-clínicas podem ser facilitadas pela revisão sistemática (Hooijmans *et al.*, 2014).

1.2 REVISÃO SISTEMÁTICA

A revisão sistemática (RS) é um método de pesquisa científica que reúne os resultados dos estudos primários a partir da elaboração de uma pergunta específica, utilizando métodos sistemáticos para agrupar as informações, avaliar criticamente e a qualidade da evidência (Luca Canto *et al.*, 2020) (Figura 6). Quanto melhor for o desenho do estudo, melhor a evidência e mais fortes são os resultados. Na pirâmide da pesquisa em seres humanos, tem-se diretrizes e princípios metodológicos bem definidos para a avaliação do nível de evidência publicados na literatura pelas revisões sistemáticas há alguns anos (Guyatt *et al.*, 2011 e 2013; Higgins *et al.*, 2011

e 2021; Schünemann *et al.*, 2013). No entanto, para as pesquisas em animais, as ferramentas para a avaliação do nível de evidência nas revisões sistemáticas ainda estão sendo desenvolvidas ou estão sendo pouco aplicadas (National Toxicology Program, 2015; Rooney *et al.*, 2014). A maioria dos protocolos de avaliação do nível da evidência utilizados para animais são ferramentas baseadas nos estudos em seres humanos da Cochrane (Higgins *et al.*, 2011 e 2021), e a estratégia adotada tem sido o GRADE (*Recommendations, Assessment, Development and Evaluation*) (Schünemann *et al.*, 2006)

Figura 6 - Pirâmide da evidência científica



Fonte: Nunes (2021)

Nos países da Europa como Inglaterra, Holanda, Alemanha, entre outros e nos Estados Unidos da América, as ações decisórias são baseadas em evidências, principalmente, nos centros governamentais de saúde (*National Health Institute, NIH*). Desde 2003, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a utilização de RS (preferencialmente no modelo Cochrane), como parte do processo de produção das suas publicações (OMS, 2003). Em 2007, pesquisadores observaram a escassa utilização das RS para os protocolos e diretrizes clínicas e a OMS publicou um novo manual (Oxman *et al.*, 2007). Não alcançando o impacto desejado, em 2012, houve uma atualização deste manual que foi instituído internacionalmente (World, 2014). Em 2015, no Brasil, o Ministério da Saúde incorporou as recomendações para a utilização da análise baseada em evidência para a elaboração dos documentos clínicos, à Lei 12.401/2011 que altera a Lei Orgânica da Saúde 8.080/1990 que regulamenta o Sistema Único de Saúde do país (Nacional, 2015). Nesse documento, as diretrizes internacionais foram utilizadas como referência, no entanto, não se têm disponível sobre a utilização de estudos pré-clínicos primários e secundários para a prática clínica e experimental.

Em 2012, alguns pesquisadores brasileiros estabeleceram parceria com instituições internacionais a fim de ampliar a utilização da saúde baseada em evidência e a experimentação animal. Essa iniciativa é conhecida como BRISA (Iniciativa brasileira de reprodutibilidade em revisão sistemática pré-clínica e metanálise), que visa incentivar a aplicação de revisões sistemáticas e metanálises para a contribuição científica brasileira. (Brisa, 2018). Nesse sentido, as revisões sistemáticas com estudo de animais fornecem evidências do impacto dos resultados experimentais sobre os futuros ensaios clínicos, e ainda são consideradas um *driver* para melhorar a validade interna, a qualidade dos relatórios e reduzir o viés de publicação dos estudos experimentais (Silva, 2012).

Por isso, neste estudo mapeamos as publicações em ratos com modelos de ALI para a pesquisa de anti-inflamatórios a partir de uma revisão de escopo. Uma revisão de escopo (*scoping study* ou *scoping review*) é definida como um tipo de estudo que busca explorar os principais conceitos do tema em questão, averiguar a dimensão, o alcance e a natureza do estudo, condensando e publicando os

resultados, dessa forma apontando as lacunas de pesquisas existentes (Sanches *et al.*, 2018).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a eficácia de tratamentos anti-inflamatórios em ratos com inflamação pulmonar aguda (ALI) e a qualidade da evidência gerada em revisões sistemáticas da literatura.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar as intervenções ou estratégias anti-inflamatórias promissoras para o tratamento de ALI em modelos de ratos;
2. Descrever os principais alvos terapêuticos estudados;
3. Relatar os resultados dos estudos secundários;
4. Identificar as ferramentas de avaliação do risco de viés dos estudos utilizados na revisão sistemática;
5. Destacar as principais lacunas encontradas na qualidade dos estudos experimentais incluídos nas revisões sistemáticas.

3 METODOLOGIA

Este estudo trata-se de uma revisão de escopo da literatura de estudos secundários sobre eficácia de fármacos para ALI induzida em ratos. Além disso, este trabalho faz parte do projeto de Pesquisa Institucional “*Overview de Revisões Sistemáticas sobre estudos experimentais utilizando modelos animais e desenvolvimento de checklists para avaliação crítica e recomendações*”, coordenado pela professora Dr.^a Izabel G. Demarchi (registro no SIGPEX n°202116780).

O protocolo deste estudo seguiu as recomendações *PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR)* (Tricco *et al.*, 2018), e não foi registrado. A pergunta científica foi elaborada de acordo com o acrônimo PICOS (P: população/*population*; I: intervenção/*intervention*; C: comparador/*comparator*; O: resultado/*outcome*; S: tipo de estudo/*study design*) (Tabela 2).

Tabela 2 - Estratégia PICOS e pergunta científica dessa revisão

PICOS	Critério de inclusão	Critério de exclusão
População	Ratos com ALI (induzida com LPS, sepse com bactéria ou outros agentes patológicos)	Camundongos, células, humanos, <i>in silico</i> , outros organismos vivos sem ALI
Intervenção	Experimentação animal com produtos naturais, sintéticos ou semi-sintéticos ou outros	Não se trata de experimentação em modelo animal intervencionista Ecotoxicological studies
Comparador	Não se aplica	Não se aplica
Resultado	Produção de mediadores inflamatórios (exemplo citocinas, reativos de oxigênio e outras espécies associadas a estresse oxidativo) Nível/escore da lesão pulmonar (exemplo: resultados histológicos e outros)	Efeito extrapulmonar, efeito crônico. Não realizou análise crítica da qualidade do estudo (relatório ou metodologia)
	Qualidade do relatório e da metodologia do estudo	

Tipo de estudo	Revisão sistemática com ou sem meta-análise	Outros tipos de revisões, manuais, relatos ou série de casos, estudos observacionais; estudos não experimentais
Perguntas científicas:	<p>1) O que se sabe sobre eficácia de tratamentos anti-inflamatórios em ratos com inflamação pulmonar aguda?</p> <p>2) Como está sendo avaliado e os resultados da análise do risco de viés das revisões sistemáticas e meta-análises de estudos em modelos animais de rato?</p>	

Nessa revisão, incluímos os estudos secundários buscados na base de dados eletrônica do PubMed (NIH dos EUA, Medline) utilizando os descritores exatos e termos livres combinados com operadores booleanos (OR, AND) (Tabela 2). A seleção dos estudos foi realizada por um autor, desde que atenda aos critérios de inclusão e exclusão (Tabela 1). Foram recuperados artigos completos sobre o tema, e professores experientes na experimentação animal foram consultados para indicação de referências bibliográficas sobre o assunto. Houve restrição dos idiomas português e inglês.

Tabela 3 - Estratégia de busca piloto no PubMed

Busca (05/09/2023)	Pubmed/Medline
Bloco 1 (População)	("Rats"[Mesh] OR "Rodentia"[Mesh] OR rodents OR rattus OR rattus norvegicus OR "Models, Animal"[Mesh])
AND Bloco 2 (Intervenção)	("Anti-Inflammatory Agents"[Mesh] OR "Acute Lung injury"[Mesh])
AND Bloco 3 (Tipo resultado)	("Treatment Outcome"[Mesh] OR "Therapeutic Uses"[Mesh] OR "Pharmaceutical Preparations"[Mesh])

AND ("Systematic review" OR "Meta-analysis")
Bloco 4
(Tipo
estudo)

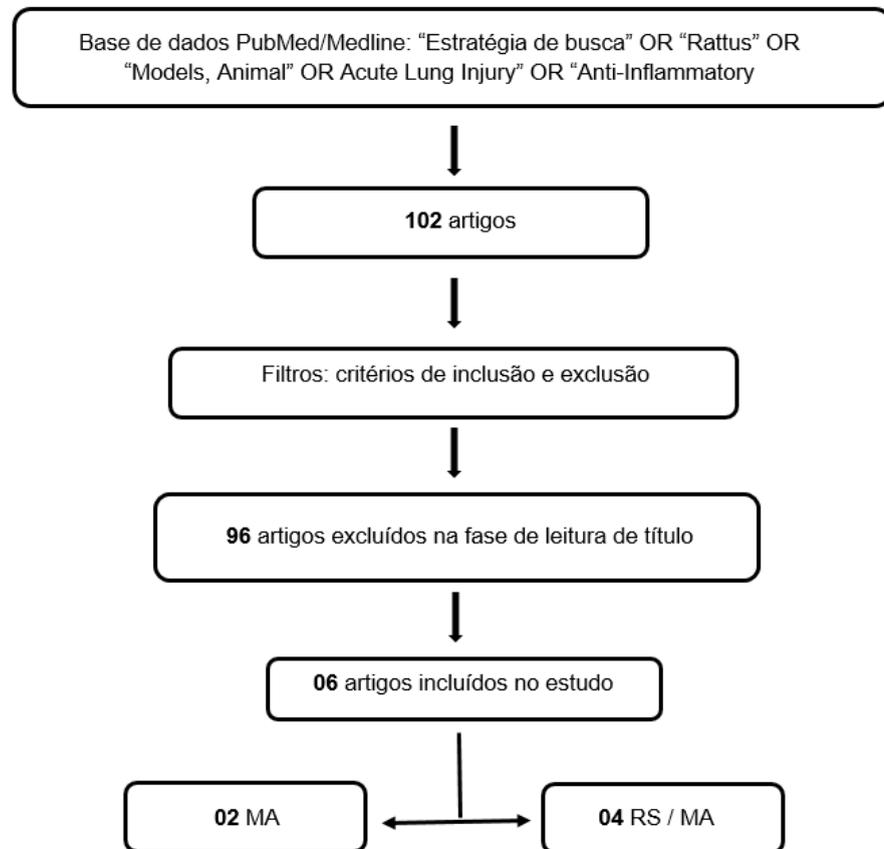
Combinação n= 102
Total de
referências

Características dos estudos que foram extraídas pelos autores dessa revisão: ano, autor, objetivo, registro do protocolo na PROSPERO, bases de dados consultadas, número de estudos incluídos na revisão, nome do fármaco, dose, veículo, forma e via de administração, número de animais envolvidos na experimentação (idade, sexo), tempo de tratamento, métodos para avaliar eficácia terapêutica, resultados encontrados; limitações e conclusão. Os dados foram extraídos para uma tabela padronizada do Excel. Os resultados foram sintetizados de forma narrativa contextualizando a intervenção e os resultados obtidos. Também foi fornecida uma síntese sobre o risco de viés dos estudos primários incluídos nas revisões sistemáticas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram recuperados 102 estudos como resultado à pesquisa nas bases de dados Medline/PubMed. Em seguida, de acordo com a leitura dos títulos e resumos, foram excluídos 96 artigos, conforme a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. As razões de exclusão foram a população, por não ser rato ou não ser modelo de ALI (89); tipo de publicação (3), intervenção (3), idioma (1). Um total de seis estudos foram incluídos nesta revisão (Carvalho *et al.*, 2020; Eichacker *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2018; McIntyre *et al.*, 2016; Vieira *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2020) (Quadro1). O fluxograma da seleção e aplicação dos critérios está apresentado na (Figura 7). Os resultados foram apresentados na forma de quadros e se encontram no final desta seção.

Figura 7 - Resultado utilizada para a seleção dos artigos



Fonte: Elaborada pela autora

Nos seis estudos de revisão sistemática analisados, a maioria foi constituída por revisões sistemáticas com meta-análise (4/6), incluindo os trabalhos de Carvalho *et al.* (2020), Liu *et al.* (2018), McIntyre *et al.* (2016) e Vieira *et al.* (2023) (Quadro 1).

Os artigos selecionados discutiram estudos pré-clínicos realizados em ratos, sendo um em ALI/sepse (Carvalho *et al.*, 2020), dois em sepse (Eichacker *et al.*, 2002; Vieira *et al.*, 2023) e três em ALI (Liu *et al.*, 2018 ; McIntyre *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020). As espécies de ratos utilizadas nestes estudos foram Sprague-Dawley e Wistar albino (Quadro 1).

Os estudos pré-clínicos selecionados discutiram características de diferentes intervenções, incluindo carvacrol (Carvalho *et al.*, 2020), fármacos não esteroidais e esteroidais (Eichacker *et al.*, 2002), terapia fibrinolítica (Liu *et al.*, 2018;), células estromais mesenquimais (CTMs) (McIntyre *et al.*, 2016) e (Wang *et al.*, 2020) e curcumina (Vieira *et al.*, 2023) (Quadro 2). As vias de administração utilizadas nos

estudos foram: oral, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intrapleural e nebulização, sendo a intravenosa a mais utilizada (Quadro 2).

Ao comparar os parâmetros avaliados por Carvalho *et al.*, (2020), Eichacker *et al.*, (2002), Liu *et al.*, (2018), McIntyre *et al.*, (2016), Wang *et al.*, (2020) e Vieira *et al.*, (2023), é possível observar uma diversidade de enfoques na investigação da inflamação pulmonar e nas estratégias terapêuticas adotadas.

Carvalho *et al.* (2020) ofereceram uma visão ampla sobre os efeitos flogísticos do carvacrol para ALI e sepse em ratos (Quadro 1). Incluíram 3 estudos pré-clínicos, e adicionaram as doses de 73 mg/kg e 80 mg/kg administrados de diferentes formas (nebulização, via oral e intraperitoneal) (Quadro 2). Foram avaliados uma grande variedade de marcadores de inflamação, que incluíram análise histológica, medição de enzimas antioxidantes e inflamatórias, além de avaliação hematológica (Quadro 3). Houve reversão na produção de TNF- α , IL-6, e IL-1 β . Ainda, lipossomas contendo carvacrol minimizam o estresse oxidativo e os danos histológicos gerados pela inalação de fumaça em roedores. O tratamento com carvacrol reduziu a sepse devido aos seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. Em ALI, os efeitos antioxidantes do carvacrol o tornam um produto eficaz na prevenção e reversão de danos no tecido pulmonar (Quadro 4,5).

Carvacrol é um monoterpene fenólico isopropílico de ocorrência natural isolado de orégano, tomilho, erva-pimenta, manjerona e bergamota selvagem. Possui atividades farmacológicas, incluindo anticâncer, antígeno-tóxico e anti-inflamatório associado a propriedades antioxidantes (Singh *et al.*, 2023). O carvacrol já tem sido testado em ensaios clínicos em seres humanos para algumas condições como: cáries dentais (trial ISRCTN 27780232, Cochrane) (Tadakamadla *et al.*, 2021), doenças respiratórias como as pulmonares (Khazdair *et al.*, 2019), dores (Nancy *et al.*, 2024), asma (até de Fase II) (Alavinezhad *et al.*, 2018; Ghorani *et al.*, 2021), SARS-CoV2 (OJEDA *et al.*, 2022), entre outros. A segurança e tolerabilidade do carvacrol também foi investigada em indivíduos saudáveis em um estudo de fase 1 (Ghorani *et al.*, 2021).

Corroborando com os resultados dos estudos pré-clínicos, os estudos em seres humanos também evidenciaram redução dos mediadores inflamatórios e mostraram efeito antioxidante, sendo promissor para pacientes asmáticos e com injúria pulmonar, assim como, apresentou boa tolerabilidade e segurança em

peças saudáveis. Sendo assim, trata-se de uma substância com grande potencial para ser utilizada em doenças inflamatórias.

Eichacker *et al.* (2002) investigaram a relação entre risco de morte e efeito de tratamentos anti-inflamatórios na sepse (Quadro 1). Para isso, reuniram 22 estudos pré-clínicos, com a utilização de diferentes bactérias para indução da sepse em ratos (Quadro 1). Foram testados diferentes fármacos não esteroidais e esteroidais, como antagonista do receptor solúvel de TNF P-80, e inibidores de tirosina quinase e outros, pela via intraperitoneal, endovenosa e intra brônquica (Quadro 2). Os estudos primários investigaram a resposta inflamatória mediada por citocinas e a atividade de enzimas envolvidas no processo (Quadro 3). No geral, os animais apresentaram taxas de mortalidade mais altas do que os humanos para os agentes investigados (mediana [25°-75° quartil] 88% [79 -96%] versus 39% [32 -43%], $p = 0,0001$) (Quadro 4). Independentemente do tipo de desafio, momento ou dose de tratamento, espécie estudada ou duração da observação, a razão de probabilidade de sobrevivência com todos os tratamentos anti-inflamatórios específicos de mediador diminuiu à medida que o risco de morte (taxa de mortalidade) diminuiu ($p = 0,0001$). Notavelmente, os anticorpos anti-TNF (P-80 receptor de TNF-solúvel e tirstostina AG556), foram considerados significativamente prejudiciais em dois estudos (Quadro 4). Os autores concluíram que em uma análise retrospectiva de ensaios clínicos e pré-clínicos e estudos confirmatórios em animais, descobrimos que o risco de morte alterou a eficácia dos tratamentos anti-inflamatórios durante a sepse (Eichacker *et al.*, 2002). Essa relação fornece uma explicação para os resultados contraditórios observados com essa abordagem terapêutica em ensaios clínicos pré-clínicos e clínicos de sepse na última década. Os tratamentos anti-inflamatórios tiveram maiores efeitos do tratamento em modelos animais em comparação com os ensaios clínicos, pois os estudos pré-clínicos foram feitos com riscos significativamente maiores de morte. (Quadro 4).

Na ALI, o TNF- α é um dos mediadores mais importantes para o desenvolvimento da lesão, sendo assim, se torna um alvo interessante para as pesquisas científicas com imunomoduladores. Embora esta revisão em estudo pré-clínico evidenciou alto risco de morte com o uso de anti-TNF para sepse, os imunomoduladores anti-TNF já estão sendo utilizados para o tratamento de doenças autoimunes. O Infliximabe, Golimumabe, Adalimumabe, Certolizumabe-pegol e

Etanercepte são indicados para doenças como artrite reumatóide, artrite psoriásica, artrite idiopática infantil, espondilite anquilosante, crohn, retocolite ulcerativa e uveítes (Moraes JC., 2021) (Kayser C. *et al.*, 2007).

Liu *et al.* (2018) avaliaram os efeitos da terapia fibrinolítica (tPA) em ALI (Quadro 1). Ao todo foram incluídos 22 estudos pré-clínicos, que induziram ALI por LPS, bactéria *pseudomonas/ P. aeruginosa* ou outros (Quadro 1). A maioria testou ativador de plasminogênio do tipo tecidual (tPA) em 250 mg por diferentes vias, a maioria nebulização, mas também foi testada via intraperitoneal e intravenosa (Quadro 2). Foi também testada plasmina a 0,5 mg, mas a via não foi reportada pelos estudos primários (Quadro 2). Vários parâmetros de inflamação foram investigados e resumidos no (Quadro 3). A terapia fibrinolítica restaurou a fibrinólise disfuncional e a coagulação na ALI (Liu *et al.*, 2018). Esse benefício foi independente das vias e regimes fibrinolíticos. A deposição de fibrina alveolar atraiu neutrófilos e fibroblastos, e diminuiu a depuração de líquido do edema pulmonar (Quadro 3). Os resultados identificam que a melhor via é o parto intratraqueal, e o regime mais eficaz é o tPA. Terapias fibrinolíticas aprovadas pelo FDA para doenças cardiovasculares e pleurais, incluindo hemorragia intraventricular hipertensiva, derrames pleurais loculados, derrames parapneumônicos, empiema pleural, derrames malignos, hemotórax e infarto do miocárdio, demonstram a tolerância e a viabilidade desse tratamento. Concluiu-se que a terapia fibrinolítica pode ser uma estratégia farmacêutica eficaz para ALI em modelos animais (Liu *et al.*, 2018) (Quadro 4).

McIntyre *et al.* (2016) examinaram o potencial terapêutico das CTMs em modelos de ALI (Quadro 1). Para isso, foram reunidos 33 estudos pré-clínicos, que induziram a ALI por LPS (Quadro 1). Para o tratamento a maioria dos experimentos testou CTMs singênico (54%), xenogênicas (37%), alogênico (9%) e autólogo (3%) em diferentes vias de administração intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intrapleural e intratraqueal. (Quadro 2). As CTMs foram mais frequentemente administradas em dose única e por via intravenosa. (Quadro 2). Examinaram uma variedade de marcadores inflamatórios e de lesão tecidual para avaliar a eficácia dessas células na modulação da inflamação pulmonar (Quadro 3). Os parâmetros mais utilizados nos estudos incluem a razão peso úmido/seco do pulmão, escore histológico pulmonar padronizado, presença de neutrófilos no espaço intersticial, e

mediadores inflamatórios como citocinas no LBA (Líquido de lavagem broncoalveolar). Segundo (McIntyre *et al.*, 2016), os resultados da meta-análise indicam que as células-tronco mesenquimais (CTMs) reduzem significativamente as chances de morte em modelos animais de lesão pulmonar aguda (ALI), embora a qualidade do relato dos estudos tenha sido subótima, limitando a força das conclusões (Quadro 3). Em conclusão, as células-tronco mesenquimais (CTMs) parecem reduzir significativamente a mortalidade em modelos pré-clínicos de lesão pulmonar aguda (ALI) e em diversos subgrupos. A revisão indica que essa terapia tem o potencial de se tornar um tratamento futuro para diferentes tipos de ALI e justifica sua avaliação em ensaios clínicos em humanos. No entanto, identificou-se que elementos de relato, especialmente relacionados aos domínios de risco de viés e à caracterização das CTMs, eram inadequados. Melhorias nesses aspectos poderiam ser alcançadas com a adoção de diretrizes de relato pré-clínico, como o ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) (Quadro 4).

Wang *et al.* (2020) realizaram uma meta-análise que examinou a eficácia das terapias derivada de CTM (PQTs) no tratamento da lesão pulmonar aguda (ALI) e da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) em modelos animais (Quadro 1). Um total de 17 estudos que compararam a PQT com o grupo controle ALI foram incluídos em nosso estudo. (Quadro 1). A administração intratraqueal de LPS ou *E. coli* para induzir ALI foi a abordagem mais popular entre os estudos incluídos. (Quadro 1,2). Foram avaliados uma grande variedade de marcadores de inflamação dentre eles estão vesículas extracelulares, microvesículas, exossomos derivados de CTM, células estromais mesenquimais no meio condicionante (MSC-CM) e (NCSCs-CM) (Quadro 2). No estudo realizaram metanálises para diversos parâmetros, incluindo escore de lesão pulmonar (LIS), sobrevida, contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar, níveis de proteína no lavado broncoalveolar, relação P/D e mediadores inflamatórios (Quadro 3). Além disso, o estudo revelou que a PQT pode diminuir os níveis de fatores inflamatórios como IL-1, IL-6 e TFN- α enquanto aumenta o nível de IL-10, um fator anti-inflamatório bem conhecido (Quadro 3). A PQT reduziu a lesão pulmonar e melhorou a sobrevida em modelos animais de ALI/SDRA ao melhorar a permeabilidade pulmonar, reduziu o infiltrado de células inflamatórias, diminuiu os mediadores pró-inflamatórios e aumentou os

mediadores anti-inflamatórios. Contudo, mais estudos em animais maiores e testes em humanos são necessários (Quadro 4).

Vieira *et al.* (2023) reportaram que os estudos abordaram sistematicamente as evidências sobre o impacto do efeito anti-inflamatório da curcumina na sepse (Quadro 1). Foram incluídos 12 estudos que utilizaram LPS para induzir sepse em 33,33% dos casos e ligadura e perfuração cecal (CLP) em 66,67% dos estudos selecionados (Quadro 1). A curcumina foi administrada por injeção intraperitoneal na maioria dos estudos, em doses variando entre 10 mg/kg a 200 mg/kg (Quadro 2). Os parâmetros mais utilizados nos estudos para avaliar a eficácia de tratamentos contra a sepse incluem a relação pulmão molhado/peso seco, o lavado broncoalveolar (LBA), a atividade de MPO, MDA e SOD, os níveis de citocinas inflamatórias (como TNF- α e IL-1 β), o exame histopatológico, a função cardíaca por ultrassom e os níveis de biomarcadores cardíacos (como cTnl), e o conteúdo de hidroxiprolina (Hyp) para avaliar fibrose pulmonar (Quadro 3). Os resultados dos estudos indicam que a curcumina exerce efeito anti-inflamatório ao inibir a geração de espécies reativas de oxigênio, regulando a produção de citocinas e bloqueando o processo de oxidação, o que reduz a inflamação. Além disso, a curcumina diminui a infiltração de células inflamatórias em diversos órgãos e tecidos, como pulmões, fígado, rins, cérebro, coração, baço e intestino. Essa ação anti-inflamatória da curcumina promove a melhora da sobrevivência, com taxas de 90% nos grupos tratados com curcumina em comparação a 40% nos grupos de controle (Quadro 3).

Os estudos analisados demonstraram que a curcumina possui efeitos positivos ao inibir fatores oxidativos e inflamatórios através da modulação da resposta imune. No entanto, mais pesquisas são necessárias para entender os mecanismos pelos quais a curcumina regula e neutraliza compostos antioxidantes e inflamatórios, além de sua proteção tecidual em diferentes estágios da sepse e suas complicações, visando investigar seu efeito em humanos (Quadro 4). A curcumina é um polifenol amarelo derivado do rizoma da *Curcuma* com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes cientificamente comprovadas, condição que permitiu seu uso como ferramenta no tratamento da sepse. A curcumina já foi avaliada em ensaios clínicos com seres humanos para várias condições, tais como: enfisema pulmonar (Suzuki *et al.*, 2009), câncer de bexiga (Rutz *et al.*, 2020), prostatite crônica/síndrome da dor pélvica crônica tipo III (Morgia G. *et al.*, 2024),

cardiomiopatia (Chen *et al.*, 2023), entre outros. A curcumina tem sido objeto de estudos clínicos em seres humanos devido às suas potenciais propriedades terapêuticas. Esses estudos têm explorado uma variedade de condições de saúde, incluindo distúrbios inflamatórios, doenças neurodegenerativas, câncer, doenças cardiovasculares, entre outras. Os ensaios clínicos buscam entender melhor a eficácia da curcumina, sua segurança e os possíveis mecanismos de ação em humanos.

Os estudos revisados pelos seis autores foram submetidos a uma avaliação detalhada do risco de viés utilizando ferramentas como a Cochrane Risk of Bias tool e a SYRCLE's risk of bias (RoB) tool. Os principais vieses identificados incluíram falta de randomização adequada, ausência de cegamento e variabilidade na padronização dos métodos de intervenção e avaliação dos resultados. Esses desafios são críticos para a interpretação correta dos resultados e para garantir a robustez dos achados. A aplicação dessas ferramentas robustas destacou a necessidade de diretrizes mais específicas e rigorosas para estudos pré-clínicos em animais, visando melhorar a qualidade e a reprodutibilidade dos resultados. Esse enfoque é essencial para mitigar vieses potenciais e fortalecer a confiabilidade das conclusões obtidas em pesquisas pré-clínicas (Quadro 4).

Quadro 1. Características gerais e do modelo de ALI dos estudos incluídos na revisão (n=06)

Referência (Autor, ano)	Tipo de Estudo	Número de estudos primários incluídos	Objetivo	Modelo de ALI (LPS/bactéria/vírus e espécie de animal)
Carvalho <i>et al.</i> , 2020	RS e MA	12 estudos pré-clínicos 3 ALI em rato 1 Sepse em rato	Avaliar atividades anti-inflamatórias e antioxidantes do carvacrol em distúrbios respiratórios.	3 ALI em ratos (NR) 1 Sepse em ratos
Eichacker <i>et al.</i> , 2002	MA	95 estudos pré-clínicos 22 sepse em animais	Examinar a relação entre risco de morte e efeito de tratamentos anti-inflamatórios na sepse.	Bactérias: <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , endotoxina <i>E. coli</i> ; ratos (Sprague-Dawley) (n=1.296)
Liu <i>et al.</i> , 2018	RS e MA	22 estudos pré-clínicos 10 ALI em rato	Avaliar efeitos da terapia fibrinolítica em ALI.	1 estudos: (ALI):LPS ratos (NR) 2 estudos: (ALI):bactéria(<i>pseudomonas/P. aeruginosa</i>) ratos (NR) 7 estudos: (ALI):outros ratos (NR)
McIntyre <i>et al.</i> , 2016	RS e MA	70 estudos pré-clínicos 33 Ratos	Examinar a eficácia de células estromais mesenquimais em comparação com grupos controle em modelos de ALI.	9 estudos (ALI): LPS ratos: 31 (Sprague-Dawley) e 2 (Wistar albino)
Vieira <i>et al.</i> , 2023	RS e MA	12 estudos pré-clínicos 7 Sepse em rato	Descrever efeitos antiinflamatórios da curcumina na sepse.	2 (Sepse): LPS em (Ratos) albinos suíços/Wistar albino. 5 (Sepse): CLP em (ratos): Sprague-Dawley e albinos suíços.
Wang <i>et al.</i> , 2020	MA	17 estudos pré-clínicos 8 ALI em rato	Investigar eficácia de terapias derivadas de CTMs em ALI/SDRA.	6 estudos:(ALI): Outros Ratos (Sprague-Dawley SD) 2 estudos: (ALI): <i>E. coli</i> Ratos(Sprague-Dawley-SD)

Definição de abreviaturas: ALI= inflamação pulmonar aguda; CLP= ligadura e perfuração cecal; CTMs= células estromais mesenquimais; FLP: ligadura e punção cecal; LPS: Lipopolissacarídeos; SDRA= Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo.

Quadro 2- Características do modelo experimental de anti-inflamatório

Referência (Autor, ano)	Agente anti-inflamatório	Via de administração (tempo de tratamento)
Carvalho <i>et al.</i> , 2020	ALI 1) Önal <i>et al.</i> (2011) - carvacrol (73 mg/kg) 2) Sen <i>et al.</i> (2014) - carvacrol (73 mg/kg) 3) de Carvalho <i>et al.</i> (2019) - carvacrol encapsulado em nanopartícula lipídica sólida Sepses 1) Ozer <i>et al.</i> (2017) - carvacrol (80 mg/kg)	ALI 1) intraperitoneal (1 dia) 2) oral (1 dia) 3) nebulização (1 dia) Sepses 1) oral (7 dias)
Eichacker <i>et al.</i> , 2002	Sepses antiinflamatório não esteroidais e esteroidais (anticorpos anti-TNF , P-55 e receptor solúvel P-80 TNF, TNF 75, antagonista de receptor de interleucina 1, antagonista de receptor de fator de ativação plaquetária, anti-bradiquinina, e antiprostaglandina) solução salina normal (20 mL)	Sepses via intravenosa (3 dias; 24h) intraperitoneal (imediatamente e 6h) Todos os animais receberam antibióticos diariamente por 3 dias. via intravenosa ou intra brônquica com doses variáveis de <i>Escherichia coli</i> 0111:B4, <i>Staphylococcus aureus</i> (0,25 a 100 × 10 ⁹ UFC · Kg ⁻¹ peso corporal), ou endotoxina E. coli 0111:B4 (0,75 a 2 µg · kg ⁻¹)
Liu <i>et al.</i> , 2018	ALI 1) Choi <i>et al.</i> (2007) - rtPA (250 mg) 2) Choi <i>et al.</i> (2007) - rtPA (250 mg) 3) Huang <i>et al.</i> (2012) - tPA (250 mg) 4) Stringer <i>et al.</i> (1988) - tPA (250 mg) 5) Hofstra <i>et al.</i> (2013) - rtPA (250 mg) 6) Conhaim <i>et al.</i> (2014) - tPA (250 mg) 7) Veress <i>et al.</i> (2013) - tPA (250 mg) 8) Veress <i>et al.</i> (2015) - tPA (250 mg) 9) Motoyama <i>et al.</i> (2013) - Plasmina (0,5 mg) 10) Motoyama <i>et al.</i> (2014) - Plasmina (0,5 mg)	ALI 1) intravenosa (4h ou 16h) 2) NR (6h ou 16h) 3) NR (não reportado)(2h) 4) intraperitoneal (5h) 5) nebulização (16h) 6) nebulização (24h) 7) intratraqueal (48) 8) NR 9) NR (1h) 10) NR (3,5h)
McIntyre <i>et al.</i> , 2016	1) 2 Zhao <i>et al.</i> (2008) - CTMs Singênico (5.0 x10 ⁵) 2) Lee <i>et al.</i> (2010) - Singênico (1.0 x10 ⁶) 3) 2 Yagi <i>et al.</i> (2010) - Xenogênicas (2.0 x10 ⁶)	1) Intravenosa (12h) 2) Intravenosa (96h) 3) Intramuscular (0h)

	<p>4) Hannoush <i>et al.</i> (2011) - Alogênico (5.0x10⁶) 5) Liang <i>et al.</i> (2011) - Singênico (1.0x10⁶) 6) Sun <i>et al.</i> (2011) - Autólogo e Xenogênico (3 doses: 1.5x10⁶) 7) Chang <i>et al.</i> (2012) - Autólogo (3 doses: 1.2x10⁶) 0.5 e 6 e 18, IP) 8) Chen <i>et al.</i> (2012)- Singênico(1.0x10⁶) 9) 3 Curley <i>et al.</i> (2012) - Singênico (2.0x10⁶) e (4.0x10⁶) 10) Huang <i>et al.</i> (2012) - Singênico(1x10⁵);(1x10⁶);(1x10⁷);(1x10⁸); (1x10⁷); (1x10⁷); (1x10⁷) (1x10⁷) 11) 2 Li <i>et al.</i> (2012) -xenogênicas (5x10⁵) 12) Qin <i>et al.</i> (2012) -Singênico (1.0x10⁶) 13) Wang <i>et al.</i> (2012) - Singênico (1.0x10⁶) 14) 2 Wu <i>et al.</i> (2012) - Singênico (5.0x10⁵ – 1.0x10⁶/ mL (10 mL/kg) 15)2 Wu <i>et al.</i> (2012) - Singênico a)(1 dose: ~5.0x10⁵ – 1.0x10⁶/ mL (10mL/kg)); b)(2 doses:(~5.0x10⁵ – 1.0x10⁶/ mL (10 mL/kg) 16) Xu <i>et al.</i> (2012) - Singênico ((2.0x10⁶) 17) Curley <i>et al.</i> (2013) - Singênico ((4.0x10⁶) 18) Gao <i>et al.</i> (2013) - xenogênicas(5.0x10⁵) 19) Hannoush <i>et al.</i> (2013) -Singênico (5.0x10⁶) 20) Shin <i>et al.</i> (2013) - xenogênicas((2x10⁶) 21) 4 Yang <i>et al.</i> (2013) - xenogênicas (1.0x10⁷); (5.0x10⁶); (1x10⁷, 5x10⁶ ,5x10⁵, 5x10⁴); (5.0x10⁶) 22) Yilmaz <i>et al.</i> (2013) - Singênico(7.5x10⁵) 23) Zhao <i>et al.</i> (2013) - Singênico(2.5x10⁶)</p>	<p>4) Intravenosa (0h) 5) Intravenosa (2h) 6) Intravenosa (1h,6h e 24h) 7) Intraperitoneal F 0,5h,6h,18h) 8) Intravenosa (0h) 9) Intravenosa (0h e 24h) e Intravenosa/intratraqueal (0.25-0.5) 10) Intravenosa) (6h);(6h); (6h); (6h);(1h); (6h); (12h) (24h) 11) Intravenosa (1h) 12) Intrapleural (0) 13) Intravenosa (2h) 14) Intravenosa (1h) 15) Intravenosa (1h) e (1h a 7h) 16) Intravenosa (0.17h) 17) Intratraqueal(0.25) e Intravenosa(0.5) 18)Intravenosa 19) Intravenosa (0.08h) 20) Intravenosa (0.5h) 21) Intravenosa (6h);(0);(1);(oh,1h,6h,12h) 22) Intratraqueal (2h) 23) Intravenosa (2h)</p>
<p>Vieira <i>et al.</i>, 2023</p>	<p>Sepse 1)Xu <i>et al.</i>(2013) - CUR (200 mg/kg) 2)Xiao <i>et al.</i> (2012) - CUR (50 mg/kg ou 200 mg/kg) 3)Kumari <i>et al.</i>(2017) - CUR (20 mg/kg+10 mg/kg) 4)Memis <i>et al.</i>(2008) - CUR estéril (1,2 g/kg) 5)Savcun <i>et al.</i>(2013) - CUR (200 mg/kg) 6)Yang <i>et al.</i>(2013) - CUR (200 mg/kg) 7)Liu <i>et al.</i>(2017) - CUR (50 mg/kg ou 100 mg/kg)</p>	<p>Sepse 1) intraperitoneal (2 dias) 2) intraperitoneal (2h e 12h) 3) intraperitoneal + intranasal (1h) 4) intraperitoneal (7dias) 5) intraperitoneal (12h) 6) intraperitoneal (3 dias) 7)oral (45 dias)</p>
<p>Wang <i>et al.</i>, 2020</p>	<p>ALI 1)Varkouhi <i>et al.</i>(2019)- CTMs Vesículas extracelulares(100*10⁶/kg) 2)Chen W. <i>et al.</i>(2019)-CTMs Microvesículas 3)Devaney J,<i>et al.</i>(2015)-hCTMs-MC 4)Li QC, <i>et al.</i>(2019)-Exossomos derivados de CTMs(25 µg/100 µl) 5)Liu J, <i>et al.</i>(2019)-Exossomos derivados de CTMs(5–10 µg/500 µl) 6)Hayes M,<i>et al.</i>(2015)-MSC-CM (4 × 10⁶ células/500 µl)</p>	<p>ALI 1)intratraqueal (48h) 2)intratraqueal (48 h ou 1 semana) 3)intratraqueal (48h) 4)intravenosa (7 dias) 5)intravenosa (20 h) 6)intravenosa (4 h)</p>

	7) Peng CK, <i>et al.</i> (2017)-NCSCs-CM (5 × 10 ⁶ células/250 µl) 8) Xu N, <i>et al.</i> (2019)-Exossomos derivados de CTMs (50 mL)	7)) intravenosa (90 min) 8) intratraqueal (6, 24 e 48 h)
--	---	---

Definição de abreviaturas: CUR: curcumina; CTMs/MSC: células estromais mesenquimais; hCTMs-MC: meio condicionado de células - tronco mesenquimais humanas
 IL-1ra: interleucina um antagonista do receptor; MC/CM: meio condicionado; NCSCs-CM: meio condicionado de células-tronco do sistema nervoso central; NR: não reportado;
 PAFra : antagonista do receptor do fator ativador de plaquetas; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio-1; rhtPA/rhuPA: humano recombinante tPA/uPA; TNF: fator de necrose tumoral; tPA: ativador de plasminogênio do tipo tecidual; tirosina quinase (75–81) (tyrphostin AG556); TNF P-80: receptor solúvel ; uPA: ativador de plasminogênio uroquinase.

Quadro 3- Parâmetros estudados e resultados

Referência (Autor, ano)	Parâmetros avaliados para inflamação	Resultados
Carvalho <i>et al.</i> , 2020	<p>ALI</p> <p>1) Histológico do tecido pulmonar, superóxido SOD e citocinas IL-6, IL-10, TNF-α e G-CSF.</p> <p>2) (MDA) índice de estresse oxidativo, TOS(oxidante total) , TAC (capacidade antioxidante total) e OSI(índice de estresse oxidativo).</p> <p>3) Histológico do tecido pulmonar. Análise hematológica. Concentração de MPO e MDA.</p> <p>Sepse</p> <p>1)Histológico do tecido pulmonar, níveis de MDA tecidual e GSH. e, através do soro, níveis de IL-1-β, IL-6 e TNF-α.</p>	<p>ALI</p> <p>1) Os efeitos do carvacrol foi similar ao ácido oleico em reduzir os danos teciduais e na produção de citocinas inflamatórias.</p> <p>2)A pré-administração de carvacrol foi relacionada à diminuição dos níveis de MDA, TOS e OSI e aumento dos níveis de TAC, em comparação com ratos não tratados com lesão pulmonar induzida por metotrexato.</p> <p>3)O LS contendo carvacrol minimizou a lesão inalatória, pois reduziu significativamente o malondialdeído em relação ao grupo controle e minimizou as alterações histológicas.</p> <p>Sepse</p> <p>1)O tratamento com carvacrol preveniu as elevações dos níveis de citocinas inflamatórias (TNF-α, IL-1β e IL-6) e elevações do MDA no tecido pulmonar, mas não preveniu as reduções da GSH nos tecidos pulmonares sépticos. Além disso, efeitos histopatológicos protetores sobre lesões de múltiplos órgãos.</p>
Eichacker <i>et al.</i> , 2002	<p>1) Citocinas do lavado broncoalveolar (MCP-1)</p> <p>2) Neutrófilos no espaço intersticial, Relação peso úmido/seco do pulmão, neutrófilos broncoalveolarizados; Citocinas do lavado broncoalveolar (IL6, TNFα, IL1β), Mortalidade</p> <p>3) Escore histológico pulmonar padronizado</p> <p>4) Escore histológico pulmonar padronizado</p> <p>5) Parede alveolar espessada; Relação peso úmido/seco do pulmão; proteína total do lavado broncoalveolar; neutrófilos broncoalveolarizados; Atividade de MPO pulmonar; Mortalidade</p> <p>6) Parede alveolar espessada; Hipoxemia; Citocinas do tecido pulmonar (TNFα); Citocinas de RNAm do tecido pulmonar (IL1β, TNFα, IL10).</p> <p>7) Mortalidade; Relação peso úmido/seco do pulmão; Hipoxemia</p> <p>8) Escore histológico pulmonar padronizado; Neutrófilos no espaço intersticial; Água extravascular pulmonar; Relação peso úmido/seco do pulmão; Hipoxemia; Atividade de MPO pulmonar; Citocinas de RNAm do tecido pulmonar (TNFα, IL10)</p>	<p>Os animais apresentaram taxas de mortalidade muito mais altas do que os humanos (mediana [25°-75° quartil] 88% [79–96%] versus 39% [32–43%], $p = 0,0001$) (Figuras 1B e 1C). Independentemente do tipo de desafio, momento ou dose de tratamento, espécie estudada ou duração da observação, a razão de probabilidade de sobrevivência com todos os tratamentos anti inflamatórios específicos de mediador diminuiu à medida que o risco de morte (taxa de mortalidade de controle estudada) diminuiu ($p = 0,0001$) (Figura 1). Notavelmente, os anticorpos anti-TNF foram considerados significativamente prejudiciais em dois estudos em animais citados com taxas de mortalidade de controle muito baixas (menos de 15%) que estavam abaixo daquelas estudadas na maioria dos ensaios clínicos e pré-clínicos de sepse (17, 18). Cada um destes dois estudos aumentou significativamente a inclinação da relação entre risco de morte e tratamento. Embora mostrados com outros dados, por serem excessivamente influentes, esses dois estudos foram excluídos da análise; no entanto, a inclusão tornaria esta relação ainda mais forte.</p>

	<p>9) neutrófilos broncoalveolarizados; Citocinas do lavado broncoalveolar (TNFα, IL6)</p> <p>10) Relação pulmão úmido/seco</p> <p>11) Relação pulmão úmido/seco; proteína total do lavado broncoalveolar; Atividade de MPO pulmonar; neutrófilos broncoalveolarizados; Neutrófilos no espaço intersticial; Parede alveolar espessada</p> <p>12) Escore histológico pulmonar padronizado; proteína total do lavado broncoalveolar; Relação peso úmido/seco do pulmão; citocinas do lavado broncoalveolar (TNFα, IL10); Citocinas do tecido pulmonar (TNFα, IL10); Citocinas de RNAm do tecido pulmonar (TNFα, IL10); neutrófilos broncoalveolarizados; Atividade da MPO pulmonar</p> <p>13) Parede alveolar espessada; Relação peso úmido/seco do pulmão; Atividade de MPO pulmonar; As citocinas de RNAm do tecido pulmonar (TNFα)</p> <p>14) e 15) Escore histológico pulmonar padronizado; Relação pulmão molhado/peso seco</p> <p>16) Escore histológico pulmonar padronizado; Relação peso úmido/seco do pulmão; Citocinas do tecido pulmonar (TNFα, IL10, KC); Neutrófilos no espaço intersticial</p> <p>17) - Parede alveolar espessada; Relação peso úmido/seco do pulmão; proteína total do lavado broncoalveolar; Hipoxemia; Diferença alvéolo-arterial de oxigênio; neutrófilos broncoalveolarizados; Citocinas do lavado broncoalveolar (TNFα, IL6, IL10)</p> <p>18) Relação pulmão molhado/peso seco</p> <p>19) Escore histológico pulmonar padronizado</p> <p>20) Citocinas do tecido pulmonar (TNFα, IL6, IL10); Parede alveolar espessada; Neutrófilos no espaço intersticial; Escore histológico pulmonar padronizado</p> <p>22) Escore histológico pulmonar padronizado; Mortalidade</p> <p>22) Membrana hialina; Água extravascular pulmonar; Neutrófilos no espaço intersticial; Atividade de MPO pulmonar; Citocinas do tecido pulmonar (IL1β, IL6, Cxcl2)</p> <p>23) Escore histológico pulmonar padronizado; Hipoxemia; citocinas do lavado broncoalveolar (TNFα, IL1β, IL6, IL10); neutrófilos broncoalveolarizados; Mortalidade</p>	<p>Entre todos os fatores examinados, o risco de morte explicou a maior parte da variabilidade (70%) nos efeitos do tratamento dos tratamentos anti-inflamatórios comparando estes 95 experimentos.</p>
Liu <i>et al.</i> , 2018	<p>1) PaO₂: a pressão parcial do oxigênio no sangue arterial.</p> <p>2) PaCO₂: a pressão parcial do dióxido de carbono no sangue arterial.</p> <p>3) Neutrófilos</p> <p>4) Atividade ativadora do plasminogênio (PAA)</p>	<p>A metanálise demonstra que a terapia fibrinolítica restaura a fibrinólise disfuncional e a coagulação na ALI. Esse benefício independe de vias e regimes fibrinolíticos. A deposição de fibrina alveolar atraiu neutrófilos e fibroblastos, e diminuiu a depuração de líquido do edema pulmonar.</p>

	<p>5) BALF PAI-1 (Fluido do lavado broncoalveolar -BALF) / inibidor de ativador de plasminogênio- PAI-1) 6) Plasma TATc - (Complexo trombina antitrombina-TATc) 7) Conteúdo de água nos pulmões 8) Pontuação de lesão pulmonar</p>	<p>Identificou-se que a fibrinolisina tPA e a via i.v. são as mais potentes para reduzir a infiltração neutrofílica. Além disso, descobriu-se que a plasmina pode ser a melhor fibrinolisina para melhorar o escore de lesão pulmonar.</p>
<p>McIntyre <i>et al.</i>, 2016</p>	<p>1) Zhao <i>et al.</i> (2008) - Citocinas no LBA (MCP-1) e parede alveolar espessada. 2) Lee <i>et al.</i> (2010) - Neutrófilos no espaço intersticial, Razão peso úmido/seco do pulmão, Neutrófilos no LBA; Citocinas no LBA (IL6, TNFα, IL1β), Mortalidade). 3) Yagi <i>et al.</i> (2010) - Escore histológico pulmonar padronizado e Neutrófilos no espaço intersticial. 4) Hannoush <i>et al.</i> (2011) - Escore histológico pulmonar padronizado. 5) Liang <i>et al.</i> (2011) - Parede alveolar espessada; Razão peso úmido/seco do pulmão; Proteína total no LBA; Neutrófilos no LBA; Atividade de MPO no pulmão; Mortalidade. 6) Sun <i>et al.</i> (2011) - Parede alveolar espessada; Hipoxemia; Citocinas no tecido pulmonar (TNFα); Citocinas mRNA no tecido pulmonar (IL1β, TNFα, IL10) 7) Chang <i>et al.</i> (2012) - Mortalidade; Razão peso úmido/seco do pulmão; Hipoxemia 8) Chen <i>et al.</i> (2012) - Escore histológico pulmonar padronizado; Neutrófilos no espaço intersticial; Água pulmonar extravascular; Razão peso úmido/seco do pulmão; Hipoxemia; Atividade de MPO no pulmão; Citocinas mRNA no tecido pulmonar (TNFα, IL10). 9) Curley <i>et al.</i> (2012) - Parede alveolar espessada; Razão peso úmido/seco do pulmão; Proteína total no LBA; Diferença de oxigênio alveolar-arterial; Neutrófilos no LBA; Citocinas no LBA (TNFα, IL6, IL10) e Neutrófilos no LBA; Citocinas no LBA (TNFα, IL6). 10) Huang <i>et al.</i> (2012) - Razão peso úmido/seco do pulmão. 11) Li <i>et al.</i> (2012) - Razão peso úmido/seco do pulmão; Proteína total no LBA; Atividade de MPO no pulmão; Neutrófilos no LBA; Neutrófilos no espaço intersticial; Parede alveolar espessada e Escore histológico pulmonar padronizado; Mortalidade. 12) Qin <i>et al.</i> (2012) - Escore histológico pulmonar padronizado; Proteína total no LBA; Razão peso úmido/seco do pulmão; Citocinas no LBA (TNFα, IL10); Citocinas no tecido pulmonar (TNFα, IL10); Citocinas mRNA no tecido pulmonar (TNFα, IL10); Neutrófilos no LBA; Atividade de MPO no pulmão.</p>	<p>Os resultados da meta-análise apoiam que as CTMs reduzem substancialmente as chances de morte em modelos animais de ALI, mas elementos importantes de relato foram subótimos e limitaram a força de nossas conclusões.</p>

	<p>13) Wang <i>et al</i> (2012) - Parede alveolar espessada; Razão peso úmido/seco do pulmão; Atividade de MPO no pulmão; Citocinas mRNA no tecido pulmonar (TNFα).</p> <p>14) Wu <i>et al</i> (2012) - Escore histológico pulmonar padronizado; Razão peso úmido/seco do pulmão.</p> <p>15) Wu <i>et al</i> (2012) - MPO no pulmão, Citocinas no tecido pulmonar (TNFα, IL1β)</p> <p>16) Xu <i>et al</i> (2012) - Escore histológico pulmonar padronizado; Razão peso úmido/seco do pulmão; Citocinas no tecido pulmonar (TNFα, IL10, KC); Neutrófilos no espaço intersticial</p> <p>17) Curley <i>et al</i> (2013) - Parede alveolar espessada; Razão peso úmido/seco do pulmão; Proteína total no LBA; Hipoxemia; Diferença de oxigênio alveolar-arterial; Neutrófilos no LBA; Citocinas no LBA (TNFα, IL6, IL10).</p> <p>18) Gao <i>et al</i> (2013) - Razão peso úmido/seco do pulmão.</p> <p>19) Hannoush <i>et al</i> (2013) - Escore histológico pulmonar padronizado.</p> <p>20) Shin <i>et al</i> (2013) - Citocinas no tecido pulmonar (TNFα, IL6, IL10); Parede alveolar espessada; Neutrófilos no espaço intersticial; Escore histológico pulmonar padronizado.</p> <p>21) Yang <i>et al</i> (2013) - Neutrófilos no espaço intersticial; Escore histológico pulmonar padronizado; Mortalidade; Água pulmonar extravascular.</p> <p>22) Yilmaz <i>et al</i> (2013) - Membrana hialina; Água pulmonar extravascular; Neutrófilos no espaço intersticial; Atividade de MPO no pulmão; Citocinas no tecido pulmonar (IL1β, IL6, Cxcl2).</p> <p>23) Zhao <i>et al</i> (2013) - Score histológico pulmonar padronizado; Hipoxemia; Citocinas no LBA (TNFα, IL1β, IL6, IL10); Neutrófilos no LBA; Mortalidade.</p>	
Vieira <i>et al.</i> , 2023	<p>Sepse</p> <p>1) Relação pulmão molhado/peso seco Microscopia eletrônica de transmissão Exame histopatológico Isolamento e análise de RNA Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real Ensaio imunoenzimático Determinação de proteínas Análise de Western blot.</p> <p>2) Mensuração da relação P/D pulmonar Medida da lesão pulmonar no lavado broncoalveolar (lavado broncoalveolar); Exame histopatológico do pulmão; Medida da atividade da MPO, MDA e SOD; Mensuração de citocinas inflamatórias, taxa de sobrevivência.</p>	<p>Sepse</p> <p>1) Descobriu-se que o tratamento com CUR reduziu significativamente a relação peso úmido/seco pulmonar na lesão pulmonar aguda induzida por sepse em ratos em 24 e 48 h. 24 h após o tratamento inicial, a PCR em tempo real e a análise de Western blot mostraram que a expressão da via de sinalização dependente de TGF-β 1 e SMAD3 foi significativamente reduzida no grupo tratado com CUR do que em outros grupos controle. No grupo CUR, a exsudação de fibrina no espaço alveolar e a necrose celular foram menos proeminentes, não havendo exsudação de hemácias. O tratamento com CUR preveniu alguns danos induzidos pela sepse.</p>

	<p>3) Dosagem de ERO induzida por LPS no lavado broncoalveolar; Dosagem de nitrito; Determinação do nível de TNF-α; Atividade da MPO nos pulmões; Avaliação do extravasamento capilar. Determinação da inflamação do conteúdo de hidroxiprolina (Hyp) como marcador de colágeno nos pulmões; Determinação histopatológica da fibrose pulmonar, Taxa de sobrevivência.</p> <p>4) Exame histopatológico.</p> <p>5) Análises histopatológicas; Dosagem de TNF-α e IL-1β nos tecidos hepático e renal; níveis de MDA e glutathiona (GSH); Atividades da MPO e da Na⁺/K⁺-ATPase.</p> <p>6) Determinação da função cardíaca por ultrassom cardíaco, alterações morfológicas dos tecidos miocárdicos e conteúdo de cTnI, SOD e MDA no plasma.</p> <p>7) Mensuração da relação P/D pulmonar, Mensuração da lesão pulmonar no lavado broncoalveolar; Exame histopatológico do pulmão; Mensuração das atividades das enzimas MPO, MDA, SOD e catalase; Dosagem de citocinas inflamatórias.</p>	<p>2)O tratamento com CUR atenuou significativamente o edema e a inflamação pulmonar induzidos pelas FLP, pois diminuiu significativamente a relação P/D pulmonar, a concentração de proteínas e o acúmulo de células inflamatórias no lavado broncoalveolar, bem como a atividade da mieloperoxidase pulmonar (MPO). A CUR aumentou significativamente a atividade da superóxido dismutase (SOD) com uma diminuição significativa no conteúdo de malondialdeído (MDA) no pulmão. Causou downregulation das citocinas inflamatórias TNF-α, IL-8 e níveis de MIF no pulmão, e CUR melhorou a taxa de sobrevivência de ratos em 40%–50% com lesão pulmonar aguda (ALI) induzida por CLP.</p> <p>3)O CUR melhora os danos oxidativos causados pelas ROS induzidas por LPS e pelo nível de nitrito. O nível de TNF-α induzido por LPS foi melhorado pela CUR. A CUR suprime a infiltração neutrofílica e a inflamação pulmonar. O CUR protege contra histopatologia induzida por LPS e dano capilar. O CUR melhora a deposição de colágeno induzida por LPS nos pulmões e no fígado. A CUR melhorou a expressão de TGF-β 1, TLR-4 e iNOS induzida por LPS nos pulmões. A CUR protege contra letalidade induzida por LPS.</p> <p>4)A PCR atenuou a degeneração hepática hidrópica, a dilatação sinusoidal, as áreas de necrose e a infiltração inflamatória no fígado; redução da inflamação, hiperemia e ulceração da mucosa no intestino delgado; inflamação atenuada e necrose dos túbulos proximais no rim.</p> <p>5)Os valores séricos de TNF-α e IL-1β e MDA e MPO tecidual foram menores, enquanto os valores de GSH tecidual e Na⁺/K⁺-ATPase foram maiores, no grupo FLP em comparação com o grupo sham. Esses valores no grupo FL/PCR foram inversos daqueles no grupo FLP. Em comparação com o grupo sham, a avaliação histopatológica do grupo FLP mostrou hepatócitos, glomérulos e túbulos danificados, enquanto o dano foi significativamente reduzido no grupo FL/FLP em comparação com o grupo FLP.</p> <p>6)O tratamento de ratos com CUR diminuiu significativamente os níveis elevados de troponina I cardíaca (cTnI) e MDA no plasma e aumentou os níveis de SOD após FLP. Além disso, a CUR aumentou a contratilidade miocárdica por aumentar a fração de ejeção (FE) e a fração de encurtamento (FS) diminuídas em ratos com sepse induzida por FLP. Além disso, a CUR poderia aliviar a inflamação miocárdica e o dano estrutural das células miocárdicas na sepse induzida por FLP</p>
--	---	---

		7)A administração de CUR reduziu significativamente a inflamação induzida por FLP, o edema pulmonar e a lesão pulmonar crônica (CLI). O tratamento com CUR reduziu significativamente a atividade da MPO e o acúmulo de células inflamatórias no lavado broncoalveolar, e também o nível de proteína, MDA, SOD e relação W/D foram significativamente reduzidos nos tecidos pulmonares. Além disso, a CUR reduziu a expressão dos níveis de IL-1b, TNF-a e nos tecidos pulmonares.
Wang <i>et al.</i> , 2020	IL-1 β , IL-6 e TNF- α , fator anti-inflamatório IL-10, relação peso úmido/peso seco (relação P/D) do pulmão, proteína total no lavado broncoalveolar e contagem de neutrófilos no lavado broncoalveolar.	Os resultados da revisão sistemática indicam que as células estromais mesenquimais (CTMs) são benéficas em diversos modelos animais e condições experimentais. Os efeitos protetores das CTMs mantiveram-se mesmo em modelos animais clinicamente relevantes, reduzindo a mortalidade em comparação com controles doentes, mesmo quando a terapia com CTMs foi iniciada mais de 6 horas após a indução da lesão pulmonar aguda (ALI). Embora a redução na mortalidade não tenha sido estatisticamente significativa, houve uma tendência de menor eficácia com o atraso na administração de CTMs. Além disso, antibióticos foram usados em apenas 3 dos 11 experimentos com modelos infecciosos de ALI. A importância de realizar experimentos clinicamente relevantes é destacada para a avaliação eficaz das CTMs, especialmente quando a terapia está sendo considerada para avaliação clínica.

Definição de abreviaturas: ALP: fosfatase alcalina; ALT: alanina transaminase; AST: aspartato transaminase; BALF: Fluido do lavado broncoalveolar; CAT: catalase; CLP/FLP: ligadura e punção cecal; CLI: lesão pulmonar crônica; CUR: curcumina; CTMs:células estromais mesenquimais; cTnI: troponina I cardíaca; Cxcl2: ligante de quimiocina motif 2; BHE: barreira hematoencefálica; EB: evans azul; EF: fração de encurtamento; FE: fração de ejeção; FLP:ligadura e punção cecal; GSH:glutathiona reduzida; G-CSF: fator estimulador de colônias de granulócitos; GSH-px: glutathiona peroxidase; ICP: lesão pulmonar crônica; IFN γ :interferon gama; IL:interleucina; i.n.: intranasal; iNOS: óxido nítrico sintase induzível; i.p.: intraperitoneal; i.v.: intravenosa; KC quimiólogo de queratinócitos; LBABROSO: lavado broncoalveolar; LBA: líquido de Lavagem Broncoalveolar; ALI: lesão pulmonar aguda; LPS: lipopolissacarídeo; LS:nanopartículas lipídicas sólidas; MCP-1:Citocinas do lavado broncoalveolar; MDA: malondialdeído; MIF/FIM: fator inibidor de macrófagos; MPO: mieloperoxidase; O.A.: administração oral; OSI:índice de estresse oxidativo; PCR: reação em cadeia da polimerase; P/D: relação peso úmido/peso seco pulmonar; PAA: atividade ativadora do plasminogênio; PAI: inibidor de ativador de plasminogênio; RNAm:ácido ribonucleico mensageiro; ROS: espécies reativas de oxigênio; SMAD3:proteína essencial na via de sinalização do TGF- β ; SOD: superóxido dismutase; TAC:capacidade antioxidante total; TGF- β : fator transformador de crescimento beta; TLR4: Receptor Toll-like 4; TNF- α :fator de necrose tumoral alfa;TOS: oxidante total.

Quadro 4. Qualidade dos estudos e conclusões do modelo experimental de tratamentos anti-inflamatórios em ALI

Referência (Autor, ano)	Risco de viés metodológico (ferramenta e resultado) NO GERAL	Vieses encontrados NO GERAL	Conclusões dos estudos primários
Carvalho <i>et al.</i> , 2020	SYRCLE's risk of bias (RoB) tool (baixo, incerto e alto).	Alocação dos animais, randomização dos grupos, cegamento do pesquisador que fez a intervenção e dos avaliadores.	ALI 1) Os efeitos antioxidantes do carvacrol no tecido pulmonar o tornam um produto eficaz na prevenção e reversão de danos no tecido pulmonar. 2) Lesão pulmonar induzida por metotrexato em ratos (dano oxidativo), parcialmente neutralizada pelo pré-tratamento com carvacrol. 3) LS contendo carvacrol minimizam o estresse oxidativo e os danos histológicos gerados pela inalação de fumaça em roedores. Sepse 1) O tratamento com carvacrol reduz a sepse devido aos seus efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios.
Eichacker <i>et al.</i> , 2002	SYRCLE's risk of bias (RoB) tool (baixo, incerto e alto).	Não reportado	Em uma análise retrospectiva de ensaios clínicos e pré-clínicos e estudos confirmatórios em animais, descobrimos que o risco de morte alterou a eficácia dos tratamentos anti-inflamatórios durante a sepse. Essa relação fornece uma explicação para os resultados contraditórios observados com essa abordagem terapêutica em ensaios clínicos pré-clínicos e clínicos de sepse na última década. Os agentes anti-inflamatórios tiveram maiores efeitos do tratamento em modelos animais em comparação com os ensaios clínicos, pois os estudos pré-clínicos foram feitos com riscos significativamente maiores de morte.
Liu <i>et al.</i> , 2018	O risco de vieses foi avaliado por meio do Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions.	Dados de desfecho incompletos e relato seletivo de desfechos em todos os estudos foram de baixo risco. A randomização, o cegamento do pessoal, o sigilo da alocação e o cegamento dos resultados em 11 projetos foram de baixo risco, enquanto o risco nos demais	Os resultados identificam que a melhor via é o parto intratraqueal, e o regime mais eficaz é o tPA. Terapias fibrinolíticas aprovadas pelo FDA para doenças cardiovasculares e pleurais, incluindo hemorragia intraventricular hipertensiva, derrames pleurais localizados, derrames parapneumônicos, empiema pleural, derrames malignos, hemotórax e infarto do miocárdio, demonstram a tolerância e a viabilidade desse tratamento. A terapia fibrinolítica pode ser uma estratégia

		projetos não foi claro.	farmacêutica eficaz para ALI em modelos animais.
McIntyre <i>et al.</i> , 2016	Risk of bias was assessed using the Cochrane Risk of Bias tool(baixo,alto e incerto)	Geração de sequência, Ocultação de alocação, Cegamento de participantes e pessoal, Cegamento de avaliadores de resultados, Dados de desfecho incompletos, Relatório seletivo de resultados.	Em conclusão, as CTMs parecem reduzir substancialmente a morte em modelos pré-clínicos de ALI e em muitos subgrupos. Nossa revisão sugere que essa terapia poderia fornecer um potencial tratamento futuro para muitos tipos diferentes de lesão pulmonar aguda e fornece evidências de suporte para avançar em direção à sua avaliação em ensaios clínicos em humanos. No entanto, também descobrimos que certos elementos de relato relacionados aos domínios de risco de viés e à caracterização das CTM eram inadequados, o que poderia ser melhorado substancialmente com o uso de uma diretriz de relatório pré-clínico, como o ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments).
Vieira <i>et al.</i> , 2023	SYRCLE's risk of bias (CLE) tool (sim, não, incerto)	Todos os 12 estudos foram considerados com risco incerto de viés de acordo com a análise de risco de viés. As informações sobre randomização, alocação e cegamento não foram claramente descritas nos artigos, que são necessários para a avaliação do SYRCLE.	Sepse 1)A CUR desempenhou um papel protetor na ALI induzida por sepse, possivelmente pela inibição da expressão da via TGF- β 1/SMAD3 2)A CUR protege contra a lesão pulmonar aguda induzida por sepse em ratos, reduzindo a infiltração de células inflamatórias, a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e regulando os efeitos das citocinas. 3)A CUR em dose mais baixa (20 mg/kg, i.p.) pode inibir a inflamação, o dano oxidativo e as alterações fibróticas em modelos murinos. 4)A CUR reduziu disfunção orgânica em ratos com sepse experimental. 5)A CUR tem efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios contra o dano tecidual provavelmente causado por EROS e peroxidação lipídica induzida por sepse experimental em ratos. 6)CUR tem efeitos protetores sobre a função cardíaca em ratos com sepse. 7)CUR pode melhorar CLP induzida por CLP em ratos albinos machos.
Wang <i>et al.</i> , 2020	SYRCLE's risk of bias (RoB) tool (baixo, moderado e alto)	Referências e data de publicação; espécie animal; modelo de lesão pulmonar; descrições da fonte da CME; a dose e a via da terapia derivada das CTM; e os momentos de avaliação.	A PQTs reduziu a lesão pulmonar e melhorou a sobrevida em modelos animais de ALI/SDRA por meio dos seguintes mecanismos: melhora da permeabilidade pulmonar, diminuição do infiltrado de células inflamatórias, diminuição da regulação de mediadores pró-inflamatórios e regulação positiva de mediadores anti-inflamatórios.

Definição de abreviaturas: CLP: Ligadura e perfuração cecal; CUR: curcumina; CTM:células estromais mesenquimais; ALI/SDRA:lesão pulmonar aguda/síndrome do desconforto respiratório agudo; FDA: Food and Drug Administration; PQTs:terapias derivadas de CTM; tPA: Ativador de plasminogênio do tipo tecidual; TGF- β 1/SMAD3:Fator de Crescimento Transformador-beta 1/proteína essencial na via de sinalização do TGF- β .

5 CONCLUSÃO

Com relação à eficácia de tratamentos anti-inflamatórios em ratos com ALI, os estudos revisados demonstraram resultados promissores, principalmente o carvacrol, curcumina e terapia fibrinolítica. Estes achados ressaltam o potencial terapêutico dos agentes investigados, confirmando que os ratos são modelos relevantes para a pesquisa de novas terapias para ALI. No entanto, é importante destacar que a extrapolação desses resultados para uso em estudos em seres humanos ainda exige cautela e existe a necessidade por mais estudos pré-clínicos, considerando as diferenças entre modelos animais e humanos.

A análise do risco de viés nas revisões sistemáticas e meta-análises revelou diversas lacunas metodológicas que podem comprometer a qualidade da evidência gerada, principalmente no que se refere a randomização e cegamento. Portanto, este trabalho reforça a importância de uma análise crítica e rigorosa dos estudos pré-clínicos em ratos para garantir a confiabilidade e a translação dos resultados para a prática clínica. A adoção de metodologias sistemáticas e bem definidas, aliadas a uma avaliação constante do risco de viés, são passos fundamentais para avançar no desenvolvimento de novos tratamentos eficazes para doenças como a inflamação pulmonar aguda. A continuidade da pesquisa e a implementação de melhores práticas podem contribuir significativamente para a melhoria das terapias disponíveis e, conseqüentemente, para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K. *et al.* **Reparo tecidual: regeneração, cicatrização e fibrose.** Robbins, Patologia Básica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 63-186, 2008.
- AGUILAR-NASCIMENTO, JOSÉ EDUARDO DE. **Fundamental steps in experimental design for animal studies.** Acta Cirúrgica Brasileira, v. 20, p. 2-3, 2005.
- AHMED, MUKHTAR H.; HASSAN, AREZ. **Dexamethasone for the treatment of coronavirus disease (COVID-19): a review.** SN comprehensive clinical medicine, v. 2, n. 12, p. 2637-2646, 2020.
- ALAVINEZHAD, AZAM; KHAZDAIR, MOHAMMAD REZA; BOSKABADY, MOHAMMAD HOSSEIN. **Possible therapeutic effect of carvacrol on asthmatic patients: A randomized, double blind, placebo-controlled, Phase II clinical trial.** Phytotherapy Research, v. 32, n. 1, p. 151-159, 2018.
- AL-WAELI, HAIDER *et al.* **Anti-inflamatórios não esteroidais e consolidação óssea em modelos animais - uma revisão sistemática e metanálise.** Systematic Reviews, v. 10, p. 1-20, 2021.
- ANVISA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos.** 2013. Disponível em: <https://mooc.campusvirtual.fiocruz.br/rea/medicamentos-da-biodiversidade/Guia_para_a_Conducao_de_Estudos_Nao_Clinicos_de_Toxicologia.pdf>. Acesso em: 15 março 2023.
- ARAÚJO, E.C.C. DE; SANTANA, R. J.; ARISAWA, E. A. S. **Mecanismos da inflamação: análise dos processos fisiopatológicos.** ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, v. 17, 2013. Disponível em: <https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2013/anais/arquivos/0839_0637_01.pdf>. Acesso em: 02 março 2024.
- ATKINS, JOHNIQUE T. *et al.* **Modelos animais pré-clínicos são preditores pobres de toxicidades humanas em ensaios clínicos oncológicos de fase 1.** British journal of cancer, v. 123, n. 10, p. 1496-1501, 2020.
- BRASIL, Poder Executivo. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Brasília: Ministério da Saúde**, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/sintese_evidencias_politicas_saude_1ed.pdf. Acesso em: 25 fev. 2023.
- BRASIL, **decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009.** Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o

uso científico de animais, e dá outras providências. Brasília, 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2007-2010/2009/decreto/d6899.htm. Acesso em: 25 fev. 2023.

BRISA, **Brazilian Reproducibility Initiative in preclinical Systematic review and meta-Analysis, 2018**. Disponível em: <<https://www.reprodutibilidade.bio.br/brisa>>. Acesso em: 15 março 2023.

BRODIE, D. *et al.* **Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo: Avanços no Diagnóstico e Tratamento.**

BROCHARD, L.; SLUTSKY, A.; PESENTI, A. **Ventilação mecânica para minimizar a progressão da lesão pulmonar na insuficiência respiratória aguda.** 15 Fev. 2017.

RUGGERI, BRUCE A.; CAMP, FAYE; MIKNYOCZKI, SHEILA. **Animal models of disease: pre-clinical animal models of cancer and their applications and utility in drug discovery.** *Biochemical pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 150-161, 2014.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE. **Guide to the care and use of experimental animals.** Canadian Council on Animal Care, 1984.v.1-2
Disponível em: <https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf>. Acesso em: 16 março 2023.

CHEN, DANDAN; WANG, HONGWU; CAI, XINGJUN. **A curcumina interfere com a apoptose de cardiomiócitos induzida por sepse via inibição de TLR1.** *Revista Portuguesa de Cardiologia*, v. 42, n. 3, p. 209-221, 2023.

CHEN, SHUANG *et al.* **Targeting myeloperoxidase (MPO) mediated oxidative stress and inflammation for reducing brain ischemia injury: Potential application of natural compounds.** *Frontiers in physiology*, v. 11, p. 433, 2020.

COSTA-LOTUFO, LETÍCIA VERAS *et al.* **Organismos marinhos como fonte de novos fármacos: Histórico & perspectivas.** *Química nova*, v. 32, p. 703-716, 2009.

FACCHIN, BRUNO MATHEUS DE CAMPOS. **A administração sistêmica de *Calea pinnatifida* inibe a inflamação induzida por carragenina em um modelo murino de neutrofilia pulmonar.**

DE CARVALHO, FERNANDA OLIVEIRA *et al.* **Atividade anti-inflamatória e antioxidante do carvacrol no sistema respiratório: revisão sistemática e metanálise.** *Pesquisa em fitoterapia*, v. 34, n. 9, p. 2214-2229, 2020.

DE LUCA CANTO, G. *et al.* **Revisões sistemáticas da literatura: guia prático.** Curitiba: Brazil Publishing, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/342398902_Revisoes_sistematicas_da_literatura_guia_pratico. Acesso em: 25 fev. 2023.

EICHACKER, PETER Q. *et al.* **Risk and the efficacy of antiinflammatory agents: retrospective and confirmatory studies of sepsis.** American journal of respiratory and critical care medicine, v. 166, n. 9, p. 1197-1205, 2002.

FALZARANO, ADRIANO; BENTE, DENNIS A. **Modelos animais para febre hemorrágica viral.** Microbiologia Clínica e Infecção, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12630>>. Acesso em: 16 março 2023.

FERREIRA, LEONARDO L.G.; ANDRICOPULO, ADRIANO D. **Medicamentos e tratamentos para a Covid-19.** Estudos avançados, v. 34, n. 100, p. 7-27, 2020.

FDA, 2023. Food and Drug Administration. Disponível em: <<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-roundup-june-16-202>>. Acesso em: 15 março 2023.

GHORANI, VAHIDEH *et al.* **Carvacrol improves pulmonary function tests, oxidant/antioxidant parameters and cytokine levels in asthmatic patients: A randomized, double-blind, clinical trial.** Phytomedicine, v. 85, p. 153539, 2021.

GHORANI, VAHIDEH *et al.* **Safety and tolerability of carvacrol in healthy subjects: a phase I clinical study.** Drug and Chemical Toxicology, v. 44, n. 2, p. 177-189, 2021.

GUYATT, GORDON H. *et al.* GRADE guidelines: 4. Rating the quality of evidence—study limitations (risk of bias). **Journal of clinical epidemiology**, v. 64, n. 4, p. 407-415, 2011.

GUYATT, GORDON *et al.* GRADE guidelines: 11. Making an overall rating of confidence in effect estimates for a single outcome and for all outcomes. **Journal of clinical epidemiology**, v. 66, n. 2, p. 151-157, 2013.

HIGGINS, JULIAN P.T. *et al.* **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions version 6.2** (updated February 2021). Cochrane, 2021.

HIGGINS, JULIAN P.T. *et al.* **The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials.** Bmj, v. 343, 2011.

HOOIJMANS, CARLIJN R. *et al.* **SYRCLE's risk of bias tool for animal studies.** BMC medical research methodology, v. 14, p. 1-9, 2014. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2288-14-43>>. Acesso em: 14 fev. 2023.

VILLAR, JESÚS *et al.* **Tratamento com dexametasona para a síndrome do desconforto respiratório agudo: um ensaio clínico multicêntrico, randomizado e controlado.** The Lancet Medicina Respiratória, v. 8, n. 3, p. 267-276, 2020.

JOHNSON, ADRIANA R.; MATTHAY, MICHAEL A. **Lesão pulmonar aguda: epidemiologia, patogênese e tratamento.** Revista de medicina aerossol e liberação de drogas pulmonares, v. 23, n. 4, p. 243-252, 2010.

KAYSER, CRISTIANE; SOUZA, ALEXANDRE WAGNER SILVA DE. **Agente antifator de necrose tumoral alfa no tratamento da artrite reumatóide na prática clínica diária.** Revista Brasileira de Reumatologia, v. 47, p. 212-217, 2007.

KHAZDAIR, MOHAMMAD REZA; BOSKABADY, MOHAMMAD HOSSEIN. **The effect of carvacrol on inflammatory mediators and respiratory symptoms in veterans exposed to sulfur mustard, a randomized, placebo-controlled trial.** Respiratory medicine, v. 150, p. 21-29, 2019.

KOONIN, EUGENE V. **Orthologs, paralogs, and evolutionary genomics.** Annu. Rev. Genet., v. 39, n. 1, p. 309-338, 2005.

KUMAR, VIJAY. **A resposta imune inata pulmonar determina o desfecho da inflamação durante pneumonia e lesão pulmonar aguda associada à sepse.** Frontiers in immunology, v. 11, p. 1722, 2020.

LI, JIUCUÍ *et al.* **Panaxydol atenua a ferroptose contra a lesão pulmonar aguda induzida por LPS em camundongos pela via Keap1-Nrf2/HO-1.** Revista de Medicina Translacional, v. 19, p. 1-14, 2021.

LIU, CONG *et al.* **Metanálise de estudos pré-clínicos de terapia fibrinolítica para lesão pulmonar aguda.** Fronteiras em imunologia, v. 9, p. 1898, 2018.

MORAES J.C.B. Anti-TNF. **Rev Paul Reumatol.** 2021 jul-set;20(3):6-11. Disponível em: <<https://doi.org/10.46833/reumatologiasp.2021.20.3.6-11>>. Acesso em: 14 maio 2024.

MAKAŁOWSKI, WOJCIECH; BOGUSKI, MARK S. Evolutionary parameters of the transcribed mammalian genome: an analysis of 2,820 orthologous rodent and human sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 16, p. 9407-9412, 1998.

MCINTYRE, LAURALYN A. *et al.* **Eficácia da terapia celular estromal mesenquimal na lesão pulmonar aguda em modelos animais pré-clínicos: uma revisão sistemática.** PloS um, v. 11, n. 1, p. e0147170, 2016.

MITCHELL, R.N.; KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Inflamação aguda e crônica.** In: **Robbins & Cotran, Fundamentos de Patologia.** 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, p.29-44. Acesso em: 02 Abril 2024.

MOHR, E.T. B. *et al.* **Evidências de que o efeito anti-inflamatório do éter de rubiadina 1 -metil tem um contexto imunomodulador.** Mediadores da Inflamação, v. 2019, n. 1, p. 6474168, 2019.

MOKRA, DANIELA; KOSUTOVA, PETRA. **Biomarkers in acute lung injury.** Respiratory physiology & neurobiology, v. 209, p. 52-58, 2015.

MORGIA, GIUSEPPE *et al.* **A phase II, randomized, single-blinded, placebo-controlled clinical trial on the efficacy of Curcumina and Calendula**

suppositories for the treatment of patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome type III. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*, v. 89, n. 2, p. 110-113, 2017.

DOS SANTOS NASCIMENTO, MARCUS VINICIUS PEREIRA *et al.* **New pre-clinical evidence of anti-inflammatory effect and safety of a substituted fluorophenyl imidazole.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 111, p. 1399-1407, 2019.

NACIONAL, A.; **Sanitária, V. Ministério Da Saúde.** Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2015/rdc0009_20_02_2015.pdf>. Acesso em: 15 março 2023.

NACIONAL, I. **Resolução Nº 57, De 6 De Dezembro De 2022** - DOU - Imprensa Nacional. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-n-57-de-6-de-dezembro-de-2022-448572294>>. Acesso em: 15 maio 2023.

NANCY WARD, COLLEEN; LEBLANC, PAYTON E.; EDWARD BURRELL, ROBERT. **Effects of composition and pH on the degradation of hyaluronate and carboxymethyl cellulose gels and release of nanocrystalline silver.** *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, v. 22, p. 22808000241257124, 2024.

NATIONAL, **Toxicology Program OHAT risk of bias rating tool for human and animal studies.** Office of Health Assessment and Translation, 2015. Disponível em: <https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/ohat/pubs/riskofbiastool_508.pdf>. Acesso em: 15 março 2023

NC3Rs. **National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of the Animals in Research.** Disponível em: <<https://www.nc3rs.org.uk/>>. Acesso em 14 fev. 2023.

NEVES, SILVÂNIA M.P. **Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da. São Paulo:** Universidade de São Paulo, 2013.

NIH. **National Library of Medicine, Bethesda.** Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 25 fev. 2023.

NUNES, J.A. **Manual de medicina baseada em evidências.** 1. ed. capítulo 3. SP: Manual 2021.

OJEDA, R.A. **Estudo clínico para verificar a eficácia e segurança do composto modificado isotimol ou carvacrol contra SARS-CoV-2 em pacientes COVID-19.** 2022.

OLIVEIRA, J.A.; RIBEIRO, MÁRCIA; WANG, JIAN. **A tremagliptina alivia a inflamação induzida por lipopolissacarídeo (LPS) e o estresse oxidativo em camundongos com lesão pulmonar aguda.** *Inflamação*, v. 44, n. 4, p. 1507-1517, 2021.

OMS, 2003. **A Organização Mundial da Saúde (OMS)** Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/337001/9786500150216-por.pdf?sequence=123>>. Acesso em: 25 fev. 2023.

OXMAN, ANDREW D.; LAVIS, JOHN N.; FRETHEIM, ATLE. **Use of evidence in WHO recommendations.** The Lancet, v. 369, n. 9576, p. 1883-1889, 2007.

RA, GIBBS. **Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution.** Nature, v. 428, n. 6982, p. 475-476, 2004.

ROONEY, ANDRÉ A. *et al.* **Revisão sistemática e integração de evidências para avaliações de ciências da saúde ambiental baseadas na literatura.** Perspectivas de saúde ambiental, v. 122, n. 7, p. 711-718, 2014.

RUTZ, JOCHEN *et al.* **Curcumina viable agent for better bladder cancer treatment.** International journal of molecular sciences, v. 21, n. 11, p. 3761, 2020.

SANCHES, KERON DOS SANTOS; RABIN, ELIANE GOLDBERG; TEIXEIRA, PATRÍCIA TATIANI DE OLIVEIRA. **Cenário da publicação científica dos últimos 5 anos sobre cuidados paliativos em oncologia: revisão de escopo.** Revista da Escola de Enfermagem da USP, v. 52, p. e 03336, 2018.

SCHÜNEMANN, HOLGER J.; FRETHEIM, ATLE; OXMAN, ANDREW D. **Improving the use of research evidence in guideline development: 9.** Grading evidence and recommendations. Health Research Policy and Systems, v. 4, p. 1-7, 2006.

SCHUNEMANN, H.; BRÖZEK, J.; GUYATT, G.; OXMAN, A.. **Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach.** Updated October, 2013. Disponível em: <<https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html>>. Acesso em: 14 fev. 2023.

SILVA, VALTER *et al.* **Overview de revisões sistemáticas-um novo tipo de estudo: parte I: por que e para quem?.** Sao Paulo Medical Journal, v. 130, p. 398-404, 2012.

SINGH, JYOTI; LUQMAN, SUAIB; MEENA, ABHA. **Carvacrol as a prospective regulator of cancer targets/signalling pathways.** Current Molecular Pharmacology, v. 16, n. 5, p. 542-558, 2023.

SMITH, J. *et al.* **Evaluation of an immunomodulatory agent in a rat model of multiple sclerosis.** 2018. Journal of Neuroimmunology. Acesso em: 02 Abril 2024.

SCHUH, SUZANNE *et al.* **Efficacy of oral dexamethasone in outpatients with acute bronchiolitis.** The Journal of pediatrics, v. 140, n. 1, p. 27-32, 2002.

SUZUKI, MASARU *et al.* **Curcumin attenuates elastase-and cigarette smoke-induced pulmonary emphysema in mice.** American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, v. 296, n. 4, p. L614-L623, 2009.

SZPIRER, CLAUDE. **Modelos ratais de doenças humanas e fenótipos relacionados**: um inventário sistemático dos genes causadores. *Revista de Ciências Biomédicas*, v. 27, n. 1, p. 84, 2020.

TADAKAMADLA, SANTOSH KUMAR; TARTAGLIA, GIANLUCA MARTINO. **Cárie dentária e saúde bucal em crianças**. *Crianças*, v. 8, n. 8, p. 674, 2021.

TANG, J.I.A. *et al.* **Efeito da microbiota intestinal na lesão pulmonar aguda induzida por LPS através da regulação da via de sinalização TLR4/NF-κB**. *Imunofarmacologia internacional*, v. 91, p. 107272, 2021.

TORTORA, G. J. **Microbiologia** GERARD J. TORTORA, BERDELL, R. F.; CHRISTINE, L. C.; 12. ed. – Porto Alegre, Artmed, 964 p. 2017.

TRICCO, A. C. **PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR)**: Checklist and explanation. *Angew Chemie Int Ed*, v. 6, n. 11, p. 951, 1967.

VICENTE, GEISON *et al.* **Anti-Inflammatory Profile of *Jungia sellowii* Less. by Downregulation of Proinflammatory Mediators and Inhibition of NF-κB and p38 Pathways**. *Mediators of inflammation*, v. 2020, n. 1, p. 9078956, 2020.

VIEIRA, BARBARA MARTINS *et al.* **Impacts of Curcumin Treatment on Experimental Sepsis: A Systematic Review**. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2023, n. 1, p. 2252213, 2023.

WANG, FENGYUN *et al.* **The efficacy of mesenchymal stromal cell-derived therapies for acute respiratory distress syndrome a meta-analysis of preclinical trials**. *Respiratory Research*, v. 21, p. 1-10, 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION 2014, **WHO handbook for guideline development** – 2nd ed. (ISBN 978 92 4 154896 0). Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/145714/9789241548960_chap15_eng.pdf>. Acesso em: 15 março 2023.

