

UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

NABIL RIZEG SABA

**EFEITO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO SOBRE O REPARO
PERI-IMPLANTAR EM TÍBIAS DE RATOS**

SÃO PAULO

2025

NABIL RIZEG SABA

**EFEITO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO SOBRE O REPARO
PERI-IMPLANTAR EM TÍBIAS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Implantodontia

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano

SÃO PAULO

2025

Saba, Nabil Rizeg.

Efeito do ácido clorogênico sobre o reparo peri-implatar em tíbias de ratos / Nabil Rizeg Saba. – 2025.

12 f.: il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2025.

Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Mônica Grazieli Corrêa.

1. Implantes dentários. 2. Marcadores ósseos. 3. Osseointegração.
4. Ácido clorogênico. Cirano, Fabiano Ribeiro (orientador). II. Corrêa, Mônica Grazieli (coorientadora). III. Título.

NABIL RIZEG SABA

**EFEITO DO ÁCIDO CLOROGÊNICO SOBRE O REPARO
PERI-IMPLANTAR EM TÍBIAS DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/202__.
Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/202__.
Prof.^a Dra. Mônica Grazieli Corrêa
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/202__.
Prof.^a Dra. Karina Villalpando
PUC de Campinas – PUCCAMP

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, saúde e fé, que me sustentou nas horas mais difíceis para não desistir e ter determinação ao passar pelos obstáculos.

Quero expressar minha gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Fabiano Cirano, por sua dedicação, paciência, apoio incondicional e toda disponibilidade possível que foi subtraída do seu valioso tempo. Sem a sua persistência, meu caminho seria mais tortuoso.

Agradeço também aos professores do Programa de Pós-Graduação, especialmente à Prof. Dra. Monica Corrêa, que me orientou com maestria nos trabalhos laboratoriais e ao Prof. Dr. Márcio Casati, cujas aulas e conselhos foram preciosos para o desenvolvimento e construção do meu mestrado.

Um agradecimento especial à minha maravilhosa esposa, que me presenteou com duas bênçãos - meus filhos, por seu amor e compreensão, sendo meu porto seguro durante esses anos.

Agradeço aos meus pais, que me deram uma educação sólida, baseada em respeito e amor.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade pelo apoio demonstrado ao longo de todo o Mestrado.

A todos os amigos de Mestrado que nunca deixaram de me apoiar e aos colegas da secretaria da pós que sempre foram atenciosos, auxiliando-me nas resoluções dos problemas burocráticos e nas orientações do curso.

À diretoria da Universidade Paulista, principalmente à Reitora, Sandra Miessa, pelo apoio profissional e financeiro que me proporcionou chegar a esse objetivo.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do ácido clorogênico no reparo ósseo peri-implantar de animais. Para tanto, foram utilizados 20 ratos Wistar machos, divididos em 2 grupos: 1- Grupo PL (n=10): placebo – água destilada; 2- Grupo CA (n=10): ácido clorogênico (100 mg/kg). A água destilada e o ácido clorogênico foram administrados via gavagem diariamente, por duas semanas previamente às cirurgias de inserção dos implantes (dia -14) e por mais 30 dias após a realização das mesmas. Foram instalados 2 implantes de titânio (um em cada uma das tíbias) no dia 0 e no 30º dia foi realizada a eutanásia dos animais. Em seguida, foram realizados os processamentos para análise de histomorfométrica, análise biomecânica e análise molecular de marcadores relacionados à osteoblasto/clastogênese (OPG, OPN, FGF-23, VEGF, SOST, and DKK1). Os resultados relativos à análise de biomecânica mostraram ausência de diferenças significativas entre os grupos ($p > 0.05$). O grupo CA apresentou menores porcentagens de BAFO e de BIC quando comparados com o grupo placebo ($p < 0.05$). Menores níveis de FGF-23 e de VEGF foram observados também no grupo CA ($p < 0.05$). Pode-se concluir que o tratamento sistêmico com ácido clorogênico teve efeito negativo no reparo ósseo peri-implantar em tíbias de ratos por meio da redução do preenchimento ósseo da área de rosca, da osseointegração, e da redução de importante marcadores ósseos osteogênicos.

Palavras-chave: Implantes dentários. Marcadores ósseos. Osseointegração ácido clorogênico.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of chlorogenic acid on peri-implant bone repair in animals. Thus, 20 male Wistar rats were used, divided into 2 groups: 1- PL Group (n=10): placebo - distilled water; 2- CA Group (n=10): chlorogenic acid (100 mg/kg). The distilled water and chlorogenic acid were administered via gavage daily for two weeks before the implant insertion surgeries (day -14) and for an additional 30 days after the surgeries. Two titanium implants were installed (one in each tibia) on day zero, and on the 30th day, the animals were euthanized. Following this, processing for histomorphometry, biomechanical, and molecular analysis of markers related to osteoblasto/clastogenesis (OPG, OPN, FGF-23, VEGF, SOST, and DKK1). The biomechanical analysis showed no significant differences between the groups ($p>0.05$). However, the CA group exhibited lower BAFO and BIC percentages than the placebo group ($p<0.05$). Additionally, lower levels of FGF-23 and VEGF were observed in the CA group ($p<0.05$). It can be concluded that systemic treatment with chlorogenic exerted a negative effect on peri-implant bone repair in the tibias of rats, as evidenced by the reduction in bone filling of the threads, in osseointegration, and in the levels of important osteogenic markers.

Key-words: Dental implants. Bone markers. Osseointegration. Chlorogenic acid.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	7
2	CONCLUSÃO GERAL	9
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	10

1 INTRODUÇÃO GERAL

Um dos polifenóis mais prevalentes na dieta humana é o ácido clorogênico (AC). Várias frutas e vegetais, incluindo café, maçãs, mirtilos, berinjela e chicória, o contêm em quantidades significativas (Clifford et al., 2017; Yan et al., 2017). Os ácidos cafeoilquínico, p-cumaroilquínico e feruloquínico são exemplos de ácidos clorogênicos, ésteres criados quando o ácido hidroxicinâmico e o ácido quinina se combinam. De acordo com Upadhyay e Rao (2013) e Liang e Kitts (2015), os ACs têm um impacto significativo na saúde e exibem uma variedade de características biológicas, principalmente devido a suas ações anti-inflamatórias e antioxidantes relacionadas ao envelhecimento, doenças crônicas e câncer (principalmente câncer de mama e cervical). Além disso, o ácido clorogênico demonstrou propriedades antifúngicas, antivirais e antibacterianas (Colombo; Papeti, 2020). Em termos de biodisponibilidade dos ACs, a absorção ocorre no intestino delgado, e a atividade anti-inflamatória parece ser principalmente devido aos metabólitos catabólicos (ácido cafeico; ácido ferúlico; ácidos isoferúlico e vanílico) (Clifford et al., 2017; Colombo; Papetti, 2020; Del Rio et al., 2010). Os ACs são substâncias potenciais para prevenir e tratar diabetes mellitus, obesidade e síndromes metabólicas porque alteram o metabolismo da glicose e dos lipídios in vivo em condições saudáveis e com distúrbios metabólicos (Cho et al., 2010; de Sotillo; Hadley, 2002; Meng et al., 2013; Lima et al., 2016).

Os efeitos do AC no metabolismo ósseo foram estudados recentemente, e os resultados iniciais apontam para uma série de maneiras possíveis pelas quais o AC pode afetar a saúde óssea. A capacidade antioxidante do AC é uma maneira importante pela qual ele pode impactar o metabolismo ósseo. De acordo com um estudo, o AC diminuiu o estresse oxidativo em uma variedade de tipos de células, o que pode proteger os osteoblastos e estimular o crescimento de novos ossos (Zhang et al., 2019). A suplementação de AC demonstrou melhorar a densidade mineral óssea e a microarquitetura em estudos com animais (Kim et al., 2018). De acordo com certas pesquisas, o AC pode melhorar a absorção de cálcio. O AC pode ter um impacto direto na mineralização óssea aumentando a biodisponibilidade do cálcio. Em uma investigação do impacto do AC no metabolismo de cálcio em ratos, Hussain et al. (2017) mostraram que ele aumentou a retenção de cálcio.

O AC também demonstrou diminuir a reabsorção óssea e a diferenciação dos osteoclastos. Em testes in vivo, também foi demonstrado que ele aumenta a

mineralização tibial e a resistência óssea da coluna femoral, o que pode estar relacionado ao seu controle da via de sinalização RANKL (Chen et al., 2021; Ho et al., 2024; Kuroyanagi et al., 2017). Foi descoberto recentemente que o AC reduz a ativação do NF- κ B ao bloquear a fosforilação e degradação do I κ B- α mediada por RANKL (Boyce, 2013; Kwak et al., 2013; Ono et al., 2020; Ono; Nakashima, 2018). O AC também inibiu o desenvolvimento dos osteoclastos ao regular negativamente a expressão do NFATc1 e controlar a expressão dos genes relacionados aos osteoclastos, OSCAR e TRAP. Isso interrompeu com sucesso a degradação óssea osteolítica in vivo e a formação de osteoclastos pelo RANKL (Kwak et al., 2013; Lee et al., 2017; Ono et al., 2020; Ono; Nakashima, 2018; Tang et al., 2006; Xu et al., 2022).

Em relação à cicatrização do tecido ósseo, o ácido clorogênico parece ter um efeito protetor em seu metabolismo. Atualmente, nenhuma pesquisa na literatura investigou como o AC afeta a cicatrização óssea peri-implantar. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o papel do ácido clorogênico no reparo ósseo peri-implantar.

2 CONCLUSÃO GERAL

Pode-se concluir, que o tratamento sistêmico com clorogênico exerceu efeito negativo no reparo ósseo peri-implantar em tíbias de ratos, evidenciado pela redução no preenchimento ósseo dos fios, na osseointegração e nos níveis de importantes marcadores osteogênicos.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

Boyce BF. Advances in the regulation of osteoclasts and osteoclast functions. *J Dent Res.* 2013 Oct;92(10):860-7. doi: 10.1177/0022034513500306.

Chen X, Zhu X, Wei A, Chen F, Gao Q, Lu K, et al. Nrf2 epigenetic derepression induced by running exercise protects against osteoporosis. *Bone Res.* 2021 Feb 26;9(1):15. doi: 10.1038/s41413-020-00128-8.

Cho AS, Jeon SM, Kim MJ, Yeo J, Seo KI, Choi MS, et al. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food Chem Toxicol.* 2010 Mar;48(3):937-43. doi: 10.1016/j.fct.2010.01.003.

Clifford MN, Jaganath IB, Ludwig IA, Crozier A. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. *Nat Prod Rep.* 2017 Dec 13;34(12):1391-421. doi: 10.1039/c7np00030h.

Colombo R, Papetti A. An outlook on the role of decaffeinated coffee in neurodegenerative diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2020;60(5):760-79. doi:10.1080/10408398.2018.1550384.

De Sotillo DVR, Hadley M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. *J Nutr Biochem.* 2002 Dec;13(12):717-26. doi: 10.1016/s0955-2863(02)00231-0.

Del Rio D, Stalmach A, Calani L, Crozier A. Bioavailability of coffee chlorogenic acids and green tea flavan-3-ols. *Nutrients.* 2010 Aug;2(8):820-33. doi: 10.3390/nu2080820.

Ho CY, Tang CH, Ho TL, Wang WL, Yao CH. Chlorogenic acid prevents ovariectomized-induced bone loss by facilitating osteoblast functions and suppressing osteoclast formation. *Aging (Albany NY).* 2024 Mar 9;16(5):4832-40. doi: 10.18632/aging.205635.

Hussain S, Ali SA, Kwan RSW, Jabeen R, Ahmad M. Chlorogenic acid improved calcium retention and prevented osteoporosis in an ovariectomized rat model. *Nutr Res.* 2017;39:47-56. doi: 10.1016/j.nutres.2016.10.004.

Kim H, Park H, Kim J, Kim H. Effects of chlorogenic acid on bone metabolism and bone formation in ovariectomized rats. *Phytother Res.* 2018; 32(7):1171-80. doi: 10.1002/ptr.6123.

Kuroyanagi G, Tokuda H, Yamamoto N, Kainuma S, Fujita K, Ohguchi R, et al. Epigallocatechin gallate synergistically potentiates prostaglandin E2-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2017 Jan;128-129:27-33. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2017.02.001.

Kwak SC, Lee C, Kim JY, Oh HM, So HS, Lee MS, et al. Chlorogenic acid inhibits osteoclast differentiation and bone resorption by down-regulation of receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand-induced nuclear factor of activated T cells c1 expression. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(11):1779-86. doi: 10.1248/bpb.b13-00430.

Lee SH, Lee JY, Kwon YI, Jang HD. Anti-Osteoclastic Activity of *Artemisia capillaris* Thunb. Extract Depends upon Attenuation of Osteoclast Differentiation and Bone Resorption-Associated Acidification Due to Chlorogenic Acid, Hyperoside, and Scoparone. *Int J Mol Sci.* 2017 Feb 4;18(2):322. doi: 10.3390/ijms18020322.

Liang N, Kitts DD. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients.* 2015 Dec 25;8(1):16. doi:10.3390/nu8010016.

Lima VN, Oliveira-Tintino CD, Santos ES, Morais LP, Tintino SR, Freitas TS, et al. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. *Microb Pathog.* 2016 Oct;99:56-61. doi:10.1016/j.micpath.2016.08.004.

Meng S, Cao J, Feng Q, Peng J, Hu Y. Roles of chlorogenic Acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:801457. doi: 10.1155/2013/801457.

Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: bone metabolism, the immune system, and beyond. *Inflamm Regen.* 2020 Feb 7;40:2. doi: 10.1186/s41232-019-0111-3.

Ono T, Nakashima T. Recent advances in osteoclast biology. *Histochem Cell Biol.* 2018 Apr;149(4):325-341. doi: 10.1007/s00418-018-1636-2.

Tang QY, Kukita T, Ushijima Y, Kukita A, Nagata K, Sandra F, et al. Regulation of osteoclastogenesis by *Simon* extracts composed of caffeic acid and related compounds: successful suppression of bone destruction accompanied with adjuvant-induced arthritis in rats. *Histochem Cell Biol.* 2006 Mar;125(3):215-25. doi: 10.1007/s00418-005-0062-4.

Upadhyay R, Rao LJM. An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(9):968-84. doi:10.1080/10408398.2011.576319.

Xu Q, Cao Z, Xu J, Dai M, Zhang B, Lai Q, et al. Effects and mechanisms of natural plant active compounds for the treatment of osteoclast-mediated bone destructive diseases. *J Drug Target.* 2022 Apr;30(4):394-412. doi: 10.1080/1061186X.2021.2013488.

Yan Y, Liu N, Hou N, Dong L, Li J. Chlorogenic acid inhibits hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem.* 2017 Aug;46:68-73. doi:10.1016/j.jnutbio.2017.04.007.

Zhang Y, Wang L, Zhang Y, Liu, L. Chlorogenic acid as a protective agent against oxidative stress-induced injury in human osteoblast-like MG-63 cells. *J Med Food*. 2019; 22(3):227-33. doi: 10.1089/jmf.2018.4244.